

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.pfiet.ru

Издатель:

ФГБНУ «НИИОПП»,
125315, Москва, ул. Балтийская, 8.
E-mail: niiovp@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 О.С. Никольская
Технический редактор Д.В. Кириянов

Сдано в набор 05.03.2026

Подписано к печати 23.03.2026

Опубликовано 27.03.2026

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», 2026.

ISSN 0031-2991

Пат. физиол. и экспер. тер.
2026. Том 70. № 1, 1–182.

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 70 № 1 • 2026

Январь – Март

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. Гушчин, *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. Мацуо, *д.б.н., проф., Университет Киндай, Хигасиосака, Япония*

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

Р. Сьюелл, *д.б.н., проф., Университет Кардиффа, Кардифф, 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. Гурина, *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, *акад. 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. Никитюк, *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,
Information 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.pfiet.ru

Publisher:
FSBSI «IGPP», Baltiyskaya str., 8,
Moscow, 125315, Russian Federation
E-mail: niioip@mail.ru

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

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

Subscription Index in «Ural Press»:
71456

Publication format: 205 × 265 mm
Printing: Digital Circulation: 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 *O.S. Nokolskaya*
Technical Editor *D.V. Kiriyanov*

Sent into set on 05.03.2026
Signed for publication on 23.03.2026
Published on 27.03.2026

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
possible with written permission of the
publisher. The responsibility for the content
of advertising publications is on the adver-
tisers exclusively.

©Federal State Budgetary Scientific
Institution «Institute of General Pathology
and Pathophysiology», 2026.

ISSN 0031-2991

Pat Fiziol Eksp Ter
2026. Vol. 70. No 1. 1–182.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

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

PATOLOGICHESKAYA FIZIOLOGIYA I EKSPERIMENTAL'NAYA TERAPIYA

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

Vol. 70 № 1 • 2026

January–March

Editor-in-chief:

*A.M. Dygay, 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. Darenskaya, 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. Kushlinskiy, «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. Dumev, Acad. 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

CONTENTS

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Даренская М.А., Беленькая Л.В., Колесников С.И.,
Сутурина Л.В., Шолохов Л.Ф., Данусевич И.Н.,
Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И.**
Метаболический синдром у женщин репродуктивного
возраста: анализ «неинсулиновых» индексов
инсулинорезистентности. 5
- Клименков Г.С., Габитов М.В., Лобанов А.В.,
Скрипкин Ю.В., Гребенчиков О.А., Долгих В.Т.**
Изучение влияния хлорида лития на уровень про-
воспалительных цитокинов при моделировании
фотохимически индуцированного инсульта. 16
- Колюбаева С.Н., Коняев В.В., Соколова М.О.,
Пламиский Д.Ю., Елисеева М.И.**
Митохондриальная дисфункция и патоморфологи-
ческие изменения миокарда при коронавирусной
инфекции. 24
- Гиниатуллин Р.У., Осиков М.В., Кузьмин А.Н.**
Патоморфология и патоморфоз ишемического ин-
фаркта коры головного мозга у крыс после примене-
ния эритропоэтина и лазерного излучения. 34
- Смирнова О.В., Гончарова Н.С.**
Маркёры перекисного окисления липидов при хро-
нических ринитах разных фенотипов. 44
- Аталян А.В., Сутурина Л.В., Даренская М.А.,
Машукова А.К., Курашова Н.А., Данусевич И.Н.,
Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И.**
Нарушения липидного обмена и в системе «перекис-
ное окисление липидов – антиоксидантная защита»
как звенья патогенеза миомы матки. 50
- Шустов Е.Б., Мельникова М.В., Шемаев М.Е.,
Потапов П.К., Фомичев А.В., Золотоверхая Е.А.,
Ватаева А.А., Бондаренко А.А., Шульц А.В.,
Остров В.Ф.**
Содержание свинца и нейроспецифических белков в
крови и тканях мозга, а также особенности сенсо-
моторных реакций в различные сроки после острой
интоксикации ацетатом свинца. 61
- Абакумова Т.В., Антонева И.И., Мягдиева И.Р.,
Долгова Д.Р., Генинг Т.П., Генинг С.О.,
Слесарева Ю.С.**
EpCam-положительные опухолевые клетки цирку-
лирующей крови и асцита в оценке риска по раку
яичников. 74
- Баринов Э.Ф., Гиллер Д.И., Ахундова С.А.**
Молекулярные механизмы гемостатической эффек-
тивности этамзилата после контактной уретеролито-
трипсии. 85

ORIGINAL RESEARCH

- Darenskaya M.A., Belenkaya L.V., Kolesnikov S.I.,
Suturina L.V., Sholokhov L.F., Danusevich I.N.,
Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., Kolesnikova L.I.**
Metabolic syndrome in women of reproductive
age: analysis of «non-insulin» indices
of insulin resistance
- Klimenkov G.S., Gabitov M.V., Lobanov A.V.,
Skripkin Yu.V., Grebenchikov O.A., Dolgikh V.T.**
Investigation of the Effects of Lithium Chloride on
Proinflammatory Cytokine Levels in a Photochemically
Induced Stroke Model
- Kolyubaeva S.N., Konyaev V.V., Sokolova M.O.,
Plaminskiy D.Yu., Eliseeva M.I.**
Mitochondrial dysfunction and pathomorphological
changes in myocardial diagnosis in coronavirus
infection
- Giniatullin R.U., Osikov M.V., Kuzmin A.N.**
Pathomorphology and pathomorphosis of ischemic
infarction of the cerebral cortex in rats after the use of
erythropoietin and laser radiation
- Smirnova O.V., Goncharova N.S.**
Markers of lipid peroxidation in chronic rhinitis of
different phenotypes
- Atalyan A.V., Suturina L.V., Darenskaya M.A.,
Mashukova A.K., Kurashova N.A., Danusevich I.N.,
Lazareva L.M., Nadeliaeva I.G., Kolesnikova L.I.**
Lipid metabolism and the «lipid peroxidation-
antioxidant defense» system as a component of the
pathogenesis of uterine fibroids
- Shustov E.B., Melnikova M.V., Shemaev M.E.,
Potapov P.K., Fomichev A.V., Zolotoverkhaya E.A.,
Vataeva A.A., Bondarenko A.A., Shultz A.V.,
Ostrov V.F.**
Content of lead and neurospecific proteins in blood
and brain tissue, as well as features of sensorimotor
reactions at different times after acute lead acetate
intoxication
- Abakumova T.V., Antoneeva I.I., Myagdieva I.R.,
Dolgova D.R., Gening T.P., Gening S.O.,
Slesareva Yu.S.**
EpCam-positive tumor cells in circulating
blood and ascites in ovarian cancer risk
assessment
- Barinov E.F., Giller D.I., Akhundova S.A.**
Molecular mechanisms of hemostatic
efficiency of etamzilata after contact
ureterolithotripsy

Джинджолия В.Г., Ахуба Л.О., Добажджян Н.В., Миквабия З.Я. Моделирование алиментарной дислипидемии на приматах: модель на макаках яванских.	96
Давидович Н.В., Галиева А.С., Вайгачев И.В., Башилова Е.Н., Соловьева Н.В. Роль ММР-8 и ММР-9 в патогенезе хронического пародонтита	105
Александрова А.Д., Антропова И.П., Хацко С.Л. Влияние ингибирования P2Y ₁₂ рецепторов на тромбоцитопоз и характеристики тромбоцитов крыс при моделировании травмы кости.	113
Репина Э.Ф., Каримов Д.Д., Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р., Гизатуллина А.А., Якупова Т.Г., Хмель А.О., Рябова Ю.В., Каримов Д.О. Патоморфологические изменения в печени экспериментальных животных и их коррекция при тиацетамид-индуцированном повреждении.	123
Будаева М.В., Мелерзанов А.В., Марусич Е.И. Геропротекторный и антиоксидантный эффект подсластителя на основе аминокислот на модели <i>C. elegans</i>	134
Елистратова И.В., Полякова М.В., Волкова Е.Н., Морозов С.Г. Оценка патологических изменений у мышей при моделировании атопического дерматита.	144

ОБЗОРЫ

Галимов К.Ш., Литвицкий П.Ф., Галимова Э.Ф., Рахимова К.Х., Галимов Ш.Н. Комплексный анализ проблемы мужского бесплодия: от молекулярных механизмов к клиническому применению	153
Волкова С.В., Бурденный А.М., Лукина С.С., Брага Э.А., Логинов В.И. Критическая роль aberrантного метилирования ДНК и длинных некодирующих РНК в патогенезе меланомы	160

ХРОНИКА

К 110-летию со дня рождения академика АМН СССР А.М. Чернуха	181
--	-----

Dzhindzholiya V.G., Akhuba L.O., Dobadzhyan N.V., Mikvabiya Z.Ya. Modeling of Alimentary Dyslipidemia in Primates: A Study on Javanese Macaques	
Davidovich N.V., Galieva A.S., Vaigachev I.V., Bashilova E.N., Solovieva N.V. The role of MMP-8 and MMP-9 in the pathogenesis of chronic periodontitis	
Aleksandrova A.D., Antropova I.P., Khatsko S.L. Effect of P2Y ₁₂ receptor inhibition on thrombopoiesis and platelets characteristics in rats bone injury modeling	
Repina E.F., Karimov D.D., Khusnutdinova N.Yu., Akhmadeev A.R., Gizatullina A.A., Yakupova T.G., Khmel A.O., Ryabova Yu.V., Karimov D.O. Pathomorphological changes in the liver of experimental animals and their correction in thioacetamide-induced damage	
Budaeva M.V., Melerzanov A.V., Marusich E.I. Geroprotective and Anti-Oxidant Effects of an Amino Acid-Based Sweetener in <i>C. elegans</i> model	
Elistratova I.V., Polyakova M.V., Volkova E.N., Morozov S.G. Assessment of pathological changes in mice in a model of atopic dermatitis	

REVIEWS

Galimov K.Sh., Litvitskiy P.F., Galimova E.F., Rakhimova K.Kh., Galimov Sh.N. A comprehensive analysis of the problem of male infertility: from molecular mechanisms to clinical application.	
Volkova S.V., Burdennyy A.M., Lukina S.S., Braga E.A., Loginov V.I. The Critical Role of Aberrant DNA Methylation and Long Non-Coding RNAs in Melanoma Pathogenesis	

CHRONICLE

On the 110th anniversary of the birth of Academician of the Academy of Medical Sciences of the USSR A.M. Chernukh	
--	--

Оригинальные исследования

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-092.12

Даренская М.А., Беленькая Л.В., Колесников С.И., Сутурина Л.В., Шолохов Л.Ф.,
Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И.

Метаболический синдром у женщин репродуктивного возраста: анализ «неинсулиновых» индексов инсулинорезистентности

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Министерства образования и науки
Российской Федерации, 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16

Введение. Распространённость метаболического синдрома (МС) среди женщин репродуктивного возраста в РФ отражает общемировые тенденции и составляет 20–40%. Косвенные (неинсулиновые) индексы оценки инсулинорезистентности (ИР) представляются важным инструментом для оценки риска метаболических нарушений без необходимости сложных лабораторных исследований. **Цель исследования** – анализ косвенных (неинсулиновых) индексов инсулинорезистентности у женщин репродуктивного возраста с метаболическим синдромом.

Методика. Обследовано 385 женщин репродуктивного возраста (18–44 года), из которых 92 составили контрольную группу (практически здоровые женщины) и 293 – группа с МС. Диагноз МС определялся согласно критериям NCEP ATP III (The National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (ATP III)). Для диагностики МС применялись любые три критерия из пяти. В работе использованы клинико-инструментальные, лабораторные и статистические методы исследования. Для оценки ИР были использованы расчетные антропометрические (BFP (Body Fat Percentage), BAI (Body Adiposity Index), окружность талии (ОТ)/рост), биохимические (TYG (Triglyceride–Glucose Index), триацилглицериды (ТАГ)/холестерин липопротеиды высокой плотности (ХСЛПВП)), и смешанные (WTI (Waist–Triglyceride Index), LAP (Lipid accumulation product)) индексы.

Результаты. Результаты исследования показали статистически значимо более высокие значения показателей: BFP ($p < 0,0001$), BAI ($p < 0,0001$), ОТ/рост ($p < 0,0001$), TYG ($p < 0,0001$), ТАГ/ХСЛПВП ($p < 0,0001$), WTI ($p < 0,0001$) и LAP ($p < 0,0001$) в группе женщин с МС в сравнении с контрольной группой. К показателям, имеющим наибольшую специфичность и чувствительность, были отнесены: BFP ($p < 0,0001$) и BAI ($p < 0,0001$).

Заключение. Анализ «неинсулиновых» индексов инсулинорезистентности у женщин репродуктивного возраста с МС может служить дополнительным критерием для выделения групп риска по прогрессированию метаболических расстройств, а также оценки тяжести течения патологического процесса. Настоящее исследование показало высокую диагностическую значимость антропометрических индексов (BFP и BAI) наряду с биохимическими и смешанными показателями инсулинорезистентности, что позволит оптимизировать проведение коррекционных мероприятий в данной когорте пациенток.

Ключевые слова: метаболический синдром; инсулинорезистентность; неинсулиновые индексы; женщины; репродуктивный возраст

Для цитирования: Даренская М.А., Беленькая Л.В., Колесников С.И., Сутурина Л.В., Шолохов Л.Ф., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И. Метаболический синдром у женщин репродуктивного возраста: анализ «неинсулиновых» индексов инсулинорезистентности. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 5–15.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.5-15

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Сутурина Л.В., Беленькая Л.В., Даренская М.А.; сбор и обработка материала – Беленькая Л.В., Сутурина Л.В., Шолохов Л.Ф., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г.; подготовка иллюстративного материала – Беленькая Л.В., Даренская М.А.; статистическая обработка материала – Даренская М.А., Беленькая Л.В.; написание текста – Даренская М.А., Беленькая Л.В.; редактирование – Колесников С.И., Сутурина Л.В., Колесникова Л.И. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Даренская Марина Александровна, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 23.06.2025

Принята к печати 12.09.2025

Опубликована 27.03.2026

Darenskaya M.A., Belenkaya L.V., Kolesnikov S.I., Suturina L.V., Sholokhov L.F., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., Kolesnikova L.I.

Metabolic syndrome in women of reproductive age: analysis of «non-insulin» indices of insulin resistance

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 16 Timiryazeva str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

Background. The metabolic syndrome (MS) prevalence among reproductive age women at the Russian Federation reflects global trends and consist of 20–40%. Indirect (non-insulin) indices of insulin resistance (IR) are an important tool for assessing the risk of metabolic disorders without complex laboratory tests. **The aim** of this study was to analyze of indirect (non-insulin) indices of insulin resistance in women of reproductive age with metabolic syndrome.

Methods. A total of 385 women of reproductive age (18–44 years) were examined. 92 women formed the control group (practically healthy women) and 293 – the group with MS. Clinical, instrumental, laboratory and statistical research methods were used. The diagnosis of MS was determined according to the NCEP ATP III (The National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (ATP III) criteria. Any three of the five criteria to diagnose MS were used. Clinical, instrumental, laboratory and statistical research methods were used. Anthropometric (BFP (Body Fat Percentage), BAI (Body Adiposity Index), waist circumference (WC)/height), biochemical (TYG (Triglyceride-Glucose Index), triacylglycerides (TAG)/high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)), and mixed (WTI (Waist-Triglyceride Index), LAP (Lipid accumulation product)) indices were used.

Results. The results of the study showed statistically significantly higher values of the following indicators: BFP ($p < 0.0001$), BAI ($p < 0.0001$), WC/height ($p < 0.0001$), TYG ($p < 0.0001$), TAG/HDL-C ($p < 0.0001$), WTI ($p < 0.0001$) and LAP ($p < 0.0001$) in the group of women with MS compared to the control group. The indicators with the highest specificity and sensitivity were: BFP ($p < 0.0001$) and BAI ($p < 0.0001$).

Conclusion. Analysis of «non-insulin» indices of insulin resistance in women of reproductive age with MS can serve as an additional criterion for identifying risk groups for the progression of metabolic disorders, as well as assessing the severity of the pathological process. This study has shown the high diagnostic significance of anthropometric indices (BFP and BAI) along with biochemical and mixed indices of insulin resistance, which will optimize the implementation of corrective measures in this cohort of patients.

Keywords: metabolic syndrome; insulin resistance; non-insulin indices; women; reproductive age

For citation: Darenskaya M.A., Belenkaya L.V., Kolesnikov S.I., Suturina L.V., Sholokhov L.F., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., Kolesnikova L.I. Metabolic syndrome in women of reproductive age: analysis of «non-insulin» indices of insulin resistance. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 5–15. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.5-15

Author's contribution: concept and design of the study – Suturina L.V., Belenkaya L.V., Darenskaya M.A.; collection and processing of material – Belenkaya L.V., Suturina L.V., Sholokhov L.F., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G.; preparation of illustrative material – Belenkaya L.V., Darenskaya M.A.; statistical processing – Darenskaya M.A., Belenkaya L.V.; writing the text – Darenskaya M.A., Belenkaya L.V.; editing the text – Kolesnikov S.I., Suturina L.V., Kolesnikova L.I. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: **Marina A. Darenskaya**, Doctor of Biological Sciences, prof. of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Pathophysiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Information about the authors:

Darenskaia M.A., <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Belenkaya L.V., <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Kolesnikov S.I., <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Sholokhov L.F., <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Danusevich I.N., <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Lazareva L.M., <https://orcid.org/0000-0002-7662-8529>

Nadelyaeva Ya.G., <https://orcid.org/0000-0002-5747-7315>

Suturina L.V., <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Kolesnikova L.I., <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 23.06.2025

Accepted 12.09.2025

Published 27.03.2026

Введение

Метаболический синдром (МС) является довольно распространенным патологическим состоянием, чья частота встречаемости зависит от возрастного фактора и используемых критериев диагностики [1, 2]. Так, если у людей старше 30 лет данный параметр равняется 6,7%, то к возрасту 60 лет увеличивается уже до 43,5% [3, 4]. Распространённость МС среди женщин репродуктивного возраста в РФ отражает общемировые тенденции и составляет 20–40% [5]. МС находится в тесной ассоциации с висцеральным ожирением, артериальной гипертензией (АГ), а также сердечно-сосудистыми рисками [6]. Основовоположником современной концепции МС считается американский ученый Джеральд Равен (Jerald Reaven), предложивший в 1988 г. патофизиологическую модель развития МС, в которой ключевым фактором была названа инсулинорезистентность (ИР) [7].

ИР трактуется как нарушение биологического действия инсулина, приводящее к снижению потребления глюкозы тканями, следствием чего является компенсаторная гипергликемия [8, 9]. ИР, наряду с гиперинсулинемией, оказывает как прямое, так и опосредованное негативное воздействие на стенки сосудов, что влечет за собой развитие дислипидемии, способствует дисгормональным и метаболическим нарушениям, активации симпатoadrenalной системы и т.д. [10, 11]. Данные изменения лежат в основе практически всех составляющих МС, вследствие чего ИР является важным фактором патогенеза данного симптомокомплекса [12]. Доказан полигенный характер ИР, в развитии которой могут иметь значение мутации генов субстрата инсулинового рецептора, гликогенсинтазы, гормончувствительной липазы, β_3 -адренорецепторов, фактора некроза опухолей- α , разобщающего протеина, а также молекулярные дефекты белков, передающих сигналы инсулина и т.д. [13, 14]. Значимая роль в прогрессировании ИР и связанных с ней метаболических расстройств принадлежит жировой ткани абдоминальной области, нейрогормональным нарушениям, а также повышенной активности симпатической нервной системы [9, 10, 12, 15, 16]. Среди внешних факторов, неблагоприятно влияющих на чувствительность тканей к инсулину, наибольшее значение имеют гиподинамия и избыточное потребление жира [9].

Основовоположающим показателем ИР является эугликемический гиперинсулинемический «клэмп-тест», отличающийся инвазивностью и сложностью воспроизведения [7]. В клинике очень часто применяют оральный тест толерантности к глюкозе, который определяет, помимо ИР, также уровень гиперинсулинемии [6, 8]. Косвенные (неинсулиновые) индексы оценки ИР в настоящее время представляются важным инструментом, позволяющим выявлять и оценивать риск метаболических нарушений без необходимости сложных лабораторных исследований [17]. Данные индексы, основанные на доступных биохимических показателях, таких как уровни глюкозы, липидов (например, холестерина липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП)), предоставляют возможность для ранней профилактики развития серьезных осложнений, связанных с ИР [18]. Так, соотношение триацилглицеридов (ТАГ) к ХСЛПВП (ТГ/ХСЛПВП) было предложено в качестве косвенного маркера ИР по причине серьезных изменений в липидном обмене при МС, что отражается на уровне данных показателей в крови [5, 9]. Наряду с показателями, учитывающими биохимические маркеры, в настоящее время используются индексы, включающие антропометрические показатели, такие как окружность талии (ОТ), рост, индекс массы тела (ИМТ), % висцерального жира и т.д., которые, в свою очередь, применяются для оценки метаболического здоровья и в большей степени отражают распределение жира, косвенно связанного с ИР [19].

Получение новых сведений относительно косвенных индексов ИР и их значений при МС у женщин репродуктивного возраста крайне актуально по причине негативного влияния ИР на репродуктивную функцию женщин [20, 21]. Данные сведения позволят уточнить недостающие знания о патогенезе данного процесса и, соответственно, улучшить оценку прогрессирования метаболических нарушений, оптимизировать способы коррекции и выделять группы риска.

На основании вышеизложенного, **цель** исследования – анализ косвенных (неинсулиновых) индексов инсулинорезистентности у женщин репродуктивного возраста с метаболическим синдромом.

Методика

Обследовано 385 женщин репродуктивного возраста (18–44 года), из которых 92 составили контрольную

группу (практически здоровые женщины) и 293 – группу с МС.

Диагноз МС определялся согласно критериям NCEP ATP III (The National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (ATP III)). Для диагностики МС применялись любые три критерия из пяти: абдоминальное ожирение (ОТ у женщин ≥ 80 см); гипертриглицеридемия (уровень ТАГ $\geq 1,7$ ммоль/л); низкий уровень ХСЛПВП ($< 1,3$ ммоль/л); гипергликемия (уровень глюкозы $> 5,6$ ммоль/л); повышение артериального давления ($\geq 130/85$ мм рт. ст.) [22, 23].

Критерии включения в группу с МС: наличие не менее 3-х из 5-ти признаков МС, наличие подписанного информированного согласия, готовность участницы соблюдать все процедуры исследования, доступность в течение всего срока исследования.

Критерии исключения из группы с МС: текущая беременность или лактация, удаление матки и/или придатков с двух сторон, абляция эндометрия и/или эмболизация маточных артерий, прием гормональных препаратов, в том числе препаратов менопаузальной гормонотерапии, инсулиносенситайзеров; наличие факторов, повышающих риск для субъекта, либо мешающих полному выполнению участником условий исследования.

Критерии не включения в группу контроля (практически здоровые женщины): текущая беременность или лактация, гистерэктомия в анамнезе, двусторонняя овариэктомия, абляция эндометрия и/или эмболизация маточных артерий, текущий или предыдущий (в течение 3 месяцев) прием гормональных препаратов (тиреоидные гормоны, глюкокортикостероиды, а также инсулиносенситайзеры), хронические заболевания в анамнезе (сердечно-сосудистые, онкологические, мочеполовые заболевания, сахарный диабет, гипертония и др.), индекс массы тела ≥ 30 кг/м².

В работе использовались клинико-инструментальные, лабораторные и статистические методы исследования. Исследование включало проведение анкетирования, инструментальную оценку состояния молочных желез, гинекологическое бимануальное исследование органов малого таза, цитологическое исследование мазков. Антропометрическое обследование проводили по общепринятым методикам. Массу тела испытуемых измеряли с точностью до 0,1 кг с помощью электронных стандартизированных напольных весов, для измерения роста использовали фиксированный ростомер, калиброванный в сантиметрах. ИМТ определяли по формуле G. Brey (1978), как массу тела в килограммах, деленную на рост в квадрате, выраженной в метрах (кг/м²). Проводилось измерение ОТ – на уровне нижних краев 10-х ребер, расположенных по медиальной аксиллярной линии (при спокойном дыхании) и окружности бедер (ОБ)

– в положении стоя (ноги вместе) на уровне гребней подвздошных костей, при этом измерительная лента располагалась параллельно полу. ОТ и ОБ фиксировали с точностью до 0,1 см. Использовали расчет отношения величины ОТ к величине ОБ. Определение доли жировой ткани и висцерального жира проводили на анализаторе состава человека InBody770 (RU.НС.005.006.СМ.00154, ИнБодиКо, Лтд, Республика Корея). АД измеряли в положении сидя, после пяти минут отдыха на не доминирующей (левой) руке. Пульс измеряли на лучевой артерии в течение 30 секунд.

С целью проведения биохимического исследования крови у каждой женщины забирали кровь из локтевой вены с помощью одноразовых вакуумных систем (BDVacutainer), после 15-минутного отдыха, натощак, с 8 до 9 часов утра, с учетом фаз менструального цикла. Содержание ТАГ, холестерина липопротеидов низкой (ХСЛПНП) и ХСЛПВП проводились с использованием коммерческих наборов Bio Systems, Испания. Измерения осуществлялись на биохимическом анализаторе BTS-350 (Испания). Определение уровня глюкозы проводили с помощью коммерческих наборов BioSystems спектрофотометрически на биохимическом анализаторе BTS-350 (Испания). Содержание ТАГ, ХСЛПНП, ХСЛПВП и глюкозы выражали в ммоль/л.

Все участницы подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА (в редакции 2013 г.). Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Выписка из протокола заседания № 2.1 от 24.02.2016 г.).

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, Иркутск.

Для оценки ИР были введены расчетные индексы [24, 25, 26, 27]:

$$1) \text{BFP (Body Fat Percenta)} = 1,2 \cdot \text{ИМТ} + 0,23 \cdot \text{возраст} - 5,4$$

$$2) \text{BAI (Body Adiposity Index)} = \frac{\text{ОБ}}{\text{Рост}(\sqrt{\text{Рост} - 18})}$$

$$3) \frac{\text{ОТ}}{\text{Рост}}$$

$$4) \text{TyG (Triglyceride-Glucose Index)} = \frac{\ln(\text{ТАГ}^{\text{мг/дл}} \cdot \text{глюкоза}^{\text{мг/дл}})}{2}$$

$$5) \frac{\text{ТАГ}}{\text{ХСЛПВП}}$$

$$6) \text{WTI (Waist-Triglyceride Index)} = \text{ОТ} \cdot \text{ТАГ}$$

$$7) \text{LAP (Lipid accumulation product)} = (\text{ОТ} - 58) \cdot \text{ТАГ}$$

Статистический анализ результатов проводился с использованием программы Statistica 10.0 (Statsoft Inc.,

США). Для определения близости к нормальному распределению количественных признаков использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро-Уилка. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-test). Результаты исследования представлены в виде медианы (Me), первой и третьей квартилей (Q1; Q3). Сравнение межгрупповых различий выполнено с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. За уровень статистической значимости принимали значение $p < 0,05$.

Результаты

На первом этапе был проведен анализ клинико-анамнестических данных в исследуемых группах (табл. 1). Результаты обследования показали, что группа женщин

с МС не отличалась от контрольной группы по показателям возраста, роста, ($p > 0,05$) (табл. 1).

Однако, в данной группе, в сравнении с контрольными значениями, было выявлено статистически значимое увеличение массы тела ($p < 0,0001$), ИМТ ($p < 0,0001$), ОТ ($p < 0,0001$), ОБ ($p < 0,0001$), САД ($p < 0,0001$), ДАД ($p < 0,0001$), % висцерального жира ($p < 0,0001$), % жира ($p < 0,0001$) (табл. 1).

Анализ изменений показателей липидного обмена в группе женщин репродуктивного возраста с МС показал наличие статистически значимых различий в отношении повышенного уровня ТАГ ($p < 0,0001$), глюкозы ($p < 0,0001$) и сниженного уровня ХСЛПВП ($p < 0,0001$) в сравнении с контролем (табл. 2).

Анализ косвенных индексов ИР показал статистически значимо более высокие значения всех исследуемых

Таблица 1 / Table 1

Сравнительная характеристика клинико-анамнестических данных у женщин репродуктивного возраста с МС (Me (Q25; Q75%))
Comparative characteristics of clinical and anamnestic data in women of reproductive age with MS (Me (Q25; Q75%))

Параметры Parameters	Контрольная группа Control group	МС MS	Статистически значимые различия Statistically significant differences
	(1)	(2)	
Возраст, лет Age, years	31,0 (27,0;35,0)	38,0 (34,0;42,0)	
Масса тела, кг Weight, kg	58,9 (53,45;64,35)	79,9 (70,0;90,9)	1-2
Рост, см Height, cm	164,50 (159,25;167,30)	162,50 (159,0;167,0)	
Индекс массы тела Body mass index	22,13 (20,58;23,72)	30,35 (26,88;34,22)	1-2
Окружность талии, см Waist circumference, cm	70,0 (65,0;74,0)	89,0 (83,0;99,0)	1-2
Окружность бедер, см Hip circumference, cm	94,0 (91,0;98,0)	108,0 (100,0;114,0)	1-2
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст. Systolic blood pressure, mmHg	115,5 (110,0;120,0)	133,0 (128,0;141,0)	1-2
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст. Diastolic blood pressure, mmHg	74,0 (69,5;79,0)	87,0 (81,0;92,0)	1-2
% висцерального жира % visceral fat	4,0 (3,0;6,0)	8,0 (6,22;9,0)	1-2
% жира % fat	32,1 (26,1;36,15)	43,3 (38,3;48,3)	1-2

показателей: BFP ($p < 0,0001$), BAI ($p < 0,0001$), ОТ/рост ($p < 0,0001$), TYG ($p < 0,0001$), ТАГ/ХСЛПВП ($p < 0,0001$), WTI ($p < 0,0001$), LAP ($p < 0,0001$) в группе женщин с МС по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Далее нами был проведен ROC-анализ исследуемых косвенных индексов ИР (табл. 4).

Было показано, что наиболее информативными показателями среди исследуемых индексов ИР, обладающими

Таблица 2 / Table 2

Показатели липидного обмена и глюкозы у женщин репродуктивного возраста с МС (Ме (Q25; Q75%))

Lipid metabolism indicators and glucose in women of reproductive age with MS (Me (Q25; Q75%))

Параметры Parameters	Контрольная группа Control group	Группа с МС MS	Статистически значимые различия Statistically significant differences
	(1)	(2)	
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	4,59 (4,11;4,95)	5,26 (4,62;5,82)	1–2
Триацилглицериды, ммоль/л Triacylglycerides, mmol/l	0,86 (0,64;1,05)	1,06 (0,84;1,47)	1–2
Холестерин липопротеидов низкой плотности, ммоль/л Low-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	2,98 (2,60;3,33)	2,97 (2,68;3,48)	
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л High-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	1,10 (0,96;1,26)	0,95 (0,85;1,09)	1–2

Таблица 3 / Table 3

Индексы ИР у женщин репродуктивного возраста с МС (Ме (Q25; Q75%))

IR indices in women of reproductive age with MS (Me (Q25; Q75%))

Параметры Parameters	Контрольная группа Control group	МС MS	Статистически значимые различия Statistically significant differences
	(1)	(2)	
Процент жира в организме / Body Fat Percentage	28,23 (25,6;30,71)	39,55 (35,33;44,47)	1–2
Индекс жировой массы тела / Body Adiposity Index	55,84 (53,44;58,34)	65,80 (60,81;71,84)	1–2
Окружность талии/рост Waist circumference/height	0,42 (0,40;0,45)	0,55 (0,51;0,61)	1–2
Триглицеридно-глюкозный индекс / Triglyceride-Glucose Index	4,37 (4,19;4,48)	4,55 (4,41;4,69)	1–2
Триацилглицериды/холестерин липопротеиды высокой плотности / Triacylglycerides/high-density lipoprotein cholesterol	0,74 (0,54;0,96)	1,15 (0,86;1,52)	1–2
Индекс «талия-триглицериды» / Waist-Triglyceride Index	55,87 (42,36;70,78)	99,96 (74,82;135,9)	1–2
Индекс накопления липидов / Lipid accumulation product	8,78 (5,06;12,92)	34,10 (24,48;48,32)	1–2

Таблица 4 / Table 4

Наиболее информативные показатели для группы с МС и контрольной группы**The most informative indicators for the group with MS and the control group**

Параметр Parameter	AUC	p-value	Cut-off point	95% ДИ 95% DI	Чувствительность Sensitivity	Специфичность Specificity
Процент жира в организме / Body Fat Percentage	0,834	< 0,0001	> 34,49	0,808–0,860	79,86	72,97
Индекс жировой массы тела / Body Adiposity Index	0,812	< 0,0001	> 62,53	0,789–0,842	68,60	80,31

высокой чувствительностью и специфичностью, являются BFP ($p < 0,0001$) и BAI ($p < 0,0001$) (табл. 4).

Обсуждение

ИР при МС является центральным компонентом, который играет существенную роль в развитии заболевания, и его ни в коем случае нельзя игнорировать [7]. В первую очередь, ИР рассматривается как состояние гиперинсулинемии, когда компенсаторная секреция инсулина растет для поддержания стабильной концентрации глюкозы в крови, при этом снижается способность инсулина поглощать и использовать глюкозу [28]. ИР является активным участником многих метаболических расстройств, в том числе ожирения, неалкогольной жировой болезни печени, АГ, атеросклероза, синдрома поликистозных яичников и т.д. [29, 30]. Значимость негативного влияния ИР на репродуктивную функцию женщин детородного возраста неоспорима, поскольку ИР повышает вероятность бесплодия [20]. Кроме того, ИР повышает риск неудачного переноса эмбрионов во время вспомогательных репродуктивных технологий у бесплодных женщин и может влиять на репродуктивный результат пациенток [29, 31].

В нашем исследовании у женщин репродуктивного возраста с МС показан рост значений всех исследованных «неинсулиновых» индексов ИР. К сугубо антропометрическим индексам относят BFP и индекс BAI. BFP, как показатель процентного содержания жира в организме, считается важным аспектом здоровья, который отличается от простого измерения веса, так как дает более детализированное представление о пропорции жировой и мышечной массы в организме [25]. BFP в контексте женской популяции показывает долю жировой массы относительно общей массы тела и необходим для оценки состава тела, определения степени ожирения [24]. Исследования показали нелинейные зависимости между BFP и сердечно-сосудистыми расстройствами, которые наблюдались как при метаболически здоровом, так и при метабо-

чески нездоровом ожирении (у обоих P для нелинейности $< 0,0001$) [32]. В ходе популяционного кросс-секционного исследования было определено, что вероятность дислипидемии и повышенного уровня С-реактивного белка была в 1,29 и 1,38 раза выше в группе с BFP $\geq 28,0\%$, чем в группе с BFP $< 28,0\%$, соответственно [33]. BFP считают хорошим прогностическим фактором АГ, гипертриглицеридемии и гиполПВП в женской популяции с сахарным диабетом [34].

BAI – индекс ожирения, основанный на ОБ и росте, является показателем, который используется для оценки уровня жировой массы в организме [25]. BAI используется для оценки процентного содержания жира в организме без учета массы тела, что делает его полезным инструментом в ситуациях, когда вес может быть не точным показателем жировой массы, в том числе у людей с высокой мышечной массой [25, 34]. В настоящее время данный индекс рассматривается как важный дополнительный показатель ИМТ и может быть рекомендован для оценки количества жира в организме и кардиометаболических рисков [35]. В полностью скорректированной модели было показано, что вероятность развития МС увеличивалась на 27 % при каждом увеличении BAI на единицу, причем данный показатель положительно коррелировал с уровнем ХСЛПВП [25]. У женщин BAI был связан с уровнем ХСЛПВП, гипергликемией и АГ [36]. В целом BAI показал более высокую чувствительность – 81% (95% ДИ = 70,6% – 88,9%), чем ИМТ [37].

ОТ/рост считается показателем, аналогичным предыдущему антропометрическому индексу. К качественным биохимическим параметрам ИР относят индексы – TyG, TAG/ХСЛПВП. Как альтернативные индексы, данные показатели были введены для интеграции в стандартное обследование [38]. TyG некоторыми исследователями признан наиболее специфичным маркером среди многих (непрямых) моделей. Так, выявлено соответствие между индексом TyG и оценкой гомеостатической модели резистентности к инсулину (HOMA-IR), показана его по-

тенциальная применимость при оценке метаболического здоровья в различных группах населения [39]. Показано, что индекс TyG хорошо коррелирует с ИР и может быть использован в качестве надежного предиктора МС у людей с избыточным весом и ожирением, а также у людей с нормальным весом, что примечательно, поскольку позволяет выявить факторы риска на ранней стадии [40, 41, 42]. Отмечены его высокие чувствительность и специфичность для скрининга МС [40]. Показана его более высокая кривая AUROC по сравнению с НОМА-IR [43]. Кроме того, в недавнем исследовании была продемонстрирована прогностическая ценность для сахарного диабета 2-го типа при пороговом значении 8,9 с чувствительностью 72,3% и специфичностью 79,1% [37]. При увеличении TyG на 1 единицу шансы развития МС увеличивались в 12,06 раза, что в 7,25 раза чаще, чем у индекса НОМА-IR [44, 45].

ТАГ к ХСЛПВП был предложен как косвенный маркер ИР, так как связан с тем, что метаболические процессы, которые приводят к ИР, также приводят к изменениям в липидном спектре и отражаются на уровнях сыровоточных ТАГ и ХСЛПВП [46]. Считается, что инсулин ингибирует высвобождение свободных жирных кислот из жировой ткани и содействует хранению ТАГ в адипоцитах, однако при ИР этот регуляторный механизм оказывается нарушенным [47]. Данные научных исследований подтверждают положительную корреляцию между МС, сердечно-сосудистыми заболеваниями и соотношением ТГ/ХСЛПВП [27]. Соотношение ТГ/ЛПВП-ХС может служить атерогенным индексом для МС [48]. Анализ ROC-кривых для выявления взаимосвязи между соотношением ТГ/ХСЛПВП и накоплением кардиометаболических факторов риска, включая висцеральное ожирение, АГ и СД показал оптимальные пороговые значения в 2,237 единиц у женщин [49]. В то же время есть данные о слабой или умеренной корреляции данного индекса с «инсулиновыми» индексами, в частности, с индексом НОМА [50].

WTI и LAP относят к смешанным индексам, содержащим помимо параметров антропометрического ряда, также биохимические показатели; применяются для оценки метаболического здоровья и в большей степени отражают распределение жира, косвенно связанного с ИР [51, 52]. WTI индекс считается эффективным в прогнозировании уровня ТАГ и центрального ожирения [53]. На данный момент LAP признается сильным предиктором МС у женщин [AUC=0,85, 95% доверительный интервал (ДИ) 0,83–0,86] [54]. Выявлена значимая разница в значениях AUC между LAP и WTI ($P < 0,001$) у женщин, но различия в значениях AUC между LAP и TyG, VAI не были значимыми [54]. LAP показал значительно более высокую кривую AUSROC для выявления МС по сравнению с ИМТ, соотношением талии к росту, соотношением талии к бёдрам, индексом округлости тела, индексом формы тела, BAI у обоих полов, а также окружностью талии и индексом объёма брюшной полости у женщин [55]. В зависимости от пола, LAP и WTI были лучшими показателями для различения METS и демонстрировали самые высокие значения индекса Юдена с пороговыми значениями 49,8 (чувствительность 68,5%, специфичность 82,4%) и 8,7 (чувствительность 70,7%, специфичность 81,9%), соответственно, у женщин [56].

Закключение

Анализ «неинсулиновых» индексов инсулинорезистентности у женщин репродуктивного возраста с МС может служить дополнительным критерием для выделения групп риска по прогрессированию метаболических расстройств, а также для оценки тяжести течения патологического процесса. Настоящее исследование показало высокую диагностическую значимость антропометрических индексов (BFP и BAI) наряду с биохимическими и смешанными показателями инсулинорезистентности, что позволит оптимизировать проведение коррекционных мероприятий в данной когорте пациенток.

Литература

(п.п. 2; 3; 7; 10; 14–22; 24–44; 46–49; 51–56 см. References)

1. Бельская Л.В., Сутурина Л.В., Даренская М.А., Аталян А.В., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г. и др. Возрастные детерминанты метаболического синдрома у женщин репродуктивного возраста основных этнических групп Прибайкалья. *Acta Biomedica Scientifica*. 2023; 8(4): 39–48. <https://doi.org/10.29413/ABS.2023-8.4.5>
4. Вильсон Н.И., Бельская Л.В., Шолохов Л.Ф., Игумнов И.А., Наделяева Я.Г., Сутурина Л.В. Метаболический синдром: эпидемиология, критерии диагностики, расовые особенности. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 180–91. <https://doi.org/10.29413/ABS.2021-6.4.16>
5. Воевода М.И., Ковалькова Н.А., Рагино Ю.И., Травникова Н.Ю., Денисова Д.В. Распространённость метаболического синдрома у жителей Новосибирска от 25 до 45 лет. *Терапевтический архив*. 2016; 88(10): 51–6. <https://doi.org/10.17116/terarkh2016881051-56>
6. Соснова Е.А. Метаболический синдром. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2016; 3(4): 172–80. <http://dx.doi.org/10.18821/2313-8726-2016-3-4-172-180>
8. Шаронова Л.А., Булгакова С.В., Долгих Ю.А., Косарева О.В., Тренева Е.В., Курмаев Д.П. Ожирение как основной компонент метаболического синдрома и фактор риска коморбидности. *Экспери-*

- ментальная и клиническая гастроэнтерология. 2024; (2): 101–10. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-222-2-101-110>
9. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Каплунова В.Ю., Зекцер В.Ю., Виноградова Н.Н., Ильгисонис И.С. и др. Метаболический синдром: история развития, основные критерии диагностики. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2018; 14(5): 757–64. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764>
 11. Куршаков А.А., Сайфутдинов Р.Г., Анчикова Л.И., Валеева И.Х., Никишова Т.В. Инсулинорезистентность и эндотелиальная дисфункция при метаболическом синдроме. *Казанский медицинский журнал*. 2011; 92(2): 173–6.
 12. Титов В.Н. Биологическая функция трофологии (питания) и патогенез метаболического синдрома – физиологичного переедания. Филогенетическая теория общей патологии, лептин и адипонектин. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014; 58(2): 68–79.
 13. Кайдашев И.П. Активация ядерного фактора kB как молекулярной основы патогенеза метаболического синдрома. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2013; 57(3): 65–72.
 23. Консенсус экспертов по междисциплинарному подходу к ведению, диагностике и лечению больных с метаболическим синдромом. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013; 12(6): 41–82.
 45. Корнеева Е.В., Воевода М.И. Ассоциация триглицеридно-глюкозного индекса и его модификаций с метаболическим синдромом у лиц молодого возраста. *Вестник современной клинической медицины*. 2025; 18(2): 35–40. [https://doi.org/10.20969/VSKM.2025.18\(2\).35-40](https://doi.org/10.20969/VSKM.2025.18(2).35-40)
 50. Мадянов И.В. Косвенные способы оценки инсулинорезистентности при метаболическом синдроме. *ПМЖ*. 2021; 29(2): 10–2.
- ## References
1. Belenkaia L.V., Suturina L.V., Darenskaya M.A., Atalyan A.V., Lazareva L.M., Nadelyaeva I.G., et al. Age-related determinants of the metabolic syndrome in women of reproductive age of the main ethnic groups of the Baikal Region. *Acta Biomedica Scientifica*. 2023; 8(4): 39–48. <https://doi.org/10.29413/ABS.2023-8.4.5> (In Russian)
 2. Suturina L., Lizneva D., Lazareva L., Danusevich I., Nadeliaeva I., Belenkaya L., et al. Ethnicity and the Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome: The Eastern Siberia PCOS Epidemiology and Phenotype Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2024; 110(1): e207. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgae424>
 3. Noubiap J.J., Nansseu J.R., Lontchi-Yimagou E., Nkeck J.R., Nyaga U.F., Ngouo A., et al. Geographic distribution of metabolic syndrome and its components in the general adult population: A meta-analysis of global data from 28 million individuals. *Diabetes research and clinical practice*. 2022; 188: 109924. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109924>
 4. Vilson N.I., Belenkaya L.V., Sholokhov L.F., Igumnov I.A., Nadelyaeva Ya.G., Suturina L.V. Metabolic syndrome: Epidemiology, diagnostic criteria, racial characteristics. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021; 6(4): 180–91. <https://doi.org/10.29413/ABS.2021-6.4.16> (In Russian)
 5. Voevoda M.I., Kovalkova N.A., Ragino Yu.I., Travnikova N.Yu., Denisova D.V. Prevalence of metabolic syndrome in 25–45-year-old Novosibirsk dwellers. *Therapeutic Archive*. 2016; 88(10): 51–6. <https://doi.org/10.17116/terarkh2016881051-56> (In Russian)
 6. Sosnova E.A. Metabolic syndrome. *Arhiv akusherstva i ginekologii im. V.F. Snegireva*. 2016; 3(4): 172–80. <http://dx.doi.org/10.18821/2313-8726-2016-3-4-172-180> (In Russian)
 7. Reaven G.M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37: 1595–607. <https://doi.org/10.2337/diab.37.12.1595>
 8. Sharonova L.A., Bulgakova S.V., Dolgikh Yu.A., Kosareva O.V., Treneva E.V., Kurmaev D.P. Obesity as a main component of metabolic syndrome and a risk factor for comorbidity. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija*. 2024; (2): 101–10. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-222-2-101-110> (In Russian)
 9. Belenkov Yu.N., Privalova E.V., Kaplunova V.Yu., Zektser V.Yu., Vиноградова N.N., Ilgisonis I.S., et al. Metabolic syndrome: history of development, main diagnostic criteria. *Racional'naja farmakoterapija v kardiologii*. 2018; 14(5): 757–64. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764> (In Russian)
 10. Belenkaya L.V., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I., Sholokhov L.F., Danusevich I.N., Lazareva L.M., et al. Metabolic Syndrome in Reproductive Age Women of Various Ethnic Groups. Neuroendocrine Status and Lipid Peroxidation System. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2024; 177(6): 705–10. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-06254-1>
 11. Kurshakov A.A., Saifutdinov R.G., Anchikova L.I., Valeeva I.Kh., Nikishova T.V. Insulin resistance and endothelial dysfunction in metabolic syndrome. *Kazanskij medicinskij zhurnal*. 2011; 92(2): 173–6. (In Russian)
 12. Titov V.N. Biological function of trophology and the pathogenesis of metabolic syndrome – syndrome of overeating. Phylogenetically theory of general pathology, role of leptin and adiponectin. *Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal*. 2014; 58(2): 68–79. (In Russian)
 13. Kaidashev I. Conception for permanent activation of nuclear factor kB as molecular basis for metabolic syndrom pathogenesis. *Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal*. 2013; 57(3): 65–72. (In Russian)
 14. James D.E., Stuckli J., Birnbaum M.J. The aetiology and molecular landscape of insulin resistance. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2021; 22(11): 751–71. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00390-6>
 15. Lee S.H., Park S.Y., Choi C.S. Insulin resistance: from mechanisms to therapeutic strategies. *Diabetes & metabolism journal*. 2022; 46(1): 15–37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>
 16. Darenskaya M.A., Belenkaia L.V., Suturina L.V., Kolesnikov S.I., Sholokhov L.F., Lazareva L.M., et al. Metabolic syndrome in caucasian women with hyperandrogenism: lipid metabolism and lipid peroxidation system. *International Journal of Biomedicine*. 2025; 15(1): 84–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59659-3>
 17. Liao J., Wang L., Duan L., Gong F., Zhu H., Pan H., et al. Insulin resistance surrogates are associated with all-cause mortality and cardiovascular mortality in population with metabolic syndrome: a retrospective

- cohort study of NHANES. *Scientific Reports*. 2025; 15(1): 4706. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-88296-7>
18. Bazyar H., Zare Javid A., Masoudi M.R., Haidari F., Heidari Z., Hajjalizadeh S., et al. Assessing the predictive value of insulin resistance indices for metabolic syndrome risk in type 2 diabetes mellitus patients. *Scientific Reports*. 2024; 14(1): 8917. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59659-3>
19. Tamini S., Bondesan A., Caroli D., Sartorio A. The Lipid Accumulation Product Index (LAP) and the Cardiometabolic Index (CMI) Are Useful for Predicting the Presence and Severity of Metabolic Syndrome in Adult Patients with Obesity. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(10): 2843. <https://doi.org/10.3390/jcm13102843>
20. Wang Z., Yan J., Chen H., He L., Xu S. The reproductive endocrine feature and conception outcome of women with unknown etiological menstrual cycle (36–45 days) with long follicular phase. *Gynecol Endocrinol*. 2022; 38: 742–7. <https://doi.org/10.1080/09513590.2022.2101636>
21. Darenskaya M.A., Belenkaia L.V., Atalyan A.V., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., Danusevich I.N., et al. State of pituitary-ovarian link of the neuroendocrine regulation system in women of reproductive age with ovarian hyperandrogenism. *International Journal of Biomedicine*. 2024; 14(1): 66–71. [https://doi.org/10.21103/Article14\(1\)_OA9](https://doi.org/10.21103/Article14(1)_OA9)
22. Grundy S.M., Cleeman J.I., Daniels S.R., Donato K.A., Eckel R.H., Franklin B.A., et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement: Executive Summary. *Circulation*. 2005; 112(17): 2735–52. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404>
23. Expert consensus on an interdisciplinary approach to the management, diagnosis, and treatment of patients with metabolic syndrome. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2013; 12(6): 41–82. (In Russian)
24. Rao J., Ding C., Shi Y., Zhou W., Yu C., Wang T., et al. Association of body fat percentage with diabetes in hypertensive adults of different genders: a cross-sectional study. *Frontiers in Endocrinology*. 2025; 16: 1467886. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1467886>
25. Kheirouri S., Alizadeh M. Contribution of body adiposity index and conicity index in prediction of metabolic syndrome risk and components. *Human Nutrition & Metabolism*. 2024; 38: 200290. <https://doi.org/10.1016/j.hnm.2024.200290>
26. Nabipoorashrafi S.A., Seyedi S.A., Rabizadeh S., Ebrahimi M., Ranjbar S.A., Reyhan S.K., et al. The accuracy of triglyceride-glucose (TyG) index for the screening of metabolic syndrome in adults: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*. 2022; 32(12): 2677–88. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2022.07.024>
27. Kosmas C.E., Rodriguez Polanco S., Bousvarou M.D., Papakonstantinou E.J., Peca Genao E., Guzman E., et al. The triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol (TG/HDL-C) ratio as a risk marker for metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Diagnostics*. 20223; 13(5): 929. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13050929>
28. Jamilian M., Mansury S., Bahmani F., Heidar Z., Amirani E., Asemi Z. The effects of probiotic and selenium co-supplementation on parameters of mental health, hormonal profiles, and biomarkers of inflammation and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. *J Ovarian Res*. 2018; 11: 80. <https://doi.org/10.1186/s13048-018-0457-1>
29. Lei R., Chen S., Li W. Advances in the study of the correlation between insulin resistance and infertility. *Frontiers in endocrinology*. 2024; 15: 1288326. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1288326>
30. Darenskaya M.A., Belenkaya L.V., Atalyan A.V., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., et al. Oxidative stress reactions in women of reproductive age with metabolic syndrome. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 174(5): 601–4. <https://doi.org/10.1007/s10517-023-05754-w>
31. Bai X., Chang R., Qing M., Jiang B., Zhang, C. Impact of insulin resistance on in vitro fertilization outcomes in overweight and obese women: a retrospective cohort study. *Human Fertility*. 2025; 28(1): 2526768. <https://doi.org/10.1080/14647273.2025.2526768>
32. Xiong Q., Zhang Y., Li J., An Y., Yu S. Comparison of cardiovascular disease risk association with metabolic unhealthy obesity identified by body fat percentage and body mass index: Results from the 1999–2020 National Health and Nutrition Examination Survey. *Plos one*. 2024; 19(8): e0305592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305592>
33. Zhang R., Dong S.Y., Wang F., Ma C., Zhao X.L., Zeng Q., et al. Associations between body composition indices and metabolic disorders in Chinese adults: a cross-sectional observational study. *Chinese Medical Journal*. 2018; 131(04): 379–88. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.225059>
34. Shukohifar M., Mozafari Z., Rahmanian M., Mirzaei M. Performance of body mass index and body fat percentage in predicting metabolic syndrome risk factors in diabetic patients of Yazd, Iran. *BMC endocrine disorders*. 2022; 22(1): 216. <https://doi.org/10.1186/s12902-022-01125-0>
35. Zwierzchowska A., Celebańska D., Rosolek B., Gawlik K., Żebrowska, A. Is body mass index (BMI) or body adiposity index (BAI) a better indicator to estimate body fat and selected cardiometabolic risk factors in adults with intellectual disabilities? *BMC cardiovascular disorders*. 2021; 21: 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12872-021-01931-9>
36. Luo W.S., Ding Y., Guo Z.R. Body adiposity index and other indexes of body composition in predicting cardiovascular disease in the Chinese population: A Cohort study. *Perfusion*. 2024; 02676591241300973. <https://doi.org/10.1177/02676591241300973>
37. Habib R., Mashhadi S.F., Javed A., Rathore M.A. Comparison of body adiposity index and body mass index for assessment of body fat percentage among office workers: A validation study. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2025; 41(6): 1677–82. <https://doi.org/10.12669/pjms.41.6.11630>
38. He J., He S., Liu K., Wang Y., Shi D. Chen X. The TG/HDL-C Ratio Might Be a Surrogate for Insulin Resistance in Chinese Non-obese Women. *Int. J. Endocrinol*. 2014; 2014: 105168. <https://doi.org/10.1155/2014/105168>
39. Aman M., Resnawita D., Rasyid H., Kasim H., Bakri S., Umar H., et al. The concordance of triglyceride glucose index (TyG index) and homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) in non-diabetic subjects of adult Indonesian males. *Clinical Epidemiology and Global Health*. 2021; 9: 227–30. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2020.09.003>
40. Ștefan A.G., Clenciu D., Mitrea A., Vladu I.M., Protasiewicz-Timofciuc D.C., Roșu M.M., et al. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Romania. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26(6): 2389. <https://doi.org/10.3390/ijms26062389>
41. Mirr M., Skrypnik D., Bogdański P., Owecki M. Newly proposed insulin resistance indexes called TyG-NC and TyG-NHtR show efficacy in diagnosing the metabolic syndrome. *Journal of endocrinological*

- investigation. 2021; 44(12): 2831–43. <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01608-2>
42. Khan S.H., Sobia F., Niazi N.K., Manzoor S.M., Fazal N., Ahmad F. Metabolic clustering of risk factors: Evaluation of Triglyceride-glucose index (TyG index) for evaluation of insulin resistance. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2018; 10: 74. <https://doi.org/10.1186/s13098-018-0376-8>
43. Son D.H., Lee H.S., Lee Y.J., Lee J.H., Han J.H. Comparison of triglyceride-glucose index and HOMA-IR for predicting prevalence and incidence of metabolic syndrome. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*. 2022; 32(3): 596–604. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2021.11.017>
44. Mansoori A., Nosrati M., Dorchin M., Mohammadyari F., Derakhshan-Nezhad E., Ferns G., et al. A novel index for diagnosis of type 2 diabetes mellitus: Cholesterol, High density lipoprotein, and Glucose (CHG) index. *Journal of diabetes investigation*. 2025; 16(2): 309–14. <https://doi.org/10.1111/jdi.14343>
45. Korneeva E.V., Voevoda M.I. Association of the triglyceride-glucose index and its modifications with metabolic syndrome in young people. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy mediciny*. 2025; 18(2): 35–40. [https://doi.org/10.20969/VSKM.2025.18\(2\).35-40](https://doi.org/10.20969/VSKM.2025.18(2).35-40) (In Russian)
46. Caceres Mendez E., Murgueitio Guzman C., Beltran Espana J., Garcia Pena A., Diaz Brochero C. Utility of the triglycerides/HDL cholesterol ratio in older adult patients in Colombia. *European Heart Journal*. 2024; 45(1): ehae666–3132. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehae666.3132>
47. Nakashima R., Ikeda S., Shinohara K., Matsumoto S., Yoshida D., Ono Y., et al. Triglyceride/high density lipoprotein cholesterol index and future cardiovascular events in diabetic patients without known cardiovascular disease. *Scientific Reports*. 2025; 15(1): 9217. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-92933-6>
48. Mardi P., Abdi F., Ehsani A., Seif E., Djalalinia S., Heshmati J., et al. Is non-high-density lipoprotein associated with metabolic syndrome? A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in endocrinology*. 2022; 13: 957136. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.957136>
49. Wakabayashi I., Daimon T. Comparison of discrimination for cardio-metabolic risk by different cut-off values of the ratio of triglycerides to HDL cholesterol. *Lipids in health and disease*. 2019; 18(1): 156. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1098-0>
50. Madyanov I.V. Indirect methods for assessing insulin resistance in metabolic syndrome. *RMJ*. 2021; 2: 10–2. (In Russian)
51. Xia M.F., Chen Y., Lin H.D., Ma H., Li X.M., Aleteng Q., et al. A indicator of visceral adipose dysfunction to evaluate metabolic health in adult Chinese. *Scientific Reports*. 2016; 6(1): 38214. <https://doi.org/10.1038/srep38214>
52. Adejumo E.N., Adejumo A.O., Azenabor A., Ekun A.O., Enitan S.S., Adebola O.K., et al. Anthropometric parameter that best predict metabolic syndrome in South west Nigeria. *Diabetes & metabolic syndrome*. 2019; 13(1): 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.08.009>
53. Pokharel D.R., Maskey A., Kafle R., Kathayat G., Manandhar B., Manandhar K.D. Diagnostic potential of Waist – Triglyceride Index, Triglyceride – Glucose Index and Related Indices for the detection of Metabolic Syndrome in Nepali adults: A Cross-Sectional Study. *Human Nutrition & Metabolism*. 2025; 200324. <https://doi.org/10.1016/j.hnm.2025.200324>
54. Li Y., Zheng R., Li S., Cai R., Ni F., Zheng H., et al. Association between four anthropometric indexes and metabolic syndrome in US adults. *Frontiers in Endocrinology*. 2022; 13: 889785. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.889785>
55. Witarto B.S., Witarto A.P., Visuddho V., Wungu C.D.K., Maimunah U., Rejeki P.S., et al. Gender-specific accuracy of lipid accumulation product index for the screening of metabolic syndrome in general adults: a meta-analysis and comparative analysis with other adiposity indicators. *Lipids in Health and Disease*. 2024; 23(1): 198. <https://doi.org/10.1186/s12944-024-02190-1>
56. Alfawaz H.A., Khan N., Ansari M.G., Khattak M.N., Saadawy G.M., Al-Daghri N.M. Sex-specific cut-offs of seven adiposity indicators and their performance in predicting metabolic syndrome in Arab adults. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12(23): 7280. <https://doi.org/10.3390/jcm12237280>

Сведения об авторах:

Даренская Марина Александровна, проф. РАН, доктор биол. наук, гл. науч. сотр., руководитель лаб. патоф. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Беленькая Лилия Васильевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. физиологии и патологии эндокринной системы ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Колесников Сергей Иванович, акад. РАН, доктор мед. наук, проф., гл. науч. сотр. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, засл. деят. науки РФ

Сутурина Лариса Викторовна, проф., доктор мед. наук, гл. науч. сотр., руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья, ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Шолохов Леонид Федорович, проф., доктор мед. наук, вед. науч. сотр., руководитель лаб. физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Данусевич Ирина Николаевна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр., руководитель лаб. гинекологической эндокринологии, ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Лазарева Людмила Михайловна, доктор мед. наук, науч. сотр. лаб. гинекологической эндокринологии, ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Наделяева Яна Геннадьевна, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. гинекологической эндокринологии, ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Колесникова Любовь Ильинична, акад. РАН, доктор мед. наук, проф., науч. рук. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, засл. деят. науки РФ

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-092.9

Клименков Г.С.¹, Габитов М.В.¹, Лобанов А.В.², Скрипкин Ю.В.³, Гребенчиков О.А.¹, Долгих В.Т.¹

Изучение влияния хлорида лития на уровень провоспалительных цитокинов при моделировании фотохимически индуцированного инсульта

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В.А. Неговского» Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии, 107031, Москва, Россия, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

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

³ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

Введение. Ишемический инсульт остаётся одной из ведущих причин смертности и инвалидности, а воспалительный процесс играет ключевую роль в его патогенезе. Хлорид лития (LiCl), обладающий нейропротекторными свойствами, представляет интерес как потенциальное средство для модуляции воспаления.

Цель исследования – оценка влияния LiCl на экспрессию провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в модели фотохимически индуцированного инфаркта головного мозга (ФИГМ) у крыс.

Методика. В исследовании использовали три группы животных: интактные, контрольные (ФИГМ + 0,9% NaCl) и экспериментальные (ФИГМ + LiCl в дозе 63 мг/кг). Уровень экспрессии мРНК цитокинов определяли методом количественной ПЦР в реальном времени.

Результаты. Моделирование ФИГМ вызывало повышение уровня IL-1 β , IL-6 и TNF- α в мозговой ткани. Введение LiCl статистически значимо снижало экспрессию IL-1 β на 21% и TNF- α на 41%.

Заключение. Полученные результаты подтверждают противовоспалительное действие LiCl в условиях ишемического повреждения мозга и указывают на его перспективность как компонента комбинированной терапии инсульта. Дальнейшие исследования необходимы для оценки дозозависимых эффектов и отдалённых исходов терапии.

Ключевые слова: литий; цитокины; IL-1beta; IL-6; TNF- α ; нейропротекция; инфаркт головного мозга

Для цитирования: Клименков Г.С., Габитов М.В., Лобанов А.В., Скрипкин Ю.В., Гребенчиков О.А., Долгих В.Т. Изучение влияния хлорида лития на уровень провоспалительных цитокинов при моделировании фотохимически индуцированного инсульта. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 16–23.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.16-23

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Гребенчиков О.А., Долгих В.Т.; сбор и обработка материала – Клименков Г.С.; написание текста – Клименков Г.С.; редактирование – Скрипкин Ю.В., Лобанов А.В., Габитов М.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Гребенчиков Олег Александрович, доктор мед. наук, зав. лаб. органопротекции при критических состояниях ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: oleg.grebenchikov@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена по теме НИР «Молекулярные механизмы действия инертных газов при тяжелых повреждениях головного мозга и клиничко-экспериментальное обоснование применения их нейроцитопротективных свойств в анестезиологии-реаниматологии» (No FGWS – 2022-0002).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила 06.06.2025

Принята к печати 16.09.2025

Опубликована 27.03.2026

Klimenkov G.S.¹, Gabitov M.V.¹, Lobanov A.V.², Skripkin Yu.V.³, Grebenchikov O.A.¹, Dolgikh V.T.¹

Investigation of the Effects of Lithium Chloride on Proinflammatory Cytokine Levels in a Photochemically Induced Stroke Model

¹V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation, 25/2 Petrovka St., Moscow 107031, Russia

²Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltijskaya St., Moscow 125315, Russia

³M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia

Introduction. Ischemic stroke remains one of the leading causes of mortality and disability worldwide, with inflammation playing a key role in its pathogenesis. Lithium chloride (LiCl), known for its neuroprotective properties, has emerged as a potential modulator of neuroinflammation.

Objective. To evaluate the effects of LiCl on the expression of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α in a rat model of photochemically induced cerebral infarction (PICI).

Methods. The study included three groups of animals: intact, control (PICI + 0.9% NaCl), and experimental (PICI + LiCl at 63 mg/kg). Cytokine mRNA levels were measured by quantitative real-time PCR.

Results. Induction of PICI resulted in increased IL-1 β , IL-6, and TNF- α expression in brain tissue. Administration of LiCl significantly reduced IL-1 β by 21% and TNF- α by 41%.

Conclusion. These findings confirm the anti-inflammatory effects of LiCl in ischemic brain injury and highlight its potential as a component of combined stroke therapy. Further studies are needed to assess dose-dependence and long-term outcomes.

Keywords: lithium; cytokines; IL-1beta; IL-6; TNF- α ; neuroprotection; brain infarction

For citation: Klimenkov G.S., Gabitov M.V., Lobanov A.V., Skripkin Yu.V., Grebenchikov O.A., Dolgikh V.T. Investigation of the Effects of Lithium Chloride on Proinflammatory Cytokine Levels in a Photochemically Induced Stroke Model. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 16–23. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.16-23

Author's contribution: research concept and design – Grebenchikov O.A., Dolgikh V.T.; data collection and processing – Klimenkov G.S.; text writing – Klimenkov G.S.; editing – Skripkin Yu.V., Lobanov A.V., Gabitov M.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

For correspondence: **Oleg Alexandrovich Grebenchikov**, doctor of medical sciences, head of the laboratory of organ protection in critical conditions, e-mail: oleg.grebenchikov@yandex.ru

Information about the authors:

Klimenkov G.S., <https://orcid.org/0009-0006-5853-7961>

Gabitov M.V., <https://orcid.org/0009-0005-9615-6118>

Lobanov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-5159-3227>

Skripkin Yu.V., <https://orcid.org/0000-0002-6747-2833>

Grebenchikov O.A., <https://orcid.org/0000-0001-9045-6017>

Dolgikh V.T., <https://orcid.org/0000-0001-9034-4912>

Financing. The work was carried out on the research topic "Molecular mechanisms of action of inert gases in severe brain damage and clinical and experimental substantiation of the use of their neurocytoprotective properties in anesthesiology and resuscitation" (No. FGWS – 2022-0002).

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

Received 06.06.2025

Accepted 16.09.2025

Published 27.03.2026

Введение

Абсолютное число случаев и смертей от ишемического инсульта (ИИ) продолжает расти из-за старения населения и демографических изменений, и прогнозы указывают на дальнейший рост числа случаев и смертей от ИИ к 2030 году [1, 2]. Он возникает в результате резкого снижения или прекращения кровотока в головном мозге, что запускает ишемический каскад патологических процессов. На сегодняшний день основными методами лечения остаются тромболитическая терапия и механическая тромбэктомия [3, 4], однако их эффективность ограничена коротким терапевтическим окном и рисками, связанными с осложнениями [5, 6].

Современные научные данные подчеркивают необходимость разработки новых нейропротективных подходов [7]. Воспалительный процесс, включающий активацию микроглии, высвобождение провоспалительных цитокинов и нарушение целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), является ключевым звеном патогенеза ИИ [8, 9]. Одной из перспективных мишеней для модуляции этих процессов считается фермент гликоген-синтаза-киназа β (GSK-3 β), участвующий в регуляции апоптоза, воспаления и окислительного стресса [9, 10].

Среди существующих экспериментальных моделей ИИ особое внимание уделяется фотохимически индуцированному инфаркту головного мозга (ФИГМ), обладающему высокой воспроизводимостью и возможностью точного контроля зоны повреждения. Модель основана на введении фоточувствительного вещества (бенгальского розового) и последующей активации тромбоза посредством лазерного облучения, что воспроизводит основные патогенетические факторы ишемии, включая тромбообразование, нейровоспаление и формирование пенумбры. Преимуществами этой модели являются:

- высокая воспроизводимость и низкая летальность;
- возможность регулировать локализацию и объем повреждения;
- соответствие патогенезу атеротромботического инсульта у человека [11].

Воспалительный каскад при ИИ сопровождается активацией глияльных клеток, в частности микроглии и астроцитов, а также секрецией медиаторов воспаления, таких как IL-1 β и TNF- α [12, 13].

Хлорид лития (LiCl) демонстрирует нейропротекторную активность, что связано с ингибированием GSK-3 β [14]. Его способность снижать объем инфаркта подтверждена в доклинических исследованиях [15, 16]. LiCl также влияет на митохондриальные процессы, предотвращая апоптоз [17].

В одном из недавних исследований установлено, что введение хлорида лития в дозах 21 и 63 мг/кг после моделирования фокальной ишемии у крыс значительно уменьшает как зону инфаркта, так и объем перифокального отека [18]. Тем не менее, влияние препарата на уровень провоспалительных цитокинов в модели ФИГМ до конца не изучено.

С учетом этиологического характера ИИ и центральной роли воспалительных цитокинов, изучение противовоспалительного и нейропротекторного действия хлорида лития в условиях ФИГМ представляет высокий научный и клинический интерес.

Гипотеза: LiCl снижает уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α) в очаге ишемии, что коррелирует с улучшением неврологических исходов.

Цель исследования: оценить влияние LiCl на динамику цитокинов и морфофункциональные изменения мозга в модели ФИГМ.

Методика

Экспериментальные исследования с использованием лабораторных животных выполнены в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства здравоохранения и социального развития № 708н от 23.08.2010, а также в соответствии с Международным соглашением о гуманном обращении с животными: EU Directive 86/609/ЕЕС от 24 ноября 1986 г., Европейской конвенцией ETS №123 о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (Страсбург) от 18 марта 1986 г. Работа была одобрена этическим комитетом НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНKC PP (протокол заседания № 1/25/2 от 07.02.2025).

Эксперименты были проведены на аутобредных крысах-самцах Wistar массой 250–350 г ($n = 21$). Лабораторные животные были разделены на три группы:

- 1) интактные крысы: проводилась только анестезия, но не выполняли ФИГМ (группа «Интактные», $n = 7$);
- 2) контрольная группа животных: после моделирования ФИГМ внутривенно вводили 0,9% раствор хлорида натрия (группа «Контроль», $n = 7$);
- 3) экспериментальные животные, которым через 60 мин после моделирования ФИГМ внутривенно вводили раствор хлорида лития 4,2% в дозе 63 мг/кг (группа ФИГМ + LiCl 63 мг/кг, $n = 7$).

Накануне эксперимента животные не получали корм, но имели свободный доступ к воде. Моделирование фотохимически индуцированного инфаркта головного мозга (ФИГМ) вследствие сосудистого тромбоза проводили в префронтальной коре головного моз-

га крыс (поля Fr1 и Fr2) в условиях внутрибрюшинной анестезии хлоралгидратом 300 мг/кг. После введения светочувствительного красителя rose Bengal (40 мг/кг внутривенно; Sigma-Aldrich, St. Луис, Миссури, США), голову крысы фиксировали в стереотаксической рамке, а череп обнажали через разрез по средней линии, очищенный от надкостницы. Устройство, используемое для облучения, состоит из источника холодного света (галогенная лампа мощностью 250 Вт) и светового волокна с внутренним диаметром 3 мм. Световое волокно размещали на расстоянии 1 мм от поверхности черепа на расстоянии 2 мм роstralно к брегме и 2 мм латерально к сагиттальному шву. Полушарие мозга облучали холодным светом при $\lambda = 560$ нм в течение 15 мин. После наложения швов на кожу, крыс помещали в клетку под инфракрасную нагревательную лампу до их восстановления после наркоза.

В рамках экспериментального исследования для оценки корреляции уровня провоспалительных цитокинов была проведена количественная оценка экспрессии мРНК генов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в мозге крыс с использованием метода ПЦР в реальном времени. Экстракцию РНК осуществляли с применением набора RNeasy Mini Kit (QIAGEN, США) согласно прилагаемому протоколу. Образцы ткани (25 мг) предварительно измельчали в жидком азоте с использованием пестика и ступки, после чего к гомогенату добавляли 600 мкл буфера RLT (QIAGEN, США). Далее проводили гомогенизацию при

помощи шприца с иглой диаметром 0,8 мм. Полученный лизат центрифугировали при 16100 g в течение 3-х минут, после чего супернатант переносили в новую пробирку. К супернатанту добавляли 450 мкл 96% этанола, затем смесь наносили на колонку RNeasy. Связанную РНК последовательно промывали 700 мкл буфера RW1 и дважды по 500 мкл буфера RPE. Элюцию проводили при помощи 50 мкл воды, свободной от РНКаз. Для очистки РНК дополнительно применяли переосаждение с использованием 1/10 объема 3М ацетата натрия и 2,5 объема 96% этанола. Осадок растворяли в 30 мкл деионизованной воды, не содержащей РНКаз. Обратную транскрипцию проводили с помощью набора SuperScript III (ThermoScientific (США)). Реакционную смесь составляли из 1 мкл праймеров (олиго(dT)18, 500 мкг/мл, и случайных праймеров в соотношении 1:1), 2 мкг total-ной РНК, 1 мкл смеси дезоксирибонуклеотидов (10 мМ) и MQ-вода до конечного объема 12 мкл. Смесь инкубировали при 65 °C в течение 6 минут, затем охлаждали на льду. После этого добавляли 4 мкл 5 $\times$ буфера для транскрипции, 2 мкл 0,1 М ДТТ, 1 мкл обратной транскриптазы (20 ед.) и 1 мкл MQ. Смесь инкубировали при комнатной температуре 10 минут (для отжига случайных праймеров), затем в течение 50 минут при 43 °C и, наконец, при 70 °C в течение 15 минут для инактивации фермента. Для подбора праймеров к ПЦР использовали программу Beacon Designer. Использованные пары праймеров представлены в **табл. 1**.

Таблица 1 / Table 1

Последовательности и основные характеристики праймеров, использованных для ПЦР в реальном времени**Primer sequences and key characteristics used for real-time PCR**

Ген / Gene	Животное / Animal	Последовательности праймеров (прямого и обратного), 5'–3' / Primer sequences (forward and reverse), 5'–3'	Температура отжига / Annealing temperature
18S рРНК	Крыса / Rat	GACAGGATTGACAGATTGAT	56 °C
		TTATCGGAATTAACCGACAA	
TNF- α	Крыса / Rat	TTATCTACTCCCAGGTTCT	56 °C
		TGGTATGAAATGGCAAATC	
IL-1beta	Крыса / Rat	AGAACATAAGCCAACAAGT	56 °C
		ACACAGGACAGGTATAGAT	
IL-6	Крыса / Rat	TGATTGTATGAACAGCGATGATG	56 °C
		CCAGAAGACCAGAGCAGATT	
		TCACATCACAGTAGGAAGTT	

ПЦР в реальном времени проводили в амплификаторе BioRad iCycler (США) в соответствии с протоколом (табл. 2) и смесью следующего состава: смесь Б (интеркалирующий краситель Eva Green + рецессивный краситель ROX + Taq Pol + 25mM dNTP + буфер (НПК Синтол, Россия)) — 10 мкл, праймеры (смесь 10 мкМ прямого и обратного праймеров – 0,5 мкл, MQ – 9,5 мкл, продукт обратной транскрипции – 5 мкл).

Статистический анализ

Обработку и статистический анализ данных проводили с использованием табличного процессора Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2021), программ Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., 2014), MedCalc 23.1.2 (MedCalc Software Ltd, 2025) и среды программирования Python с модулем SciPy. Результаты анализа экспрессии нормировали на экспрессию гена 18S рРНК. Нормальность распределения переменных в выборках оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные представлены как медиана и [интерквартильный интервал]. Статистические различия в данных, имеющих хотя бы в одной из групп распределение, отличное от нормального, анализировали с использованием U-теста Манна-Уитни. Критерий статистической значимости межгрупповых различий, с учетом поправки Бонферрони для попарного сравнения трех групп, был принят на уровне $p < 0,017$.

Результаты

Для оценки влияния хлорида лития на уровень провоспалительных цитокинов, как проявление его нейро-

протекторного действия, была выбрана модель фотохимически индуцированного ишемического повреждения головного мозга (ФИГМ), характеризующаяся высокой воспроизводимостью. Мы выдвинули гипотезу о том, что внутривенное введение хлорида лития спустя 60 минут после индукции ФИГМ может препятствовать повышению уровня цитокинов в головном мозге. В рамках эксперимента определяли уровень экспрессии мРНК генов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в мозговой ткани методом количественной ПЦР в реальном времени.

В результате моделирования ФИГМ установлено статистически значимое повышение на 39% уровня провоспалительного цитокина IL-1beta в перифокальной зоне повреждения в контрольной группе в сравнении с интактным мозгом крыс ($p = 0,0006$). При применении LiCl уровень IL-1beta был ниже на 21% по отношению к группе «Контроль» ($p = 0,0006$) (табл. 3).

Моделирование ФИГМ статистически значимо повышало уровень провоспалительного цитокина IL-6 в перифокальной зоне травматического повреждения в группе «Контроль» более чем в 2 раза в сравнении с интактным мозгом ($p = 0,0017$), но при этом после применения LiCl уровень IL-6 статистически значимо не снижался ($p = 0,021$) (табл. 3).

Моделирование ФИГМ статистически значимо повышало уровень TNF- α в мозге крыс в перифокальной зоне травматического повреждения на 79% в сравнении с интактным мозгом ($p = 0,0017$). При использовании LiCl уровень TNF- α был меньше на 41% по сравнению с группой «Контроль» ($p = 0,0017$) (табл. 3).

Таблица 2 / Table 2

Протокол ПЦР в реальном времени
Real-time PCR protocol

Период / Step	Время / Time	Температура, °C / Temperature (°C)	Число циклов / Number of cycles
Инициация / Initiation	5 мин / 5 min	95	1
Денатурация / Denaturation	1 мин / 1 min	95	45
Отжиг / Annealing	20 с / 20 sec	56	
Элонгация / Elongation	20 с / 20 sec	72	
Завершение / Final extension	1 мин / 1 min	72	1
Кривая плавления / Melting curve	30 с / 30 sec	Каждые 30 с температура повышается на 0,5 °C / Temperature increases by 0.5 °C every 30 s	45

Таблица 3 / Table3

Относительный уровень мРНК IL-1beta, IL-6, TNF-α в мозге крыс, референсный ген 18S рРНК**Relative mRNA levels of IL-1beta, IL-6, TNF-α in rat brain, reference gene 18S rRNA**

Группа / Group	мРНК IL-1beta, отн. ед. / mRNA IL-1beta, rel. units	мРНК IL-6, отн. ед. / mRNA IL-6, rel. units	мРНК TNF-α, отн. ед. / mRNA TNF-α, rel. units
Интактные / Intact, n = 7	100 [90,25–115]	145 [108,5–161,5]	80 [70,5–90,75]
Контроль / Control, n = 7	139 [123,25–140,75]	364 [362,25–417,5]	143 [112,75–175]
ФИГМ + LiCl / PICI + LiCl, n = 7	118 [98,25–123,75]	213 [211,25–237,5]	110 [95,5–122,25]

Таким образом, применение хлорида лития в дозе 63 мг/кг статистически значимо препятствовало повышению уровня провоспалительных цитокинов IL-1beta и TNF-α в перифокальной зоне ФИГМ крыс.

Обсуждение

В настоящем исследовании показано, что однократное внутривенное введение хлорида лития (LiCl) в дозе 63 мг/кг после моделирования фотохимически индуцированного инсульта приводит к статистически значимому снижению экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1β и TNF-α в мозговой ткани. При этом уровень IL-6, несмотря на тенденцию к снижению, не достиг статистически значимых различий с контрольной группой. Эти данные подтверждают гипотезу о противовоспалительном действии LiCl в условиях ишемического повреждения мозга.

Полученные результаты согласуются с литературными данными о способности лития ингибировать активность GSK-3β, что приводит к уменьшению апоптоза и воспалительной реакции [14, 15–17]. Снижение экспрессии IL-1β и TNF-α является особенно важным, поскольку оба цитокина играют ключевую роль в активации микроглии, нарушении целостности гематоэнцефалического барьера и формировании неблагоприятного микроокружения в зоне ишемии [8, 12, 13]. Таким образом, модуляция цитокинового ответа может рассматриваться как один из механизмов нейропротекторного действия LiCl.

Интересно отметить, что экспрессия IL-6 не продемонстрировала статистически значимого снижения под действием LiCl, что может отражать двойственную роль данного цитокина в патогенезе инсульта. С одной стороны, IL-6 участвует в развитии воспаления и способствует повреждению ткани, с другой – обладает нейрогенераторными свойствами, стимулируя ангиогенез и восстано-

вительные процессы. Вероятно, именно эта функциональная неоднозначность объясняет отсутствие выраженной супрессии IL-6 при применении LiCl.

Применённая модель фотохимически индуцированного инфаркта головного мозга имеет ряд преимуществ, включая воспроизводимость и точность локализации повреждения [11]. Однако следует учитывать, что она не в полной мере воспроизводит патогенез ишемического инсульта у человека, в частности системные изменения и влияние сопутствующих заболеваний. Ещё одним ограничением работы является отсутствие оценки отдалённых функциональных исходов, что требует проведения дальнейших исследований с расширением диапазонов доз и сроков наблюдения.

В целом, полученные данные демонстрируют противовоспалительное действие хлорида лития в условиях ишемического повреждения мозга и указывают на его потенциал как компонента комбинированной терапии инсульта. Снижение экспрессии IL-1β и TNF-α подтверждает перспективность использования LiCl для модуляции воспалительного ответа. Будущие исследования должны быть направлены на уточнение дозозависимых эффектов, изучение долгосрочного влияния на неврологические исходы, а также оценку безопасности применения препарата в клинических условиях.

Аналогичные результаты были получены в предыдущем нашем исследовании, где введение хлорида лития в дозе 1,5 ммоль/кг статистически значимо снижало уровень IL-1β в мозге крыс после моделирования черепно-мозговой травмы [19].

Заключение

Полученные данные могут служить основой для дальнейшей разработки комбинированных терапевтических стратегий, направленных на подавление воспаления при инсульте.

Литература (п.п. 1–8, 10, 12–17 см. References)

9. Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А., Борисов К.Ю., Шайбакова В.Л., Шапошников А.А., Черпаков Р.А. и др. Механизмы фармакологического preconditionирования мозга и сравнительная эффективность препаратов-ингибиторов гликоген-синтетазы-киназы-3 прямого и непрямого действия. *Общая реаниматология*. 2012; 8(6): 37–42. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-37>
11. Острова И.В., Бабкина А.С., Любомудров М.А., Гречко А.В., Голубев А.М. Применение фотохимического тромбоза для моделирования ишемического инсульта (обзор). *Общая реаниматология*. 2023; 19(3): 54–65. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2023-3-54-65>
18. Черпаков Р.А., Гребенчиков О.А. Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс. *Общая реаниматология*. 2021; 17(5): 101–110. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-101-110>
19. Шарикадзе Д.Т., Габитов М.В., Лобанов А.В., Гребенчиков О.А., Кузовлев А.Н. Изучение влияния хлорида лития на уровень провоспалительных цитокинов после черепно-мозговой травмы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(1): 58–64. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.58-64>

References

1. Fan J., Li X., Yu X., Liu Z., Jiang Y., Fang Y. et al. Global Burden, Risk Factor Analysis, and Prediction Study of Ischemic Stroke, 1990–2030. *Neurology*. 2023; 101(2): e137–e150. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000207387>
2. Pu L., Wang L., Zhang R., Zhao T., Jiang Y., Han L. Projected Global Trends in Ischemic Stroke Incidence, Deaths and Disability-Adjusted Life Years From 2020 to 2030. *Stroke*. 2023; 54(5): 1330–39. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.122.040073>
3. Berge E., Whiteley W., Audebert H., De Marchis G.M., Fonseca A.C., Padiglioni C. et al. European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Eur Stroke J*. 2021; 6(1): I–LXII. <https://doi.org/10.1177/2396987321989865>
4. Kolahchi Z., Rahimian N., Momtazmanesh S., Hamidianjahromi A., Shahjouei S., Mowla A. Direct Mechanical Thrombectomy Versus Prior Bridging Intravenous Thrombolysis in Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Life (Basel)*. 2023; 13(1): 185. <https://doi.org/10.3390/life13010185>
5. Waller J., Kaur P., Tucker A., Amer R., Bae S., Kogler A. et al. The benefit of intravenous thrombolysis prior to mechanical thrombectomy within the therapeutic window for acute ischemic stroke. *Clin Imaging*. 2021; 79: 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.clinimag.2021.03.020>
6. Zheng Y.M., Li L., Chen L., Li B., Feng C. Mechanical thrombectomy combined with intravenous thrombolysis for acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analyses. *Sci Rep*. 2023; 26; 13(1): 8597. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35532-7>
7. Haupt M., Gerner S.T., Bähr M., Doeppner T.R. Neuroprotective Strategies for Ischemic Stroke-Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2023; 22; 24(5): 4334. <https://doi.org/10.3390/ijms24054334>
8. Levinson S., Pulli B., Heit J.J. Neuroinflammation and acute ischemic stroke: impact on translational research and clinical care. *Front Surg*. 2025; 12: 1501359. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2025.1501359>
9. Likhvantsev V.V., Grebenchikov O.A., Borisov K.Yu., Shaibakova V.L., Shaposhnikov A.A., Cherpakov R.A. et al. The Mechanisms of Pharmacological Preconditioning of the Brain and the Comparative Efficacy of the Drugs – Direct- and Indirect-Acting Glycogen Synthase Kinase-3 β Inhibitors: Experimental Study. *Obshchaya Reanimatologiya (General Reanimatology)*. 2012; 8(6): 37–42. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-37>
10. Zhang Y., Wu Z., Huang Z., Liu Y., Chen X., Zhao X. et al. GSK-3 β inhibition elicits a neuroprotection by restoring lysosomal dysfunction in neurons via facilitation of TFEB nuclear translocation after ischemic stroke. *Brain Res*. 2022; 1778: 147768. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147768>
11. Ostrova I.V., Babkina A.S., Lyubomudrov M.A., Grechko A.V., Golubev A.M. Photochemically Induced Thrombosis as a Model of Ischemic Stroke. *Obshchaya Reanimatologiya (General Reanimatology)*. 2023; 19(3): 54–65. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2023-3-54-65>
12. Kumari S., Dhapola R., Sharma P., Nagar P., Medhi B., HariKrishnaReddy D. The impact of cytokines in neuroinflammation-mediated stroke. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2024; 78: 105–19. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2024.06.002>
13. Lu W., Chen Z., Wen J. Flavonoids and ischemic stroke-induced neuroinflammation: Focus on the glial cells. *Biomed Pharmacother*. 2024; 170: 115847. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115847>
14. Chuang D.M., Wang Z., Chiu C.T. GSK-3 as a Target for Lithium-Induced Neuroprotection Against Excitotoxicity in Neuronal Cultures and Animal Models of Ischemic Stroke. *Front Mol Neurosci*. 2011; 4: 15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2011.00015>
15. Almeida O.P., Singulani M.P., Ford A.H., Hackett M.L., Etherton-Beer C., Flicker L. et al. Lithium and Stroke Recovery: A Systematic Review and Meta-Analysis of Stroke Models in Rodents and Human Data. *Stroke*. 2022; 53(9): 2935–44. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.122.039203>
16. Chen B., Zhang M., Ji M., Zhang D., Chen B., Gong W. et al. The neuroprotective mechanism of lithium after ischaemic stroke. *Commun Biol*. 2022; 5: 105. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03051-2>
17. Yang M., He Y., Deng S., Gattringer T., Kobayashi A., Galloferre M. et al. Mitochondrial Quality Control: A Pathophysiological Mechanism and Therapeutic Target for Stroke. *Front Mol Neurosci*. 2022; 14: 786099. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.786099>
18. Cherpakov R.A., Grebenchikov O.A. Effect of Lithium Chloride Concentration on Its Neuroprotective Properties in Ischemic Stroke in Rats. *Obshchaya Reanimatologiya (General Reanimatology)*. 2021; 17(5): 101–110. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-101-110>

19. Sharikadze D.T., Gabitov M.V., Lobanov A.V., Grebenchikov O.A., Kuzovlev A.N. The effect of lithium chloride on the level of pro-inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(1): 58–64. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.58-64>

ya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2025; 69(1): 58–64. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.58-64>

Сведения об авторах

Клименков Георгий Сергеевич, соискатель каф. общей патологии ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, врач анестезиолог-реаниматолог

Габитов Михаил Валерьевич, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. органопротекции при критических состояниях ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР

Лобанов Александр Владимирович, вед. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ «НИИ ОПП»

Скрипкин Юрий Вольдемарович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отделения реаниматологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Гребенчиков Олег Александрович, доктор мед. наук, зав. лаб. органопротекции при критических состояниях ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: oleg.grebenchikov@yandex.ru

Долгих Владимир Терентьевич, доктор мед. наук, главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР

© Коллектив авторов, 2026

УДК 616.127-002:616.98:578.834]-091-07

Колюбаева С.Н., Коняев В.В., Соколова М.О., Пламинский Д.Ю., Елисеева М.И.

Митохондриальная дисфункция и патоморфологические изменения миокарда при коронавирусной инфекции

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, Санкт-Петербург, улица Академика Лебедева, д. 6

Введение. Разрушение митохондрий является центральным событием в различных механизмах клеточной гибели, в том числе апоптоза, который запускается геном p53 при нарушении репаративных процессов. При этом продукты распада клеток, например, в случае инфекции COVID-19, запускают каскад воспалительных реакций, угрожающих выживанию организма. Вклад митохондриальной дисфункции в формирование «цитокинового шторма» при осложненном течении коронавирусной инфекции и ее непосредственное участие в активации реакций врожденного иммунитета до конца не совсем ясен. В статье представлены результаты исследования функциональных и структурных нарушений митохондрий пациентов с тяжелым течением COVID-19 или умерших от этой инфекции.

Методика. Исследование проведено на мононуклеарных клетках периферической крови, взятой от пациентов при COVID-19 во время «цитокинового шторма» и на тканях миокарда, полученной при аутопсии. Исследование одобрено этическим комитетом при Военно-медицинской академии (протокол заседания №232 от 18 февраля 2020 г.). Функцию митохондриального дыхания в мононуклеарных клетках периферической крови исследовали с применением анализатора клеточного метаболизма, а структурные изменения в миокарде и митохондриях кардиомиоцитов выявляли при помощи световой микроскопии, сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты. Результаты исследования митохондриальной дисфункции у лиц с тяжелым течением коронавирусной инфекции продемонстрировали отсутствие запасного дыхания у одного из пациентов с тяжелым течением COVID-19. В тканях миокарда умерших от этой инфекции определялись нарушения, выраженные в некротических изменениях кардиомиоцитов, изменениях в структуре митохондрий, включающих утрату крист, формирование в митохондриальном матриксе электронно-плотных включений.

Обсуждение. Морфологические изменения, обнаруженные в миокарде пациентов, умерших в результате коронавирусной инфекции, следует трактовать, как развившиеся в премортальный период и характеризующие сердечный механизм смерти. Митохондриальная дисфункция, определяемая структурно и функционально в кардиомиоцитах и мононуклеарных клетках крови, является важным фактором, определяющим способность организма противостоять инфекции SARS-CoV-2.

Заключение. Существует необходимость обобщения всех имеющихся данных по патогенезу, генетическим предикторам, лечению и течению заболевания COVID-19 как у населения отдельных стран, так и в мире в целом. Исследование генов митохондриальной и ядерной ДНК, задействованных во внутриклеточном энергетическом обмене, при тяжелом течении COVID-19 представляет собой перспективную цель исследования, обладающую высоким клиническим потенциалом.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция; «цитокиновый шторм»; клеточное дыхание; митохондриальная дисфункция; патоморфологические изменения; кардиомиоциты; вирус Sars-Cov-2

Для цитирования: Колюбаева С.Н., Коняев В.А., Соколова М.О., Пламинский Д.Ю., Елисеева М.И. Митохондриальная дисфункция и патоморфологические изменения миокарда при коронавирусной инфекции. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 24–33.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.24-33

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста – Колюбаева С.Н.; проведение молекулярных исследований – Коняев В.А.; выполнение электронно-микроскопических исследований – Соколова М.О.; проведение гистологических исследований – Пламинский Д.Ю.; сбор и статистическая обработка данных – Елисеева М.И. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Колюбаева Светлана Николаевна, e-mail: ksnwma@mail.ru

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.11.2024

Принята к печати 18.04.2025

Опубликована 27.03.2026

Kolyubaeva S.N., Konyaev V.V., Sokolova M.O., Plaminskij D.Yu., Eliseeva M.I.

Mitochondrial dysfunction and pathomorphological changes in myocardial diagnosis in coronavirus infection

Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg 6 Akademika Lebedeva Street, Saint Petersburg, 194044

Introduction. Mitochondrial destruction is a central event in various mechanisms of cell death, including apoptosis, which is triggered by the p53 gene when reparative processes are disrupted. At the same time, cell breakdown products, for example, in the case of COVID-19 infection, trigger a cascade of inflammatory reactions that threaten the survival of the body. The contribution of mitochondrial dysfunction to the formation of the "cytokine storm" in the complicated course of coronavirus infection and its direct participation in the activation of innate immune reactions is not entirely clear. The article presents the results of a study of functional and structural disorders of mitochondria in patients with severe COVID-19 or who died from this infection.

Materials and methods. The study was carried out on mononuclear cells of peripheral blood taken from patients with COVID-19 during the "cytokine storm" and on myocardial tissues obtained during autopsy. The study was approved by the Ethics Committee at the Military Medical Academy (Meeting Minutes No232 dated February 18, 2020). The function of mitochondrial respiration in peripheral blood mononuclear cells was studied using a cellular metabolism analyzer, and structural changes in the myocardium and mitochondria of cardiomyocytes were detected using light microscopy, scanning and transmission electron microscopy.

Outcomes. The results of a study of mitochondrial dysfunction in persons with severe coronavirus infection demonstrated the absence of spare breathing in one of the patients with severe COVID-19. In the myocardial tissues of those who died from this infection, disorders were detected, expressed in necrotic changes in cardiomyocytes, changes in the structure of mitochondria, including the loss of cristae, the formation of electron-dense inclusions in the mitochondrial matrix. Discussion. Morphological changes found in the myocardium of patients who died as a result of coronavirus infection should be interpreted as having developed in the premortal period and characterizing the cardiac mechanism of death. Mitochondrial dysfunction, defined structurally and functionally in cardiomyocytes and blood mononuclear cells, is an important determinant of the body's ability to resist SARS-CoV-2 infection.

Conclusion. Mitochondrial dysfunction, defined structurally and functionally in cardiomyocytes and blood mononuclear cells, is an important determinant of the body's ability to resist SARS-CoV-2 infection. Conclusion. There is a need to summarize all available data on the pathogenesis, genetic predictors, treatment and course of COVID-19 both in the population of individual countries and in the world as a whole. The study of mitochondrial and nuclear DNA genes involved in intracellular energy metabolism in severe COVID-19 is a promising research goal with high clinical potential.

Keywords: coronavirus infection; "cytokine storm"; cellular respiration; mitochondrial dysfunction; pathomorphological changes; cardiomyocytes; Sars-Cov-2 virus

For citation: Kolyubaeva S.N., Konyaev V.V., Sokolova M.O., Plaminskij D.Yu., Eliseeva M.I. Mitochondrial dysfunction and pathomorphological changes in myocardial diagnosis in coronavirus infection. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 24–33. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.24-33

Author's contribution: research concept and design, writing and editing of text – Kolyubaeva S.N.; conducting molecular research – Konyaev V.A.; performing electron microscopic studies – Sokolova M.O., conducting histological examinations – Plaminskij D.Yu., data collection and statistical processing – Eliseeva M.I. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: Svetlana N. Kolyubaeva, e-mail: ksnwma@mail.ru

Information about the authors:

Kolyubaeva S.N., <https://orcid.org/0000-0003-2441-9394>

Konyaev V.V., <https://orcid.org/0000-0002-8347-2286>

Sokolova M.O., <https://orcid.org/0000-0002-3457-4788>

Plaminskij D.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-6422-5001>

Eliseeva M.I., <https://orcid.org/0000-0001-7731-7661>

Financing. The work had no sponsorship.

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

Received 28.11.2024

Accepted 18.04.2025

Published 27.03.2026

Введение

Коронавирусная инфекция, вызываемая вирусом SARS-CoV-2, продолжает активно обсуждаться в научном сообществе как беспрецедентный с момента эпидемии испанки в 2018–2020 гг. вызов человеческой цивилизации. Особенности индивидуальной реакции человека в ответ на инвазию вируса, течение и исход заболевания стимулируют дальнейшие исследования в этой области.

Для поддержания гомеостаза при атаке и защите от бактериальных и вирусных инфекций в организме человека существуют два пути иммунного ответа: врожденный и адаптивный. В ходе пандемии COVID-19 было обнаружено, что вирус SARS-CoV-2 способен инициировать множество факторов, постоянно стимулирующих чрезмерные и фатальные цитокинемию и хемокинемию в результате активации реакций врожденного иммунитета. Научными группами всего мира проводятся углубленные исследования для выяснения природы и функций этих факторов. Индуцированные вирусом SARS-CoV-2 процессы, вероятно, ускоряют и увеличивают уже возникшее воспаление, создавая тем самым порочный круг воспалительных реакций. Генетически детерминированный гиперответ иммунной системы на инвазию патогена в случае COVID-19 приводит к развитию «цитокинового шторма», что зависит от генетической комбинаторики полиморфных вариантов генов врожденного и адаптивного иммунитета. При этом спектр экспрессии и специфичность человеческих лейкоцитарных антигенов второго класса (HLA II класса) во многом может определять вариант иммунного ответа и степень его выраженности. «Цитокиновый шторм», или гиперцитокинемия, является потенциально летальной реакцией иммунной системы, характеризующейся быстрой пролиферацией и повышенной активностью Т-клеток, макрофагов и естественных киллеров с высвобождением защитными клетками различных воспалительных цитокинов и химических медиаторов [1, 2]. В связи с этим поиск генетических предикторов тяжелого и/или осложненного течения новой коронавирусной инфекции стал сегодняшним научным трендом прикладной генетики [3].

Участие митохондрий в запуске каскада реакций при апоптозе уже давно известно. Помимо апоптоза, среди механизмов клеточной гибели описаны митофагия, нетоз, энтоз, оксиптоз и другие, для каждого из которых описан этап участия в нем митохондрий [4]. Вероятно, массовая гибель клеток при COVID-19 создает условия для реализации любого из них. Среди фрагментов погибших клеток при «цитокиновом шторме» отмечается важная роль мтДНК, освобождающейся в межклеточное пространство

и являющейся триггером в механизме развития и усиления воспаления.

Учитывая, что митохондрии занимают центральное положение среди участников различных механизмов клеточной гибели, а продукты их распада запускают каскад воспалительных реакций, угрожающих выживанию организма, взаимосвязь между митохондриальной дисфункцией и эффективной стратегией лечения является перспективной целью исследования, обладающей высоким клиническим потенциалом. Регуляция метаболизма митохондрий в будущем позволила бы сократить смертность среди пациентов в условиях эпидемии или пандемии. Учитывая, что митохондрии могут являться одним из ключевых участников, определяющих течение и исход заболевания при COVID-19 и, вероятно, ряда других заболеваний, появляется необходимость изучения функциональной и структурной целостности митохондрий при различных патологиях.

Цель: исследовать структурные и функциональные изменения в митохондриях пациентов с тяжелым течением COVID-19 и умерших от этой инфекции.

Методика

В исследовании использовались мононуклеарные клетки периферической крови пациентов с COVID-19 в период «цитокинового шторма» и ткани миокарда, полученные при аутопсии умерших от осложнений новой коронавирусной инфекции. Исследование одобрено локальным этическим комитетом при Военно-медицинской академии (протокол заседания № 232 от 18 февраля 2020 г.).

Митохондриальное дыхание оценивали с применением анализатора клеточного метаболизма Seahorse XFe96 Analyzer (Agilent Technologies, США) на мононуклеарных клетках периферической крови двух пациентов мужского пола в возрасте 32 и 34 лет, в период клинически зарегистрированного «цитокинового шторма» при подтвержденном COVID-19. Пациенты не имели подтвержденных сопутствующих заболеваний и получали терапию тоцилизумабом в дозе 8 мг/кг 1 раз в сутки, при этом на фоне терапии температура тела находилась в диапазоне 39°C. В качестве контроля служила кровь двух доноров-мужчин, 40 и 46 лет без клинически значимых сопутствующих заболеваний. Клетки выделяли на фиколл-паке с отмывкой в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). Соотношение живых и погибших клеток измеряли в счетчике (Biorad, США).

Оценку митохондриального дыхания проводили по четырем параметрам, включающим основное (или базальное) дыхание, продукцию АТФ, максимальную дыхательную емкость и немитохондриальную запасную дыха-

тельную способность. Для этого 50 000 моноклеарных клеток добавляли в каждую лунку микропланшета для клеточных культур Seahorse XF96 (Agilent Technologies, США) в среду для культивирования клеток pH 7,4 (среда RPMI 1640, содержащая 25 мМ глюкозы, 2 мМ L-глутамин и 1 мМ пирувата натрия) при pH 7,4. Дегазацию микропланшета проводили путем инкубирования в термостате при 37 °C без CO₂ в течение 1 часа. Для исследования митохондриального стресса применяли четыре препарата, используемых при изучении функций у митохондрий: 1 мМ олигомицин, 1,5 мМ карбонилцианид-4-(трифторметокси)фенилгидразон (FCCP), 100 мкМ ротенон и 1 мМ антимицин А (Sigma, США). Cell Mito Stress Test проводили по протоколу производителя. Среду для культивирования в планшетах готовили перед применением и заменяли на среду для анализа XF: DMEM medium (Agilent Technologies, США), включающую 100 мМ раствора пирувата натрия, 200 мМ глутамин (GlutaMAX, Invitrogen, США), 0,1 % раствор D-сахарозы, при этом pH среды доводили до 7,4. Для дегазации микропланшет инкубировали в термостате при 37 °C без CO₂ в течение 1 часа. Начальная скорость потребления кислорода (СПК) для каждой лунки была определена как 100 %.

Гистологическое исследование. Ткани миокарда получали от пациентов, умерших при COVID-19 от остановки сердца. Биологический материал фиксировали в 10 % формалине с добавлением фосфатного буфера (pH = 7,2), обрабатывали стандартно и окрашивали гематоксилином и эозином. Микропрепараты исследовали в световом микроскопе Axio Imager A2 (Zeiss, Германия).

Электронно-микроскопическое исследование. Для морфологического исследования использовали ткани миокарда от двух пациентов, полученные при аутопсийном исследовании и залитые в парафиновые блоки.

Сканирующая электронная микроскопия. На микротоме Microm HM 325 (Thermo Scientific, США) получали срезы толщиной 2 – 3 мкм, монтировали на стекла, сушили, депарафинировали в трех порциях ксилола, отмывали ФСБ (pH 7,2 – 7,4) с сахарозой 3 раза по 30 минут, затем проводили дофиксацию 1% OsO₄, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, ацетоне, сушили на воздухе и напыляли слой сплава Au/Pd толщиной 2,4 нм. Поверхность полученных срезов исследовали в детекторе вторичных электронов SE2 на полевом эмиссионном растровом микроскопе Merlin (Zeiss, Германия).

Трансмиссионная электронная микроскопия. Из каждого парафинового блока вырезали фрагмент размером 0,5х0,5 см, измельчали до 0,1х0,1 см, помещали в ксилон на 3-е суток с ежедневной сменой порции кси-

лола на свежую. Затем отмывали в спиртах нисходящей концентрации, трижды промывали раствором ФСБ с сахарозой, проводили фиксацию 1% OsO₄, обезвоживали в спиртах и ацетоне восходящей концентрации, заливали в смолу Аралдит. Из полученных блоков на ультратоме PowerTome (RMS Boeckeler, США) получали ультратонкие срезы толщиной 80 нм, которые затем контрастировали в растворе цитрата свинца и 1% растворе уранил ацетата. Препараты исследовали в детекторе STEM на полевом эмиссионном растровом микроскопе Merlin (Zeiss, Германия).

Статистический анализ данных. Данные представлены в виде медианных значений (Me) и 95% доверительного интервала и обработаны в пакете статистических программ анализа – QI Macros для Excel. В качестве статистических величин использовали средние значения интервалов «Базальное дыхание», «Запасная дыхательная емкость», «Максимальное дыхание», и амплитудный показатель «Немитохондриальное дыхание», а также вторичный показатель «Запасная дыхательная емкость», вычисленный как: «Запасная дыхательная емкость» = ММаксимальное дыхание – МБазальное дыхание, где ММаксимальное дыхание – средняя от интервала значений, полученного после введения FCCP (карбонилцианид-4-(трифлуорометокси)фенилгидразона – блокатор образования АТФ); МБазальное дыхание – средняя от интервала значений, полученного до введения олигомицина. Различия групп при исследовании вычисленных значений вторичных показателей определяли с помощью однофакторного критерия Вилкоксона.

Результаты

Определение митохондриального дыхания у больных с COVID-19 во время «цитокинового шторма». Метаболическая активность митохондрий в моноклеарных клетках периферической крови пациентов с COVID-19, полученной во время «цитокинового шторма», показана на **рис. 1**.

У пациента с тяжелым течением заболевания, подключенного к аппарату искусственной вентиляции легких (ИВЛ) (**рис. 1, 1**), при добавлении в культуральную среду разбавителя, нарушающего процесс фосфорилирования АДФ, олигомицина, СПК была сокращена до минимальных значений. А у пациента с тяжелым течением, но не нуждающегося в подключении к аппарату ИВЛ (**рис. 1, 2**), СПК сократилась, но при этом статистически соответствовала показателям контроля. При добавлении в среду FCCP, нарушающего синтез АТФ посредством блокады АТФ-синтазы и показывающего максимальную емкость электронно-дыхательной цепи, в кривой 1 – СПК

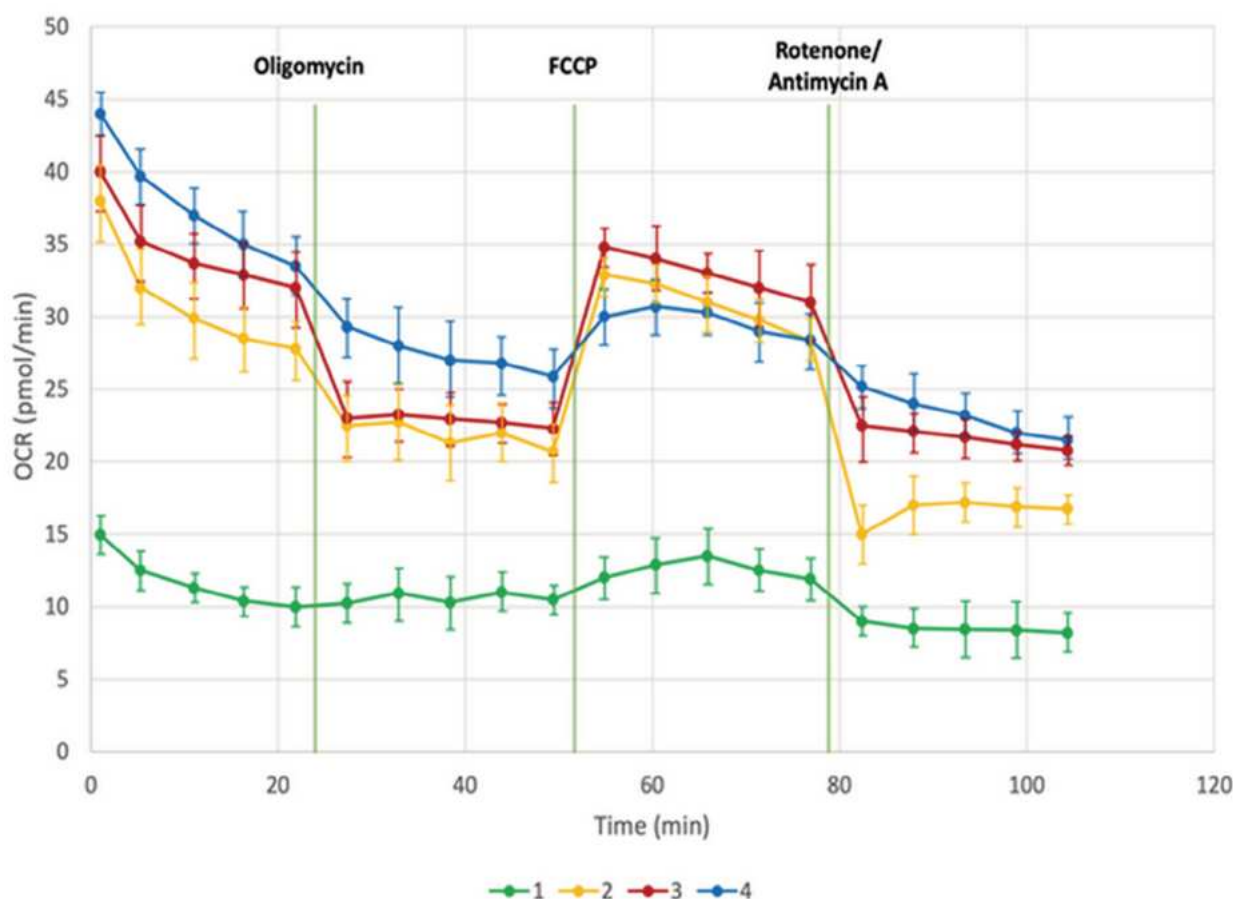


Рис. 1. Метаболическая активность митохондрий в мононуклеарных клетках периферической крови больных COVID-19: 1 – пациент с тяжелым течением заболевания, 32 года, подключенный к аппарату искусственной вентиляции легких; 2 – пациент с тяжелым течением заболевания, 34 года; 3 – контроль, 40 лет, без сопутствующих заболеваний; 4 – контроль, 46 лет, без сопутствующих заболеваний. По оси абсцисс – время инкубации клеток, по оси ординат – скорость потребления кислорода (OCR / СПК).

Fig. 1. Metabolic activity of mitochondria in peripheral blood mononuclear cells of COVID-19 patients: 1 – patient with severe disease, 32 years old, connected to a ventilator; 2 – patient with severe disease, 34 years old; 3 – control, 40 years old, without comorbidities; 4 – control, 46 years old, without comorbidities. Abscissus axis – cell incubation time, ordinate axis – oxygen consumption rate (OCR).

оставалась низкой, увеличение было незначительным, в кривой 2 – СПК возросла, хотя снова была чуть ниже контрольных показателей. При добавлении ротенона и антимицина А, демонстрирующих показатели СПК немитохондриального дыхания, у пациента 1 СПК практически не изменялась, у пациента 2 – оставалась немногим ниже контрольных значений. Таким образом, при анализе кривой 1 обнаружено, что при добавлении в культуральную среду FCCP, приводящего к максимально интенсивной работе митохондрий, практически не изменялся синтез АТФ, а СПК оставалась низкой. Это демонстрирует почти полное отсутствие резервной дыхательной емкости при тяжелом течении заболевания у пациента, нуждающегося в подключении к аппарату ИВЛ.

Поражение легких пациента 2 было менее выраженным. Кривая 2 отличалась от кривой 1 наличием резервной дыхательной емкости, при этом характер кривой соответствовал контрольным кривым 3 и 4. Выздоровление шло быстрее, течение заболевания не требовало подключения к аппарату ИВЛ.

Кривые контроля (рис. 1, 3 и 4) соответствовали стандартному профилю стрессовой реакции при остром воздействии разобщителей клеточного дыхания. Кривая 2, построенная на основании данных о клетках пациента с тяжелым течением заболевания, но не нуждающегося в подключении к аппарату ИВЛ, почти полностью дублировала контрольные. У пациента с тяжелым течением и нуждающегося в аппарате ИВЛ потребление кисло-

рода клетками практически не изменялось при внесении различных разобщителей. Таким образом, при исследовании метаболической активности митохондрий обнаружено отсутствие резервного дыхания в мононуклеарах при тяжелом течении заболевания COVID-19 у некоторых из пациентов.

Патоморфологические изменения в тканях миокарда. В изученных микропрепаратах миокарда обнаружено поражение сосудов микроциркуляторного русла с наличием полнокровия, стаза, формированием микротромбов, повреждением и пролиферацией эндотелиальной выстилки (рис. 2, б/б). Воспалительная инфильтрация была представлена немногочисленными сегментоядерными лейкоцитами в диффузных мелких очагах коагуляционного некроза кардиомиоцитов в миокарде (рис. 2). Присутствовала волнообразная деформация и диссоциация кардиомиоцитов с признаками пересокращения. Данные морфологические признаки следует трактовать, как изменения, сформировавшиеся в премортальный период и характеризующие сердечный механизм смерти (рис. 2). Проявлением некротических изменений в миокарде можно считать диффузную коагуляцию цитоплазмы кардиомиоцитов, их неоднородное свечение в поляризационном свете за счет разрушения на ранних этапах некроза мышечного волокна z-дисков (рис. 2, в/с). Зерна липофусцина, которые наблюдаются при ишемии, также определялись среди волокон кардиомиоцитов (рис. 2, г/д).

Патоморфологические изменения миокарда на ультрамикроскопическом уровне исследования. Электронно-микроскопическому анализу были подвергнуты только лица, умершие от остановки сердца. В целом, морфологическая картина как при световом, так и при электронном уровнях исследования напоминала морфологическую картину, описанную при внезапной смерти, как генетически детерминированные заболевания, представленные аритмогенной кардиомиопатией (дисплазия правого желудочка), а также заболеваниями, которые объединены в группу каналопатий, или наследственных нарушений функционирования ионных каналов цитолеммы кардиомиоцитов, к которым относятся синдром удлиненного QT-интервала, синдром укороченного QT-интервала, синдром Бругада, а также катехоламинэргическая полиморфная желудочковая тахикардия [5].

Сканирующая электронная микроскопия продемонстрировала наличие отчетливой поперечной исчерченности кардиомиоцитов. Миофибриллы саркомеров с поперечно расположенными трубочками эндоплазматического ретикулума имели незначительные повреждения. Очагово наблюдалось слипание миофибрилл между собой и на-

рушение упорядоченного строения саркомеров, появление контрактур в областях слипания фибрилл (рис. 3).

Однако на снимках, полученных при помощи трансмиссионной электронной микроскопии, было обнаружено нарушение упорядоченной структуры отдельных миофибрилл кардиомиоцитов. Регулярность расположения зон в саркомере была утеряна, М-линия крепления миофибриллов присутствовала неотчетливо, Z-линия, как место крепления актиновых филаментов, оказалась сохранна. Миофибриллы прилегали друг к другу неплотно, между ними присутствовали значительные промежутки, часть миофибриллов в каждом отдельном саркомере отсутствовала (рис. 3, б/б). В толще миофибрилл обнаруживались пустоты сферической формы, диаметром от 200 нм до 1 мкм (рис. 3, б/б).

Структурные изменения в митохондриях кардиомиоцитов показаны на рисунке 3 (в/с, г/д). Среди них наблюдается разрушение крист внутренней мембраны митохондрий, накопление электронно-плотных включений в митохондриальном матриксе, преимущественная сохранность наружных мембран этих органоидов. Пустоты, определяющиеся среди рыхлой волокнистой соединительной ткани между миофибриллами, предположительно являются местом локализации митохондрий, разрушенных полностью (рис. 3, б/б).

Обсуждение

У пациентов с тяжелым течением SARS-CoV-2 с летальным исходом от осложнений данной инфекции были обнаружены функциональные и структурные нарушения в митохондриях и тканях миокарда.

Среди угнетения функций митохондрий было выявлено отсутствие базового дыхания и реакции на внесение разобщителей клеточного дыхания у одного из пациентов, с наиболее тяжелым состоянием. Это может указывать на существенные различия в структуре клеточного дыхания, возможно, обусловленных особенностями экспрессии генов митохондриальной и ядерной ДНК, отвечающих за энергетический обмен в клетке. В литературе присутствуют описания многочисленных мутаций в мтДНК, приводящих к несбалансированному окислительному фосфорилированию, аномальному синтезу митохондриальных белков или иных, приводящих к различным патологическим состояниям человека [6]. В мтДНК экспрессируются четыре из пяти существующих ферментных комплексов, участвующих в окислительном фосфорилировании и синтезе молекул АТФ в клетке. Молекула мтДНК содержит 37 генов, которые отвечают за синтез 2 рРНК, 22 тРНК и 13 полипептидов [6, 7]. Каким образом функция этих генов связана с выживае-

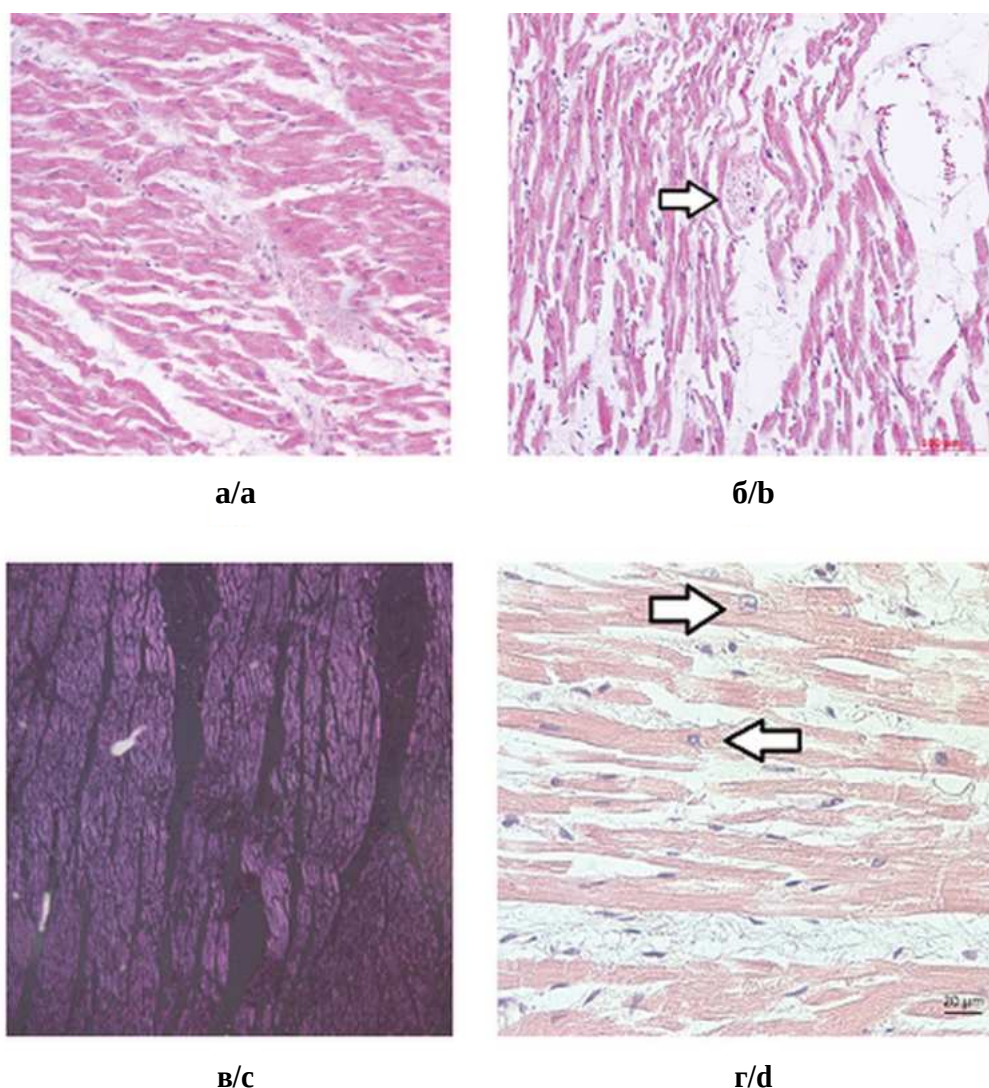


Рис. 2. Кариолизис, гомогенизация цитоплазмы, контрактурные изменения и волнообразная деформация кардиомиоцитов в миокарде, полученном при: аутопсийном исследовании (а, б, в); тромбоз венулы (стрелка) и диффузная инфильтрация миокарда нейтрофильными лейкоцитами (б); свечение некротизированных кардиомиоцитов в поляризованном свете (в); зерна липофусцина по периферии ядер кардиомиоцитов (стрелка) (г). Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 200$ (а, в), $\times 100$ (б), $\times 400$ (г).

Fig. 2. Karyolysis, cytoplasm homogenization, contracture changes and wave-like deformation of cardiomyocytes in the myocardium obtained during autopsy (a, b, c); venule thrombosis (arrow) and diffuse myocardial infiltration with neutrophilic leukocytes (b); luminescence of necrotic cardiomyocytes in polarized light (c); lipofuscin grains along the periphery of cardiomyocyte nuclei (arrow) (d). Hematoxylin and eosin staining, $\times 200$ (a, c), $\times 100$ (b), $\times 400$ (d).

мостью клеток, пока не ясно. Поэтому при равных условиях, включающих возраст, лечение, наличие «цитокинетического шторма» – тяжесть и исход заболевания, по-видимому, имеют существенные индивидуальные различия у пациентов.

Кардиомиопатия и сердечный механизм смерти у пациентов, обнаруженные при гистологическом исследо-

вании, согласуются с данными литературы. Дефицит производства энергии митохондриями особенно заметен в органах и тканях, обладающих естественным высоким потреблением энергии. В группу таких тканей можно отнести мышечные и нейрональные. Здесь мутации мтДНК приводят к развитию миопатий, атрофии и прогрессирующих процессов дегенерации [6]. Как продемонстри-

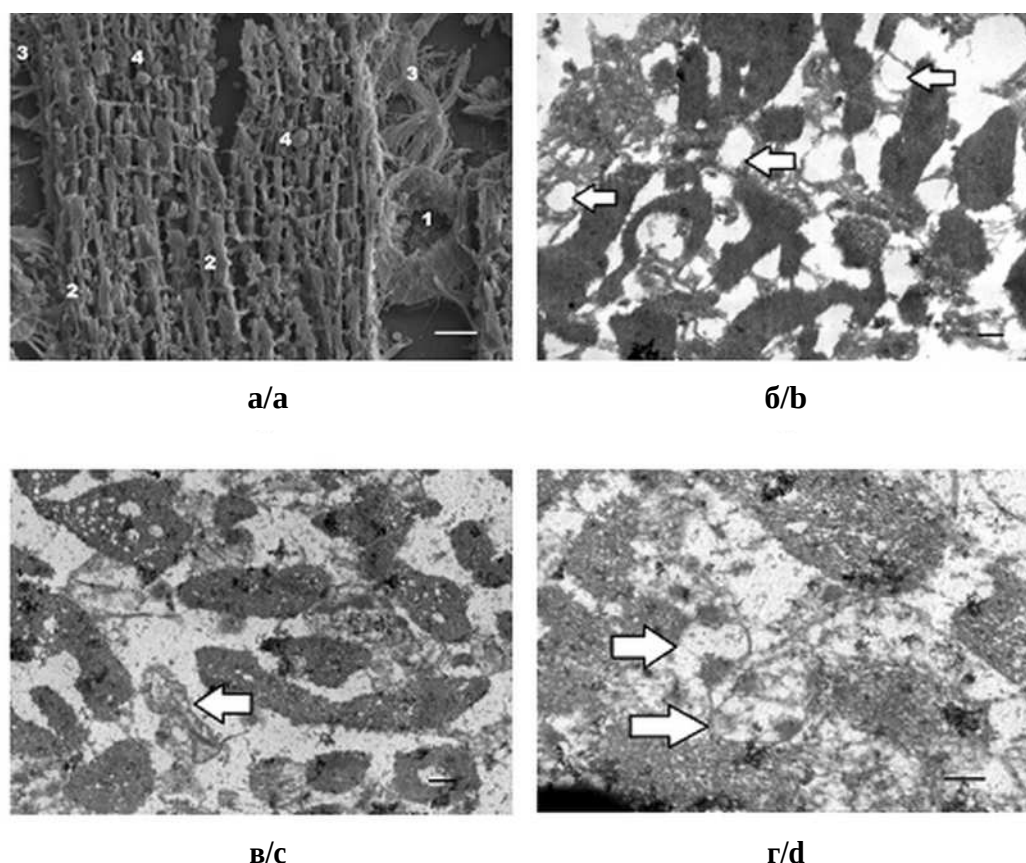


Рис. 3. Ткани миокарда, полученные при аутопсии: а – продольный срез миофибрилл кардиомиоцитов; б – продольный срез миофибрилл кардиомиоцитов, сферические пустоты указаны стрелками; в, г – поперечные срезы миофибрилл кардиомиоцитов. 1 – просвет кровеносного капилляра; 2 – миофибриллы; 3 – волокна рыхлой волокнистой соединительной ткани; 4 – зерна липофусцина; стрелками показаны митохондрии. Сканирующая электронная микроскопия (а), трансмиссионная электронная микроскопия (б, в, г). Масштабный отрезок 2 мкм (а), 200 нм (б, в, г).

Fig. 3. Myocardial tissues obtained at autopsy: а – longitudinal section of cardiomyocyte myofibrils; б – longitudinal section of cardiomyocyte myofibrils, spherical vacuoles are indicated by arrows; в, г – cross sections of cardiomyocyte myofibrils. 1 – lumen of blood capillary; 2 – myofibrils; 3 – fibers of loose fibrous connective tissue; 4 – lipofuscin grains; mitochondria are indicated by arrows. Scanning electron microscopy (а), transmission electron microscopy (б, в, г). Scale bar 2 μ m (а), 200 nm (б, в, г).

ровано в нашем исследовании, нарушения в сердечной мышце, наиболее вероятно, вызваны недостаточностью кровоснабжения миокарда и ишемией, о чем свидетельствует наличие микротромбов, зерен липофусцина и некроза среди кардиомиоцитов. Миокард, как ткань с высоким потреблением энергии, повреждался с высокой скоростью. В целом, анализ микрокартины миокарда на световом и электронном уровнях исследования продемонстрировал сходство с описанными данными о морфологических признаках внезапной сердечной смерти [8]. Исследовательская группа Мо с соавторами продемонстрировали в своем исследовании существование механизма, связанного с нарушением функционирования

сердца, обусловленного Т-лимфоцитопенией, вызванной SARS-CoV-2, и функциональными нарушениями во время острой фазы инфекции. Так, острая инфекция SARS-CoV-2 приводила к быстрой митохондриальной дисфункции в CD4 и CD8 Т-клетках. SARS-CoV-2 быстро нарушал деятельность митохондрий Т-клеток хозяина, способствуя Т-лимфоцитопении. Авторы сделали вывод о том, что быстрый рост вирусной нагрузки в течение первой недели появления симптомов может иметь прямое воздействие на митохондрии [9].

Среди образцов тканей миокарда нарушение в митохондриях было обнаружено во всех случаях. Структурное нарушение митохондрий указывает на неизбежное

угнетение функции, как и наоборот, угнетение функции – на приобретение структурных нарушений, поэтому наличие нарушений в функциональной активности митохондрий в мононуклеарных клетках периферической крови косвенно указывает на наличие структурных нарушений в них. Одним из возможных путей участия митохондрий в повреждении клеток, выраженном в некрозе кардиомиоцитов, является избыточная продукция активных форм азота (АФА), которые не могут быть эффективно нейтрализованы существующими антиоксидантными системами. В митохондриях АФА способствуют повреждению мтДНК и митохондриальных белков, вызывая разобщение ферментативных цепей [6]. Структурные нарушения митохондрий указывают на наличие продуктов их распада в цитоплазме или в кровотоке. Кардиолипид или мтДНК, высвободившиеся из разрушенных клеток, взаимодействовали с TLR9, TLR4, RLR, приводя к активации инфламмосомы и развитию воспалительных реакций врожденного иммунитета, стимулируя развитие осложнений и «цитокинового шторма», что и наблюдалось у лиц, включенных в данное исследование. Это подтверждается наблюдением пациентов с COVID-19 в крупном исследовании в Китае, у которых была обнаружена деполяризация митохондрий моноцитов и их аномальная ультраструктура, вызывающая увеличенную продукцию воспалительных цитокинов и хемокинов [9].

Необходимо заметить, что митохондрии разрушаются первыми при прекращении процесса доставки кислорода, поэтому время с момента наступления смерти до фиксации тканей при аутопсии является ограничивающим фактором в интерпретации полученных данных. Однако из-

менения митохондриального дыхания мононуклеарных клеток периферической крови, которые были получены прижизненно, позволяют предположить, что и структурные изменения в митохондриях кардиомиоцитов также были приобретены при жизни пациента.

Заключение

Митохондриальная дисфункция, обнаруживаемая структурно и функционально в данном исследовании у пациентов с тяжелым течением заболевания или умерших от COVID-19, обуславливает нарушения в процессах, происходящих в дыхательной цепи, и демонстрирует взаимосвязь со способностью организма противостоять инфекции.

Полученные данные демонстрируют, что помимо генов ядерной ДНК, являющихся определяющими для проникновения вируса SARS-CoV-2 внутрь организма – ACE2 и ряда других, структура и эпигенетические изменения мтДНК могут быть важнейшими в клеточных резервах макроорганизма при тяжелом или осложненном течении заболевания. Наличие различий между пациентами при прочих сходных условиях указывает на то, что способность организма противостоять инвазии патогена определяется генетически – вероятными мутациями генов мтДНК и ядерной ДНК, ассоциированных с энергетическим обменом в клетке, или эпигенетическими особенностями.

С появлением новых данных по течению заболевания возникает необходимость переосмысления и обобщения всех имеющихся данных по патогенезу, генетическим предикторам, лечению и течению заболевания COVID-19 как у населения отдельных стран, так и в мире в целом.

Литература (п.п. 2–7; 9 см. References)

1. Йокота Ш., Куройва Е., Нишиока К. Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и «цитокиновый шторм». Перспективы эффективного лечения с точки зрения патофизиологии воспалительного процесса. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020; 9(4): 13–25. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-4-13-25>
8. Колубаева С.Н., Качнов В.А., Тыренко В.В. и др. Морфологические особенности миокарда при внезапной сердечной смерти. *Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2020; 15(3-2): 31–5. <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.40.75.006>

References

1. Yokota S., Kuroiwa E., Nishioka K. Novel coronavirus disease (COVID-19) and cytokine storms. For more effective treatments from the viewpoints of an inflammatory pathophysiology perspective. *Infektionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie. (Infectious Diseases: News, Opinions, Training)*. 2020; 9(4): 13–25. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-4-13-25> (In Russian)
2. Langton D.J., Bourke S.C., Lie B.A. et al. The influence of HLA genotype on the severity of COVID-19 infection. *HLA*. 2021; 98(1): 14–22. <https://doi.org/10.1111/tan.14284>
3. Ganna A., Vадgama N., Chaudhary K. et al. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2021; 600(7889): 472–7.
4. Tian C., Liu Y., Li Z. et al. Mitochondria Related Cell Death Modalities and Disease. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022; 10: 832356. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.832356>
5. Van der Windt G.J.W., Chang C.-H., Pearce E.L. Measuring Bioenergetics in T Cells Using a Seahorse Extracellular Flux Analyzer. *Current Protocols in Immunology*. 2016; 113: 3.16B.1–3.16B.14. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im0316bs113>

6. Zhunina O.A., Yabbarov N.G., Grechko A.V. et al. The Role of Mitochondrial Dysfunction in Vascular Disease, Tumorigenesis, and Diabetes. *Front. Mol. Biosci.* 2021; 8: 671908. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.671908>
7. Garcia I., Jones E., Ramos M. et al. The little big genome, the organization of mito-chondrial DNA. *Front. Biosci.* 2017; 22(4): 710–21. <https://doi.org/10.2741/4511>
8. Kolyubaeva S.N., Kadinov V.A., Tyrenko V.V. et al. A study of the morphological features of the heart muscle in sudden cardiac death. *Bulletin of Pirogov national medicals & surgical center.* 2020; 15(3–2): 31–5. <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.40.75.006> (In Russian)
9. Mo Y., To K.K.-W., Zhou R. et al. Mitochondrial Dysfunction Associates With Acute T Lymphocytopenia and Impaired Functionality in COVID-19 Patients. *Front. Immunol.* 2022; 12: 799896. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.799896>

Сведения об авторах:

Колюбаева Светлана Николаевна, доктор биол. наук, проф. каф. биологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова
Коняев Владислав Вячеславович, ординатор каф. пропедевтики внутренних болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Соколова Маргарита Олеговна, препод. каф. биологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Пламиский Дмитрий Юрьевич, препод. каф. патологической анатомии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Елисеева Марина Ивановна, мл. науч. сотр. научно-исследовательского отдела медико-биологических исследований научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-831-005

Гиниатуллин Р.У., Осиков М.В., Кузьмин А.Н.

Патоморфология и патоморфоз ишемического инфаркта коры головного мозга у крыс после применения эритропоэтина и лазерного излучения

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,
454091, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64

Актуальность. Инфаркт мозга ишемического генеза является наиболее частой формой (80% всех случаев) инсульта, характеризующейся высокой летальностью, обусловленной критическим уменьшением кровоснабжения мозга – до 20 мл/100 г/мин. Это приводит к нарушению функционирования нейронов при сохранении их жизнеспособности в зоне пенумбры (ишемической полутени), где апоптоз клеток происходит примерно через 80 минут. Таким образом, ишемический инсульт приводит к формированию центральной, необратимо поврежденной области инфаркта и потенциально обратимой периферической зоны ишемической полутени, являющейся мишенью для терапии. **Целью** настоящего исследования было изучение сочетанного действия эритропоэтина и низкоинтенсивного лазерного излучения на неврологический статус и морфологические характеристики очага поражения при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга.

Методика. Использовались гистологические и иммуногистохимические методы, а также статистический анализ. Морфометрические исследования включали подсчет количества поврежденных и неповрежденных нейронов, мелких кровеносных сосудов, эндотелиальных клеток с экспрессией FEGF, площади инфаркта, а также оценку неврологического статуса.

Результаты. Комбинированное применение эритропоэтина и лазерного излучения при экспериментальной ишемии коры головного мозга приводит к восстановлению неврологического статуса, более раннему по сравнению с монотерапией эритропоэтином или лазерным излучением восстановлению морфологии очага повреждения, увеличению экспрессии VEGF в эндотелиоцитах кровеносных сосудов.

Закключение. При использовании комбинированной терапии, включающей эритропоэтин в общей дозе 15000 МЕ/кг и инфракрасное лазерное излучение с длиной волны 970 нм и мощностью 1 Вт, в очаге инсульта при экспериментальной ИКГМ наблюдался положительный патоморфоз. На 7, 14 и 30 сутки отмечалось значительное уменьшение количества нейронов с признаками хроматолиза и клеток-теней, а также сокращение площади инфаркта, а также существенное увеличение интактных нейронов, эндотелиоцитов с экспрессией антител к VEGF и мелких кровеносных сосудов; полное восстановление интегрального показателя неврологического статуса с 14 суток по сравнению с аналогичными показателями у животных 2-й группы с применением эритропоэтина и 3-й группы опытов с использованием низкоинтенсивного лазерного излучения.

Ключевые слова: ишемия головного мозга; эритропоэтин; лазерное излучение; морфология; неврологический статус

Для цитирования: Гиниатуллин Р.У., Осиков М.В., Кузьмин А.Н. Патоморфология и патоморфоз ишемического инфаркта коры головного мозга у крыс после применения эритропоэтина и лазерного излучения. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 34–43.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.34-43

Участие авторов: концепция исследования, сбор материала, анализ и интерпретация данных, подготовка текста – Гиниатуллин Р.У., Осиков М.В., Кузьмин А.Н.

Для корреспонденции: Гиниатуллин Равиль Усманович, e-mail: gru54@mail.ru

Финансирование. Данное исследование не имело внешнего финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 13.07.2025

Принята к печати 08.10.2025

Опубликована 27.03.2026

Giniatullin R.U., Osikov M.V., Kuzmin A.N.

Pathomorphology and pathomorphosis of ischemic infarction of the cerebral cortex in rats after the use of erythropoietin and laser radiation

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South Ural State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 64 Vorovskogo St., Chelyabinsk, 454091, Russian Federation

Relevance. Ischemic stroke is the most common (80% of cases) type of cerebral infarction with a high mortality rate, resulting from a critical decrease in cerebral blood flow – up to 20 ml / 100 g / min. This leads to dysfunction of neurons with preserved viability – the penumbra area (half-shadow), where cell death by apoptosis occurs in about 80 minutes. Thus, as a result of ischemic stroke, a central, irreversibly damaged infarction core and a potentially reversible, peripheral zone of ischemic half-shadow are formed, which is a target for therapy. In this regard, the search for new methods of pathogenetic therapy of ischemic stroke is an urgent task. **Objective.** This work was to study the combined effect of EPO and NLI on the neurological status, morphology of the lesion in experimental ischemic infarction of the cerebral cortex (EICI).

Methods. Histological, immunohistochemical methods and statistical analysis were used. Morphometric studies included counting the number of damaged and intact neurons, small blood vessels, endothelial cells with FEGF expression, infarction area, and examined the neurological status.

Results. A positive effect of erythropoietin in combination with low-intensity infrared laser radiation on the morphology of the experimental cerebral ischemia focus and neurological status in rats was established. On days 7–14–30, therapeutic pathomorphosis is recorded in the ischemic infarction focus: the number of intact neurons and capillaries increases, VEGF expression increases, the number of damaged neurons and infarction area decreases, and on day 14, the integral indicator of neurological status is completely restored.

Conclusion. When using combination therapy including erythropoietin at a total dose of 15,000 IU/kg and infrared laser radiation with a wavelength of 970 nm and a power of 1 W, positive pathomorphism was observed in the stroke focus during experimental IKGM. On days 7, 14 and 30, a significant decrease in the number of neurons with signs of chromatolysis and shadow cells was noted, as well as a decrease in the infarction area, as well as a significant increase in intact neurons, endothelial cells with the expression of antibodies to VEGF and small blood vessels; complete restoration of the integral indicator of the neurological status from day 14 compared with similar indicators in animals of the 2nd group using EPO and the 3rd group of experiments using NLI.

Keywords: cerebral ischemia; erythropoietin; laser radiation; morphology; neurological status

For citation: Giniatullin R.U., Osikov M.V., Kuzmin A.N. Pathomorphology and pathomorphosis of ischemic infarction of the cerebral cortex in rats after the use of erythropoietin and laser radiation. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2026; 70(1): 34–43. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.34-43

Authors' participation: study design, material collection, data analysis and interpretation, text writing – Giniatullin R.U., Osikov M.V., Kuzmin A.N.

For correspondence: *Giniatullin Ravil Usmanovich*, e-mail: gru54@mail.ru

Informacion about the authors:

Giniatullin R.U., <https://orcid.org/0009-0004-1017-8328>

Osikov M.V., <https://orcid.org/0000-0002-4395-3798>

Kuzmin A.N., <https://orcid.org/0000-0003-4251-9153>

Funding. The study was conducted without external funding.

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

Received 13.07.2025

Accepted 08.10.2025

Published 27.03.2026

Введение

В настоящее время особое внимание привлекают нейротропные эффекты эритропоэтина [1, 2]. Открытие рецепторов для эритропоэтина (ЭПО) на нейронах и эндотелиоцитах позволило рассматривать его в качестве эндо-

генного нейротропного агента при ишемическом инсульте (ИИ) [3, 4]. Наряду с этим, установлено, что в зонах, подвергшихся воздействию низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ), увеличивается экспрессия роста эндотелия (VEGF), что приводит к увеличению количества ка-

пилляров и восстановлению тканей, в частности при ИИ [5, 6]. В связи с этим поиск новых подходов к патогенетической терапии ИИ является актуальной задачей экспериментальной и клинической неврологии.

Методика

Исследование было проведено в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС от 22 сентября 2010 года, касающейся защиты животных, используемых в научных целях. Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол №23 от 22.09.2010 г.).

В эксперименте были использованы белые нелинейные крысы обоих полов ($n = 120$) весом 220–250 г, которые были разделены на пять групп: 1-я ($n = 30$), которым под анестезией («Золетил», тилетамина гидрохлорид, золазепам гидрохлорид, Франция) создавалась модель ИКГМ путем трепанации черепа, вскрытия твердой мозговой оболочки и диатермокоагуляции пиальных сосудов коры головного мозга в сенсомоторной зоне; 2-я ($n = 30$) – животные с ИКГМ, которым через 3, 24, 48 часов после индукции ИКГМ внутрибрюшинно вводили ЭПО в составе препарата «Эпокрин» (МНН: эпозетин альфа, ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА, Россия) в разовой дозе 5 000 МЕ/кг; 3-я ($n = 30$) – животные, которым через 2 часа после индукции ИКГМ однократно воздействовали на область ишемического очага лазерным излучением с длиной волны 970 нм аппаратом «ИРЭ-Полус» (ООО НТО «ИРЭ-Полус», Россия); 4-я ($n = 30$) – животные с ИКГМ, которым через 2 часа после индукции ИКГМ проводили дистанционное нажное облучение лазером, как в группе 4, а через 3, 24 и 48 часов вводили ЭПО, как в группе 3. Исследования проводили на 3, 7, 14, 30 сутки после индукции ИКГМ.

Головной мозг фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, изготавливали парафиновые блоки, с которых делали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином, по методам Бильшовского, Шпильмейера, Ниссля. Морфологическое исследование очага инфаркта проводилось на 7, 14 и 30 сутки после индукции ИИ и эвтаназии животных.

Оценка экспрессии VEGF в эндотелиоцитах кровеносных сосудов выполнялась с использованием иммуногистохимической реакции на иммуногистостейнере Bench Mark XT (Ventana, USA). Для визуализации использовалась универсальная система ultraVIEW Universal DAB (Ventana, USA) со вторичными антителами и хромогеном DAB, срезы докрашивали Hematoxylin 2 (Ventana, USA). Применялся набор первичных антител VEGF:

клон SP 28, тип Rabbit /Antirat (Spring Bio, USA). На микроскопе Leica DMRXA (Германия) с использованием компьютерной программы анализа изображений Image ScopeM (Россия) подсчитывали количество интактных и поврежденных нейронов, мелких кровеносных сосудов, эндотелиоцитов с экспрессией VEGF на площади среза 1 мм², а также площадь инфаркта (в мкм²) при увеличении $\times 400$. При этом же увеличении проводилась фотосъемка микропрепаратов с помощью фотокамеры Leica Camera AG (Германия).

Неврологический статус крыс оценивали по шкале J.H. Garcia [7] по следующим параметрам: 1) спонтанная активность в клетке за 5 мин; 2) симметричность вытягивания передних конечностей; 3) симметричность движений; 4) способность за браться по стенке проволочной клетки; 5) реакция на прикосновение к каждой стороне туловища; 6) ответ на прикосновение к вибриссам. Максимальный неврологический дефицит составлял 3 балла, а его полное отсутствие – 18 баллов.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием прикладных программ IBM SPSS Statistics 19. Результаты были представлены в виде медианы (*Me*) и квартилей [*Q1-Q3*]. Значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Крускала-Уоллиса и критерия Манна – Уитни (при $p < 0,05$).

Результаты

Результаты морфометрического исследования очага ишемии коры головного мозга показали (табл. 1), что количество интактных нейронов, мелких кровеносных сосудов и число сосудов с экспрессией FEGF было достоверно больше по сравнению с аналогичными показателями во второй группе опытов. В то же время количество нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь инфаркта значительно уменьшались по отношению к соответствующим показателям второй группы эксперимента.

В динамике наблюдения с 7 по 30 сутки у животных первой группы с ишемическим инфарктом головного мозга (рис. 1) было выявлено прогрессивное снижение количества интактных нейронов, статистически значимое на 30 сутки, а также увеличение количества нейронов с хроматолизом и клеток-теней на 14 и 30 сутки по сравнению с показателями животных третьей группы (табл. 2; рис. 1, 2, 3).

При использовании ЭПО в сочетании с НЛИ у животных 4-й группы с ИКГМ, начиная с 7 суток, наблюдалось снижение числа нейронов с хроматолизом и клеток-теней в среднем в 19,3 и 39,2 раза соответственно по сравнению с животными второй группы. В то же время количество интактных нейронов возрастало на 7-е сут-

Таблица 1 / Table 1

Влияние эритропоэтина и низкоинтенсивной лазерной терапии на морфометрические параметры в зоне инсульта при ИКГМ (количество клеток/условная единица площади, Ме [Q1–Q3])

Effect of erythropoietin and low-intensity laser therapy on morphometric parameters in the stroke zone in ICG (cell count/unit area, Me [Q1–Q3])

Показатели/ Indicators	Группы наблюдения / Observation groups					
	Группа 2. ИКГМ+ЭПО/ Group 2. ICGM+EPO			Группа 3. ИКГМ+НЛИ/ Group 3. ICGM+NLI		
	7 сутки/ 7 day (n = 10)	14 сутки/ 14 day (n = 10)	30 сутки/ 30 day (n = 10)	7 сутки/ 7 day (n = 10)	14 сутки/ 14 day (n = 10)	30 сутки/ 30 day (n = 10)
Интактные нейроны, мм ² / Intact neurons, mm ²	63,4 (59,30–67,96) *	79,94 (67,64–81,65) *	81,26 (74,71–83,25) *	75,9 (71,35–76,51) *****	83,15 (80,34–86,51) *****	87,25 (84,34–88,67) *****
Нейроны с хроматолизом, мм ² / Neurons with chromatolysis, mm ²	15,45 (13,56–17,76) *	12,67 (10,98–14,45) *	9,89 (7,78–12,76) *	11,24 (9,96–13,65) *****	9,35 (7,78–12,73) *****	7,78 (5,99–9,18) *****
Клетки-тени, мм ² / Shadow cells, mm ²	16,28 (13,29–17,65) *	12,96 (10,15–14,64) *	9,30 (7,71–12,95) *	10,25 (7,56–13,67) *****	8,94 (6,89–12,76) *****	5,25 (3,98–7,89) *****
Мелкие кровеносные сосуды, мм ² / Small blood vessels, mm ²	16,27 (15,62–17,04) *	19,41 (18,52–20,42) *	25,63 (23,76–27,60) *	19,32 (18,63–20,38) *****	23,13 (21,95–25,73) *****	29,12 (27,12–30,65) *****
Площадь инфаркта, мкм ² / Infarction area, μm ²	450,78 (389,78–550,54) *	349,68 (235,67–487,98) *	245,65 (156,76–395,54) *	348,65 (232,45–353,56) *****	275,67 (165,34–287,98) *****	198,64 (187,35–232,67) *****
Экспрессия VEGF в кровеносных сосудах, мм ² / VEGF expression in blood vessels, mm ²	20,00 (17,75–21,25) *	30,00 (28,75–31,5) *	40,50 (39,0–42,25) *	29,0 (27,75–30,0) *****	40,50 (39,0–42,0) *****	54,00 (50,75–55,25) *****

Примечание: * – статистически значимые (p < 0,01) различия с группой 1 на 7–30 сутки, ** – с группой 2 на 7–30 сутки, *** – с группой 4 на 7–30 сутки по критерию Крускала-Уоллиса и критерию Манна-Уитни.

Note: * – statistically significant (p < 0.01) differences with group 1 on days 7–30, ** – with group 2 on days 7–30, *** – with group 4 on days 7–30 according to the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test.

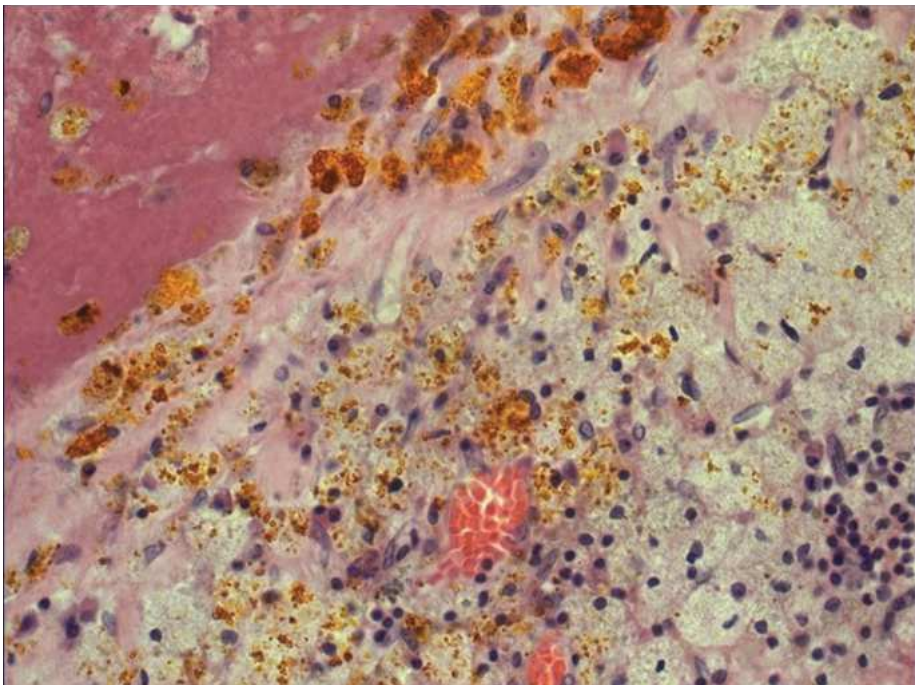


Рис. 1. Ишемический (белый) инфаркт головного мозга (слева в верхнем углу), справа – незрелая грануляционная ткань с многочисленными капиллярами и сохранная мозговая ткань (2 группа, 7 сутки). Окраска гематоксилином и эозином. x400.

Fig. 1. Ischemic (white) cerebral infarction (left in the upper corner), on the right – immature granulation tissue with numerous capillaries and preserved brain tissue (group 2, day 7). Hematoxylin and eosin staining. x400.

ки в 2,5 раза, а на 14-е сутки – в 3,2 раза по сравнению с животными первой группы, а на 30-е сутки число нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь инфаркта уменьшались в 10, 31,2 и 4,6 раза, количество интактных нейронов и мелких кровеносных сосудов – в 2 и 4 раза соответственно (**табл. 2**).

Наряду с этим, у животных с моделью ишемии головного мозга в условиях эритропоэтина и низкоинтенсивного лазерного излучения в очаге инфаркта увеличение количества сосудов с экспрессией в их эндотелиоцитах и число кровеносных сосудов по с группой животных с ишемией коры головного мозга (**табл. 2; рис. 4**).

Таблица 2 / Table 2

Влияние эритропоэтина в сочетании с низкоинтенсивной лазерной терапией на морфометрические параметры в зоне инсульта при ИКГМ (количество клеток/условная единица площади, Ме [Q1–Q3])

The effect of erythropoietin in combination low-intensity laser therapy on morphometric parameters in the stroke zone in IICGM (number of cells/conventional unit of area, Me [Q1–Q3])

Показатели/ Indicators	Группы наблюдения/ Observation groups					
	Группа 1. ИКГМ/ Group 1. ICGM			Группа 4. ИКГМ+ЭПО+НЛИ/ Group 4. ICGM+ЕРО+NLI		
	7 сутки/ 7 day (n = 10)	14 сутки/ 14 day (n = 10)	30 сутки/ 30 day (n = 10)	7 сутки/ 7 day (n = 10)	14 сутки/ 14 day (n = 10)	30 сутки/ 30 day (n = 10)
Интактные нейроны, мм² / Intact neurons, mm²	36,50 [30,87–42,77]	30,38 [23,08–36,39]	25,21 [15,96–32,29]	92,95 [91,34–3,85]*	95,71 [90,40–6,67]*	99,67 [95,12–103,01]*

Показатели/ Indicators	Группы наблюдения/ Observation groups					
	Группа 1. ИКГМ/ Group 1. ICGM			Группа 4. ИКГМ+ЭПО+НЛИ/ Group 4. ICGM+ЕРО+NLI		
	7 сутки/ 7 day (n = 10)	14 сутки/ 14 day (n = 10)	30 сутки/ 30 day (n = 10)	7 сутки/ 7 day (n = 10)	14 сутки/ 14 day (n = 10)	30 сутки/ 30 day (n = 10)
Нейроны с хро- матоллизом, мм ² / Neurons with chromatolysis mm ²	25,94 [25,21–26,73]	34,10 [32,03–35,09]	42,10 [40,45–43,10]	8,13 [7,57–8,69]*	6,17 [6,00–7,12]*	5,23 [5,64–7,40]*
Клетки-тени, мм ² / Shadow cells, mm ²	62,25 [58,08–66,84]	70,75 [67,04–72,68]	76,35 [70,77–78,01]	7,23 [6,18–7,66]*	3,84 [3,60–4,75]*	2,05 [1,87–2,39]*
Мелкие кровенос- ные сосуды, мм ² / Small blood vessels, mm ²	7,13 [6,41–3,87]	8,84 [7,73–10,14]	14,26 [11,93–16,01]	25,40 (24,85–26,10)*	31,28 (30,36–33,83)*	34,88 (33,10–36,51)*
Площадь инфар- кта, мкм ² / Infarction area, μm ²	604,06 [593,48–625,80]	680,64 [670,34–758,87]	734,66 [718,89–744,00]	240,91 [230,83–255,10]*	164,65 [168,38–195,85]*	134,55 [148,58–179,04]*
Экспрессия VEGF в кровеносных со- судах, мм ² / VEGF expression in blood vessels, mm ²	19,50 [18,0–20,25]	30,00 [28,75–31,00]	39,50 [38,00–41,25]	41,00 [39,0–22,0]*	49,00 [47,75–50,25] *	66,50 [59,75–69,25]*

Примечание: *– статистически ($p < 0,01$) различия с группой 1 на 7–30 сутки по критерию Крускала-Уоллиса и критерию Манна-Уитни.

Note: *– statistically significant ($p < 0.01$) differences with group 1 on days 7–30 to the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test.

Клиническим отражением морфологических изменений, наблюдаемых в очаге инсульта при ИИКГМ, является наличие у крыс неврологического дефицита, проявляющегося в нарушениях моторики и чувствительности, снижении интегрального показателя неврологического статуса с последующим неполным восстановлением на 30-е сутки; с полным восстановлением на 30-е сутки после монотерапии ЭПО и НЛИ; с полным восстановлением на 14-е сутки после комбинированного применения ЭПО и НЛИ (табл. 3).

Обсуждение

Результаты нашего исследования, а также данные литературы, указывающие на нейропротекторное и вазотропное действие ЭПО и НЛИ в ишемизированных тканях, могут быть обусловлены несколькими механизмами, способствующими развитию лечебного патоморфоза [8] в зоне инфаркта:

Во-первых, вазотропный эффект ЭПО улучшает кровоснабжение ишемизированного участка. В эндотелиальных клетках в условиях гипоксии комплекс рецептора ЭПО и β CR связывается с рецептором фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), стимулируя ангиогенез, особенно в постишемическом периоде [9];

Во-вторых, нейротропные эффекты ЭПО предотвращают апоптоз нейронов в условиях кислородного голодания. ЭПО стимулирует функцию нейронов через активацию кальциевых каналов, повышает активность антиоксидантных ферментов, оказывает антиапоптотическое действие на клетки микроглии, способствует регенерации выживших нейронов и уменьшает отек и некроз тканей [2, 3, 4];

В-третьих, влияние НЛИ. Лазерное воздействие на ишемизированные ткани приводит к стимуляции кальций-зависимых реакций: увеличению количества и диаметра сосудов, активизации микроциркуляции, уменьшению отека и зоны некроза [5, 6, 10].

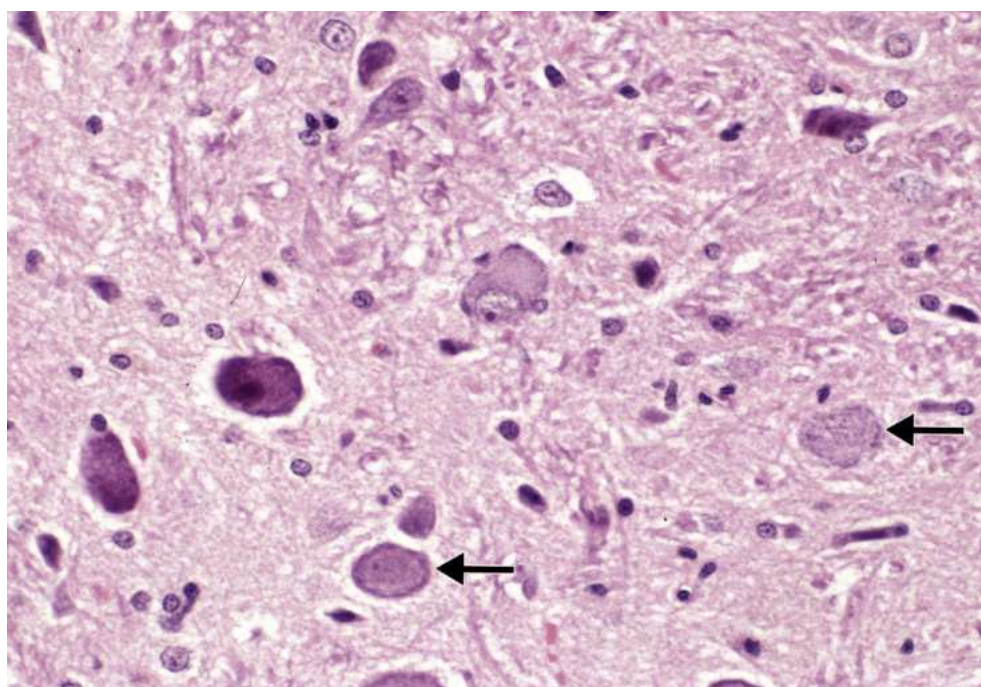


Рис. 2. Клетки – тени (указаны стрелками) в зоне ИКГМ (2 группа, 7 сутки). Окраска гематоксилином и эозином. X 600.

Fig. 2. Cells – shadows (indicated by arrows) in the area of ICGM (group 2, Day 7). Hematoxylin and eosin staining. X 600.

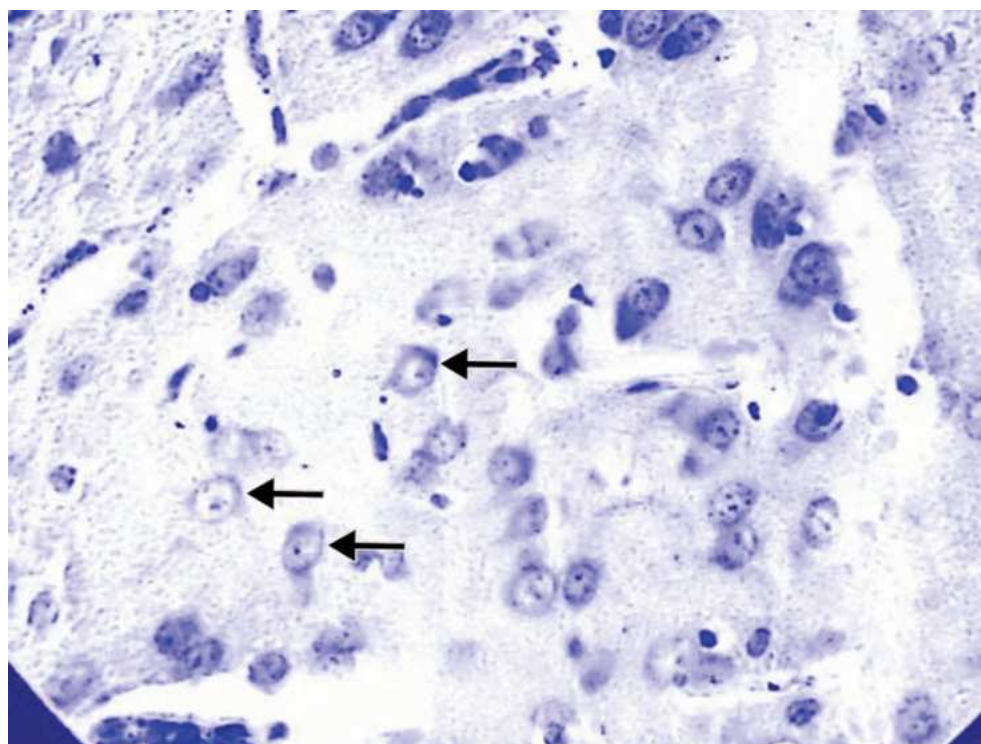


Рис. 3. Хроматолиз нейронов, клетки-тени (указаны стрелками) в зоне ИКГМ (2 группа, 7 сутки). Окраска по методу Ниссля. X 400.

Fig. 3. Chromatolysis of neurons, shadow cells (indicated by arrows) in the area of ICGM (group 2, day 7). Staining using the Nissl method. X 400.

Таблица 3 / Table 3

Показатели неврологического статуса по шкале J.H. Garcia у крыс после применения ЭПО, НЛИ и их комбинированного использования (баллы, Ме [Q1-Q3])

Neurological status according to the J.H. Garcia scale indices of rats after the use of EPO, NLI and their combined use (oints, Me [Q1-Q3])

Группы животных / Animal groups	7 сутки / Day 7	14-е сутки / Day 14	30 сутки / Day 30
1.ИКГМ / ICGM (n = 30)	6 [5,00–7,25]	8 [8,00–10,5]	13 [12,0–14,0]
2.ИКГМ+ЭПО / ICGM+EPO (n = 30)	8 [7,12–9,23]*^	12 [11,13–13,34]*^	15 [14,0–16,25]*^
3.ИКГМ+НЛИ / ICGM+NLI (n = 30)	10 [9,23–11,13]**	14 [13,15–15,34]**	16,5 [16,01–17,32]**
4.ИКГМ+ЭПО+НЛИ / ICGM+EPO+NLI (n = 30)	15 [13,75–16]*** °•	16,5 [15,017,0]*** °•	17,5[16,75–18,0]***°•

Примечание: статистически ($p < 0,01$) различия * – между 1 и 2 группой, ** – 1 и 3 группой, *** – 1 и 4 группой, ^ – 2 и 3 группой, ° – 3 и 4 группой, • – 2 и 4 группой на 7–30 сутки наблюдения поведением животных по критерию Манна-Уитни и критерию Крускала-Уоллиса.

Note: statistically significant ($p < 0.01$) differences * – between groups 1 and 2, ** – 1 and 3, *** – 1 and 4, ^ – 2 and 3, ° – 3 and 4, • – 2 and 4 on days 7–30 of observation of animal behavior to the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test.

В-четвертых, нами установлено, что комбинированное применение ЭРО и НЛИ при экспериментальной ИКГМ приводит к полному восстановлению неврологического статуса, более раннему по сравнению с монотерапией ЭРО и НЛИ восстановлению морфологии очага повреждения, увеличению экспрессии VEGF в эндотелиоцитах кровеносных сосудов.

Закключение

1. В динамике экспериментальной ИКГМ фиксируется очаговый неврологический дефицит, в очаге повреждения прогрессивно, от 7 к 30 суткам, снижается количество интактных нейронов, мелких кровеносных сосудов, увеличивается количе-

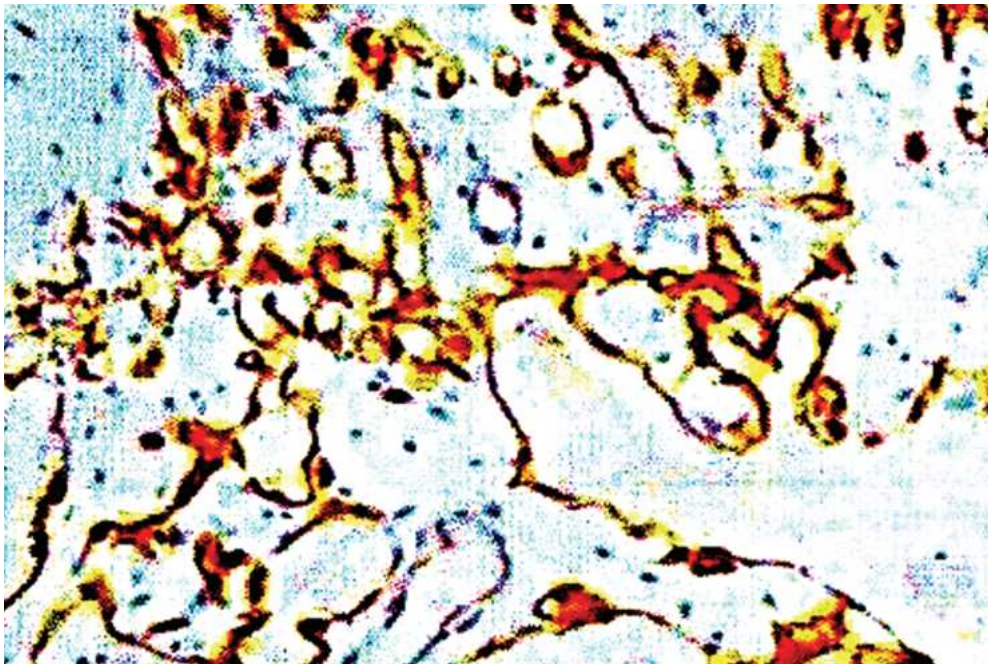


Рис. 4. Экспрессия VEGF в эндотелиоцитах кровеносных сосудов (оттенки коричневого цвета) в периферической зоне ИКГМ (3 группа, 7 сутки). Иммуногистохимическое окрашивание. x100.

Fig. 4. VEGF expression in endothelial cells of blood vessels (shades of brown) in the peripheral area of the ICGM (group 3, day 7). Immunohistochemical staining. x100.

- ство нейронов с хроматолизом, клеток-теней, площадь инфаркта, экспрессия VEGF на всех сроках наблюдения.
2. Применение ЭПО при экспериментальной ИКГМ приводит на 7 сутки к частичному, а на 14 и 30 сутки к полному восстановлению неврологического статуса; во все сроки наблюдения в очаге ишемического повреждения увеличивается число интактных нейронов, мелких кровеносных сосудов, экспрессия VEGF, снижается количество нейронов с хроматолизом, клеток-теней, площадь инфаркта.
 3. В условиях применения НЛИ при экспериментальной ИКГМ неврологический статус восстанавливается к 30 суткам. Морфологические изменения в очаге ишемии максимально выражены на 30 сутки, количество мелких кровеносных сосудов в очаге ишемического повреждения нарастает по мере увеличения экспрессии VEGF.
 4. При экспериментальной ИКГМ в условиях комбинированного применения ЭПО и НЛИ с 14 суток полностью восстанавливается неврологический статус; во все сроки наблюдения в очаге повышается количество интактных нейронов, мелких кровеносных сосудов, экспрессия VEGF, снижается площадь инфаркта, количество нейронов с хроматолизом и клеток-теней.
 5. При использовании комбинированной терапии, включающей эритропоэтин в общей дозе 15000 МЕ/кг и инфракрасное лазерное излучение с длиной волны 970 нм и мощностью 1 Вт, в очаге инсульта при экспериментальной ИКГМ наблюдался положительный патоморфоз. На 7, 14 и 30 сутки отмечалось значительное уменьшение количества нейронов с признаками хроматолиза и клеток-теней, а также сокращение площади инфаркта, а также существенное увеличение интактных нейронов, эндотелиоцитов с экспрессией антител к VEGF и мелких кровеносных сосудов; полное восстановление интегрального показателя неврологического статуса с 14 суток по сравнению с аналогичными показателями у животных 2-й группы с применением ЭПО и 3-й группы опытов с использованием НЛИ.

Литература

(п.п. 2–4; 7; 9 см. References)

1. Иванов И.М., Никифоров А.С., Н.Г., Перельгин В.В., Прошина Ю.А. Патогенетическое обоснование применения модифицированных форм и пептидных аналогов эритропоэтина как цитопротекторов. *Формула фармации*. 2020; 2 (1): 70–81. <https://doi.org/10.17816/phf21382>
5. Козлов В.И., Асташов В.В. Фотоактивирующее влияние лазерного излучения на микроциркуляцию и лимфоидные органы. *Лазерная медицина*. 2020; 24 (19): 9–17. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2020-24-1-9-17>
6. Абдрахманова А.И., Амиров Н.Б. Современные представления о механизмах лазерного воздействия. *Вестник современной клинической медицины*. 2015; 8 (5): 7–12. [https://doi.org/10.20969/VSKM.2015.8\(5\).7-12](https://doi.org/10.20969/VSKM.2015.8(5).7-12)
8. Хохлов Л.К. Патоморфоз в клинической практике. *Пациентоориентированная медицина и фармация*. 2023; 1 (4): 1–7. <https://doi.org/10.37489/2949-1924-0026>
10. Патент 2495688 Российская Федерация. Способ лечения ишемии головного мозга в эксперименте: №112092 заявл. 28.03.2012, опубл. 20.10.2013. А.И. Козель, Г.К. Попов, Р.У. Гиниятуллин и др., 3 с.

References

1. Ivanov I.M., Nikiforov A.S., Vengerovich N.G., Perelygin V.V., Proshina Yu.A. Pathogenic substantiation of application of erythropoietin modified forms and peptide analogues as cytotprotectors. *Pharmacy Formulas*. 2020; 2(1): 70–81. <https://doi.org/10.17816/phf21382> (in Russian)
2. Bongki Cho, Seung-Jun Yoo, So Yeon Kim et al. Second-generation non-hematopoietic erythropoietin-derived peptide for neuroprotection. *Redox Biol.* 2022; 49: 102223. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102223>
3. Bon-Wook Koo, Hyun-Jung Shin, Sooyoung Jeon et al. Neuroprotective effect of erythropoietin on anesthesia-induced neurotoxicity through modulation of autophagy in *Caenorhabditis elegans*. *Korean Journal of Anesthesiology*. 2024; 77(3): 384–91. <https://doi.org/10.4097/kja.23789>
4. Hernández C.C., Burgos C.F., Gajardo A.H. et al. Neuroprotective effects of in neurodegenerative and ischemic of the brain: the role of the receptor. *Neural Regen Res*. 2017; 12(9): 1381–9. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.215240>
5. Kozlov V.I., Astashov V.V. Photoactivating effect of low-intensity laser radiation on the microcirculation system and lymphoid organs. *Lazerna medicina. (Laser Medicine)*. 2020; 24(19): 9–17. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2020-24-1-9-17> (in Russian)
6. Abdrakhmanova A.I., Amirov N.B. Modern concepts on the mechanisms of low level laser therapy. *The bulletin of contemporary clinical medicine*. 2015; 8(5): 7–12. [https://doi.org/10.20969/vskm.2015.8\(5\).7-12](https://doi.org/10.20969/vskm.2015.8(5).7-12) (in Russian)

7. Garcia J.H. Early reperfusion as a rationale form of therapy in ischemic stroke. *Revista de Neurología. (Rev. Neurol)*. 1995; 23(123). 1067–73.
8. Khokhlov L.K. Pathomorphosis in clinical practice. *Pacientoorientirovannaya medicina i farmaciya. (Patient-oriented medicine and pharmacy)*. 2023; 1(4): 1–7. <https://doi.org/10.37489/2949-1924-0026> (in Russian)
9. Zhou Y., Zhu X., Cui H. et al. The role of the VEGF family in the development of coronary heart disease. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021; 8: 738325. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.738325>
10. Patent 2495688 Russian Federation, IPC A61 N5/06. Method for treating cerebral ischemia in an experiment: No. 112092; declared 28.03.2012, published 20.10.2013, A.I. Kozel, G.K. Popov, R.U. Giniatullin, et al. 3 p (in Russian)

Сведения об авторах:

Гиниатуллин Равиль Усманович, доктор мед. наук, проф., проф. каф. патологической анатомии и судебной медицины им. профессора В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России

Осиков Михаил Владимирович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. пат. физиологии ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России

Кузьмин Андрей Николаевич, канд. мед. наук, доцент каф. пат. физиологии ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России

© Смирнова О.В., Гончарова Н.С., 2026
УДК 616-002.2

Смирнова О.В.^{1,2}, Гончарова Н.С.¹

Маркёры перекисного окисления липидов при хронических ринитах разных фенотипов

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» – обособленное подразделение Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г, Россия, 660022

²Сибирский федеральный университет, Красноярск, пр. Свободный, д. 79, Россия, 660041

Введение. Хронический ринит – одно из распространённых оториноларингологических заболеваний. **Цель.** Изучение показателей перекисного окисления липидов в плазме крови у пациентов с различными формами хронического ринита.

Методика. В группы обследования были включены 35 пациентов с хроническим аллергическим ринитом, 39 пациентов с хроническим вазомоторным ринитом, 22 пациента с хроническим атрофическим ринитом, 29 больных хроническим инфекционным ринитом и 30 человек из группы контроля. Обследуемым с хроническими ринитами, а также группе контроля определяли спектрофотометрическим методом показатели перекисного окисления липидов в плазме крови. Статистический анализ проведён с использованием пакета Statistica 10.

Результаты. Анализ полученных результатов показателей перекисного окисления липидов в плазме крови у больных различными вариантами хронического ринита выявил достоверно значимое увеличение медианы концентрации диеновых конъюгатов и малонового диальдегида у пациентов с хроническим аллергическим, атрофическим и инфекционным ринитами относительно контрольной группы и пациентов с хроническим вазомоторным ринитом. Повышенное содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов расценивается как усиление перекисного окисления липидов мембран клеток в сторону накопления прооксидантов.

Заключение. При сравнении четырех форм хронических ринитов выявлено статистически значимое увеличение содержания диеновых конъюгатов и концентрации малонового диальдегида у пациентов с хроническим аллергическим, инфекционным и атрофическим ринитом относительно контрольной группы и больных с хроническим вазомоторным ринитом. Самое значимое изменение показателей перекисного окисления липидов обнаружено при хроническом инфекционном рините. Антиоксидантные препараты способны обладать терапевтическим эффектом при хронических ринитах.

Ключевые слова: хронический ринит; перекисное окисление липидов; малоновый диальдегид; диеновые конъюгаты

Для цитирования: Смирнова О.В., Гончарова Н.С. Маркёры перекисного окисления липидов при хронических ринитах разных фенотипов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2026; 70(1): 44–49.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.44-49

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Смирнова О.В.; сбор и обработка материала – Смирнова О.В., Гончарова Н.С.; подготовка иллюстративного материала – Смирнова О.В., Гончарова Н.С.; статистическая обработка материала – Гончарова Н.С.; написание текста – Смирнова О.В., Гончарова Н.С.; редактирование – Смирнова О.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Гончарова Наталья Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: nzelenyk@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.03.2025

Принята к печати 23.04.2025

Опубликована 27.03.2026

Smirnova O.V.^{1,2}, Goncharova N.S.¹**Markers of lipid peroxidation in chronic rhinitis of different phenotypes**

¹Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center «Krasnoyarsk Scientific Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, a separate subdivision of the Research Institute for Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka St., 3G, Russia, 660022

²Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Svobodny Ave., 79, Russia, 660041

Background. Chronic rhinitis is one of the most common otolaryngological diseases. **The aim.** To study the indices of lipid peroxidation in blood plasma of patients with various forms of chronic rhinitis.

Methods. The examination groups included 35 patients with chronic allergic rhinitis, 39 patients with chronic vasomotor rhinitis, 22 patients with chronic atrophic rhinitis, 29 patients with chronic infectious rhinitis and 30 people from the control group. The indices of lipid peroxidation in blood plasma were determined by spectrophotometric method in the subjects with chronic rhinitis, as well as in the control group. Statistical analysis was performed using the Statistica 10 package.

Results. The analysis of the obtained results of the study of the prooxidant system in the blood plasma of patients with various types of chronic rhinitis revealed a reliably significant increase in the median concentration of diene conjugates and malondialdehyde in patients with chronic allergic, atrophic and infectious rhinitis relative to the control group and patients with chronic vasomotor rhinitis. The increased content of malondialdehyde and diene conjugates is regarded as an increase in lipid peroxidation of cell membranes towards the accumulation of prooxidants.

Conclusion. Comparison of four forms of chronic rhinitis revealed statistically significant increase in the content of diene conjugates and malondialdehyde concentration in patients with chronic allergic, infectious and atrophic rhinitis relative to the control group and patients with chronic vasomotor rhinitis. The most significant change in lipid peroxidation indices was found in chronic infectious rhinitis. Antioxidant drugs can have a therapeutic effect in chronic rhinitis.

Keywords: chronic rhinitis; lipid peroxidation; malondialdehyde; diene conjugates

For citation: Smirnova O.V., Goncharova N.S., Markers of lipid peroxidation in chronic rhinitis of different phenotypes. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 44–49. (in Russian).

DOI 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.44-49

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

For correspondence: **Goncharova N.S.**, Junior Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute for Medical Problems of the North – a separate division of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center “Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, e-mail: nzelenyk@gmail.com

Information about authors:

Smirnova O.V., <https://orcid.org/0000-0003-3992-9207>

Goncharova N.S., <https://orcid.org/0000-0003-3547-7813>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 05.03.2025

Accepted 23.04.2025

Published 27.03.2026

Введение

Хронические риниты с наличием носовой обструкции имеют высокую распространенность среди населения. По данным эпидемиологических исследований, около 20% взрослого населения планеты страдают хроническими ринитами, а 40% здорового населения время от времени отмечают симптомы, характерные для хронических ринитов [1–3]. Распространённость заболева-

ний носа и околоносовых пазух активно возрастает в последние годы [3].

Каждый фенотипический тип хронического ринита имеет свои характеристики, такие как заложенность носа, выделения из него, а также эндоскопические особенности. Симптомы чаще проявляются локально, например: отечность слизистой оболочки, изменение цвета и состава отделяемого из носа. При всех формах хронического ринита происходит снижение защитных свойств слизи-

стой оболочки полости носа, что сопровождается присоединением бактериальной инфекции. Дисбиоз слизистой оболочки способствует развитию вторичных иммунных расстройств и дезадаптации, которая содействует развитию патологических процессов. Имеются данные, что разные фенотипические варианты хронических ринитов характеризуются своим спектром микроорганизмов в носовой полости, который существенно влияет на течение заболеваний [1, 3]. Безусловно, локальный воспалительный синдром сопровождается системными изменениями в показателях крови у больных при заболеваниях слизистой оболочки полости носа, а также влияет на показатели перекисного окисления липидов [4–9].

В патогенезе хронических ринитов придается большое значение интермиттирующему характеру гипоксии, персистенции микробных агентов на слизистой оболочке полости носа, наличию длительного воспалительного процесса, аллергическим реакциям, окислительному повреждению клеток, что приводит к развитию дисрегуляторных изменений в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ-АОЗ) [10]. По мнению В.Ф. Asher, Zhou J и др., многие ЛОР-заболевания связаны с окислительным стрессом и изменением показателей системы «ПОЛ-АОЗ» как локально в пораженных тканях, так и системно [6–9]. Все это определяет актуальность изучения данной темы.

Целью нашей работы явилось изучение показателей перекисного окисления липидов в плазме крови у пациентов с различными формами хронического ринита.

Методика

В работе приведены результаты комплексного лабораторного обследования пациентов ООО «Лор центр» (г. Красноярск) в период с 01.02.2021 по 02.07.2022 с хроническим ринитом общей численностью 125 человек (57 мужчин и 68 женщин, средний возраст $44,6 \pm 0,7$ года). В их числе были 35 пациентов с хроническим аллергическим ринитом (ХАР) (16 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 21 до 65 лет (средний возраст $44,9 \pm 1,4$ года), 39 пациентов с хроническим вазомоторным ринитом (ХВР) (21 мужчина и 18 женщин) в возрасте от 22 до 56 лет (средний возраст $43,1 \pm 1,9$ года), 22 больных хроническим атрофическим ринитом (ХАР) (7 мужчин и 15 женщин) в возрасте от 35 до 69 лет (средний возраст $45,9 \pm 2,7$ года), 29 больных хроническим инфекционным ринитом (ХИР) (13 мужчин и 16 женщин) в возрасте от 27 до 63 лет (средний возраст $43,7 \pm 2,1$ года).

Диагностика хронического ринита в зависимости от фенотипа осуществлена с учётом клинических рекомендаций Минздрава России врачом при обращении паци-

ента за лечением, с последующим анализом данных полного комплекса инструментального обследования, клинических проявлений, анамнеза и результатов риноэндоскопии.

Контрольной группой служили 30 практически здоровых доноров, не имеющих оториноларингологических жалоб и ринологического анамнеза, у которых отсутствовали изменения слизистой оболочки полости носа по результатам риноэндоскопии (13 мужчин и 17 женщин) в возрасте от 25 до 58 лет (средний возраст $43,8 \pm 1,3$ года). Группа контроля представлена пациентами, обратившимися для прохождения профилактического осмотра.

Для выбора участников исследования в группы больных и контрольную группу установлены следующие критерии: лица мужского и женского пола, возраст от 18 до 70 лет, наличие у них подписанного информированного согласия на участие в исследовании, а также наличие подтверждённого одного из следующих диагнозов: хронический аллергический ринит, хронический вазомоторный ринит, хронический атрофический ринит, хронический инфекционный ринит.

Из исследовательской группы были исключены пациенты с различными заболеваниями, такими как психические заболевания, опухоли, инфекции, включая туберкулез и ВИЧ, а также люди с зависимостью от алкоголя и наркотиков, беременные и кормящие женщины, а также те, кто не желал принимать участие в исследовании. Все исследуемые группы были сопоставимы по полу и возрасту ($p < 0,05$).

Для оценки гематологических показателей материалом исследования была кровь из периферической вены, которую забирали с 8:00 до 9:00 ч натощак однократно при поступлении на лечение после верификации диагноза до начала патогенетической терапии.

Цельную гепаринизированную кровь больного, взятую при обращении за медицинской помощью, центрифугировали 15 минут при 1700g, отбирали аликвоты плазмы и хранили при температуре -20°C . Определение показателей перекисного окисления липидов проводили в плазме пациентов и лиц контрольной группы, измерения производились на спектрофотометре Thermo Scientific Genesys 10 vis (США). Определение содержания диеновых конъюгатов (ДК) в плазме крови проводили путём добавления к 0,2 мл плазмы 2 мл смеси изопропанол/гептан (1:1). Смесь встряхивали в течение 1 ч, после чего добавляли 0,5 мл НС1 ($\text{pH} = 2$) и ещё раз встряхивали 2 мин, затем добавляли 1 мл гептана и встряхивали ещё 15 мин, после истечения 1 часа верхнюю фазу фотометрировали при 232 нм против контрольной пробы. Определение содержания малонового диальдегида (МДА) проводили методом, основанным

на взаимодействии его с 2-тиобарбитуровой кислотой, в результате которого образуются хромогены с максимумом поглощения в зеленой области видимого спектра при длине волны 532 нм [11].

Статистический анализ проведён с использованием пакета Statistica 10. Для оценки различий в группах использовали непараметрические критерии Краскела–Уоллиса (для трёх и более групп сравнения) и Манна–Уитни (для попарного сравнения). Критический уровень статистической значимости при проверке научных гипотез составлял $p < 0,05$.

Результаты

Мы изучили показатели продуктов ПОЛ в плазме крови больных с ХАлР, ХВР, ХАР и ХИР (таблица). Изменение маркеров перекисного окисления липидов в крови имеет значительные преимущества с точки зрения их биологической и клинической значимости по сравнению с локальными концентрациями [12].

Анализ полученных результатов исследования продуктов ПОЛ в плазме крови у больных различными ва-

риантами хронического ринита выявил достоверно значимое увеличение медианы концентрации ДК и МДА у пациентов с ХАлР, ХАР и ХИР относительно контрольной группы и пациентов с ХВР. Показатель МДА максимально возрастал при ХАР и ХИР – в 1,54 и 1,53 раза соответственно, при ХАлР в 1,24 раза относительно нормальных величин. Медиана концентрации ДК максимально возрастала при ХИР – в 1,34 раза, при ХАР – в 1,31 раза, а при ХАлР – в 1,28 раз относительно нормальных величин. Полученные результаты коррелируют с полученными результатами авторов по работам, связанным с заболеванием слизистой оболочки полости носа [13–15].

Таким образом, при ХАлР, ХАР и ХИР выявлено достоверно значимое увеличение концентрации ДК и МДА относительно контрольной группы и пациентов с ХВР, а при ХВР – отсутствие достоверно значимых изменений. Повышенное содержание МДА и ДК расценивается как усиление перекисного окисления липидов мембран клеток в сторону накопления продуктов конечного окисления липидов.

Таблица / Table

Показатели прооксидантной системы в плазме крови у больных хроническим ринитом в зависимости от фенотипа
Indicators of the prooxidant system in blood plasma in patients with chronic rhinitis depending on the phenotype

Показатели Indicators	Контрольная группа (1) Control group (1)		ХАлР (2) CAIR (2)		ХВР (3) CVR (3)		ХАР (4) CAR (4)		ХИР (5) CIR (5)	
	N = 30		N = 35		N = 39		N = 22		N = 29	
	Me	Q ₂₅ – Q ₇₅	Me	Q ₂₅ – Q ₇₅	Me	Q ₂₅ – Q ₇₅	Me	Q ₂₅ – Q ₇₅	Me	Q ₂₅ – Q ₇₅
ДК мкмоль/л DK μmol/l	0,69	0,54 – 0,79	0,89	0,84 – 0,99	0,71	0,61 – 0,81	0,91	0,81 – 0,96	0,93	0,81 – 1,01
			$p_{1-2} < 0,001$		$p_{2-3} < 0,001$		$p_{1-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$		$p_{1-5} < 0,001$ $p_{3-5} < 0,001$	
МДА нмоль/1г белка MDA nmol/1 g protein	2,34	1,9 – 3,26	2,91	2,36 – 3,41	2,43	1,91 – 3,31	3,61	3,21 – 3,76	3,59	2,89 – 3,91
			$p_{1-2} = 0,007$		$p_{2-3} = 0,008$		$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$		$p_{1-5} < 0,001$ $p_{2-5} < 0,001$ $p_{3-5} < 0,001$	

***Примечание:** p_{1-2} : достоверные различия между группой ХАлР и контрольной группой; p_{1-3} : достоверные различия между группой ХВР и контрольной группой; p_{1-4} : достоверные различия между группой ХАР и контрольной группой; p_{1-5} : достоверные различия между группой ХИР и контрольной группой; p_{2-3} : достоверные различия между группами ХАлР и ХВР; p_{2-4} : достоверные различия между группами ХАлР и ХАР; p_{2-5} : достоверные различия между группами ХАлР и ХИР; p_{3-4} : достоверные различия между группами ХВР и ХАР; p_{3-5} : достоверные различия между группами ХВР и ХИР; p_{4-5} : достоверные различия между группами ХАР и ХИР.

ХАлР — хронический аллергический ринит; ХВР — хронический вазомоторный ринит; ХАР — хронический атрофический ринит; ХИР — хронический инфекционный ринит.

***Note:** p_{1-2} : significant differences between the CAIR group and the control group; p_{1-3} : significant differences between the CVR group and the control group; p_{1-4} : significant differences between the CAR group and the control group; p_{1-5} : significant differences between the CIR group and the control group; p_{2-3} : significant differences between the CAIR group and the CVR; p_{2-4} : significant differences between the CAIR group and the CAR; p_{2-5} : significant differences between the CAIR group and the CIR; p_{3-4} : significant differences between the CVR group and the CAR; p_{3-5} : significant differences between the CVR group and the CIR; p_{4-5} : significant differences between the CAR group and the CIR.

CAIR – chronic allergic rhinitis; CVR – chronic vasomotor rhinitis; CAR – chronic atrophic rhinitis; CIR – chronic infectious rhinitis.

Обсуждение

В настоящее время известно, что в патогенезе многих заболеваний, в том числе болезней органов дыхания, лежат процессы свободнорадикального окисления [16]. Существуют исследования, подтверждающие роль «ПОЛ-АОЗ» в структуре ЛОР-заболеваний [13, 14, 17, 18]. Существуют данные в мировой литературе, где описано также усиление перекисного окисления липидов при аллергическом воспалении слизистой оболочки верхних дыхательных путей [13, 14, 15, 19], исследований состояния системы «ПОЛ» при ХИР, ХАР и ХВР нет.

Нарушение основных биохимических механизмов защиты на уровне клетки – преобладание прооксидантных систем с увеличением уровня свободнорадикального окисления липидов мембран – отражает их связь с выраженностью воспалительного ответа и ролью воспалительных молекул. Окислительный стресс может играть решающую роль в возникновении дисфункции или ухудшении эпителиального барьера носа [18]. Процесс образования активных форм кислорода приводит к поврежде-

нию клеток слизистой оболочки полости носа, облегчает инфильтрацию дополнительных воспалительных клеток в ткань, запускает выработку провоспалительных цитокинов и поддерживает пагубный цикл, в конечном итоге способствуя прогрессированию заболевания [19–21].

Выводы

При сравнении четырех форм хронических ринитов было выявлено статистически значимое увеличение содержания диеновых конъюгатов и концентрации малового диальдегида у пациентов с хроническим аллергическим, атрофическим и инфекционным ринитами относительно контрольной группы и больных с хроническим вазомоторным ринитом. Самое значимое увеличение показателей перекисного окисления липидов обнаружено при хроническом инфекционном рините. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что для разработки технологий персонализированного лечения пациентов с хроническим ринитом, а также повышения качества прогнозной оценки течения заболевания необходимо с терапевтической целью использовать антиоксиданты.

Литература

(п.п. 6,7; 10–13; 16–21 см. References)

1. Беруль А.Ю., Бурлакова К.Ю., Беруль П.А. Ринит – причины, симптомы, эффективные методы лечения. *Практика педиатра*. 2019; 3: 48–52.
2. Бодня О.С. Дифференциальный диагноз аллергического и неаллергического ринита: фенотипы и эндотипы. *Практическая аллергология*. 2021; 2: 86–95. https://doi.org/10.46393/2712-9667_2021_2_86_94
3. Гусева А.Л., Дербенева М.Л. Ринит: дифференциальная диагностика и принципы лечения. *Медицинский совет*. 2020; 16: 102–8. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-16-102-108>
4. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. COVID-19: окислительный стресс и актуальность антиоксидантной терапии. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75(4): 318–25. <https://doi.org/10.15690/vramn1360>
5. Кармен Н.Б., Стародумова Т.И. Влияние хронической гипоксии на активность процессов перекисного окисления липидов в мембранах лимфоцитов. *Наука и мир*. 2017; 1 – 2(41): 74–6.
6. Карпова Е.П., Бараташвили А.Д. Фенотипическая классификация ринитов и основные принципы терапии. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2019; 3(8): 33 – 6.
7. Кишкун, А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 800 с.
8. Маклакова О.А., Землянова М.А., Валина С.Л. Особенности окислительного стресса у детей с заболеваниями органов дыхания в различных условиях комплексного аэрогенного воздействия химических веществ. *Анализ риска здоровью-2021. Внешнесредовые, социальные, медицинские и поведенческие аспекты. Совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2021*. 2021; 301 – 7.
9. Коркмазов М.Ю., Синицкий А.И., Солодовник А.В., Смирнов А.А. Объективная оценка состояния процессов свободнорадикального окисления липидов и белков тканей глоточной миндалины у детей с хроническим аденоидитом при применении немедикаментозных методов лечения. *Уральский медицинский журнал*. 2020; 10: 40 – 5.

References

1. Berul' A.Ju., Burlakova K.Ju., Berul' P.A. Rhinitis – causes, symptoms, effective treatment methods. *Praktika pediatria*. 2019; 3: 48–52. (in Russian).
2. Bodnja O.S. Differential diagnosis of allergic and non-allergic rhinitis: phenotypes and endotypes. *Prakticheskaja allergologija*. 2021; 2: 86–95. (in Russian). https://doi.org/10.46393/2712-9667_2021_2_86_94
3. Guseva A.L., Derbeneva M.L. Rhinitis: differential diagnosis and treatment principles. *Medicinskij sovet*. 2020; 16: 102–8. (in Russian). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-16-102-108>
4. Darenkaja M.A., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. COVID-19: oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2020; 75(4): 318–25. (in Russian). <https://doi.org/10.15690/vramn1360>

5. Karmen N.B., Starodumova T.I. The influence of chronic hypoxia on the activity of lipid peroxidation processes in lymphocyte membranes. *Nauka i mir*. 2017; 1 – 2(41): 74–6. (in Russian).
6. Asher M.I., Weiland S.K. The international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC). *Clinical & Experimental Allergy*. 1998; 28(s5): 52 – 66. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.1998.028s5052.x>
7. Zhou J., Zhou J., Liu R. et al. The oxidant-antioxidant imbalance was involved in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Frontiers in Immunology* 2024; 15: 1380846. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1380846>
8. Karpova E.P., Baratashvili A.D. Phenotypic classification of rhinitis and basic principles of therapy. *Russkij medicinskij zhurnal. Medicinskoe obozrenie. (RMJ. Medical Review)*. 2019; 3(8): 33 – 36. (in Russian)
9. Kishkun, A.A. Manual of laboratory diagnostic methods. Moskva: GJeO-TAP-Media, 2009. 800 p. (in Russian).
10. Fois A.G., Paliogiannis P., Sotgia S. et al. Evaluation of oxidative stress biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis and therapeutic applications: a systematic review. *Respiratory Research*. 2018; 19: 51. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0754-7>
11. Takabayashi T., Schleimer R.P. Formation of nasal polyps: the roles of innate type 2 inflammation and deposition of fibrin. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020; 145(3): 740 – 50. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.01.027>
12. Tsai Y.J., Hsu Y.T., Ma M.C., Wu C.K., Luo S.D., Wu W.B. Transcriptomic analysis of genes associated with oxidative stress in chronic rhinosinusitis patients with nasal polyps: identifying novel genes involved in nasal polyposis. *Antioxidants*. 2022; 11(10): 1899. <https://doi.org/10.3390/antiox11101899>.
13. Han M., Lee D., Lee S.H., Kim T.H. Oxidative stress and antioxidant pathway in allergic rhinitis. *Antioxidants*. 2021; 10(8): 1266. <https://doi.org/10.3390/antiox10081266>
14. Maklakova O.A., Zemljanova M.A., Valina S.L. Features of oxidative stress in children with respiratory diseases under various conditions of complex aerogenic exposure to chemicals. *Analiz riska zdorov'ju-2021. Vneshnesredovye, social'nye, medicinskie i povedencheskie aspekty. Sovmestno s mezhdunarodnoj vstrechej po okruzhajushhej srede i zdorov'ju RISE-2021*. 2021; 301 – 7. (in Russian).
15. Korkmazov M. Ju., Sinickij A.I., Solodovnik A.V., Smirnov A.A. Objective assessment of the state of free radical oxidation processes of lipids and proteins of the tissues of the pharyngeal tonsil in children with chronic adenoiditis using non-drug treatment methods. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2020; 10: 40-45. (in Russian).
16. Tai J., Shin J.M., Park J. et al. Oxidative stress and antioxidants in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Antioxidants*. 2023; 12(1): 195. <https://doi.org/10.3390/antiox12010195>
17. Topal O., Kulaksizoglu S., Erbek S.S. Oxidative stress and nasal polyposis: does it affect the severity of the disease? *American Journal of Rhinology & Allergy*. 2014; 28(1): e1 – 4. <https://doi.org/10.2500/ajra.2014.28.3963>
18. Hong Z., Guo Z., Zhang R. et al. Airborne fine particulate matter induces oxidative stress and inflammation in human nasal epithelial cells. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2016; 239(2): 117 – 25. <https://doi.org/10.1620/tjem.239.117>
19. Aldakheel F.M., Thomas P.S., Bourke J.E. et al. Relationships between adult asthma and oxidative stress markers and pH in exhaled breath condensate: a systematic review. *Allergy*. 2016; 71(6): 741 – 57. <https://doi.org/10.1111/all.12865>
20. de Groot L.E., Piñeros Y.S.S., Bal S.M. et al. Do eosinophils contribute to oxidative stress in mild asthma? *Clinical and Experimental Allergy*. 2019; 49(6): 929 – 31. <https://doi.org/10.1111/cea.13389>
21. Nadeem A., Chhabra S.K., Masood A., Raj H.G. Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2003; 111(1): 72 – 8. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.17>

Сведения об авторах:

Смирнова Ольга Валентиновна, доктор мед. наук, проф., зав. лаб. клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», зав. каф. медицинской биологии Сибирского федерального университета. e-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Гончарова Наталья Сергеевна, мл. науч. сотр. лаб. клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук». e-mail: nzelenyk@gmail.com

© Коллектив авторов, 2026
УДК 577.1:618.15/577.352:577.125

Аталян А.В., Сутурина Л.В., Даренская М.А., Машукова А.К., Курашова Н.А., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И.

Нарушения липидного обмена и в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» как звенья патогенеза миомы матки

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, Иркутск, Россия, ул. Тимирязева, д. 16

Введение. Несмотря на высокую распространенность миомы матки (ММ), ее патогенез, связанный с нарушениями метаболизма, требует дальнейшего изучения. Установлено, что дислипидемия и окислительный стресс выступают триггерами развития ММ. В настоящее время литературные данные об активности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у пациенток с ММ остаются неоднозначными. Цель исследования – выявить особенности изменений показателей липидного обмена, системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и их взаимосвязи с характеристиками ММ у женщин репродуктивного возраста.

Методика. Проведено кросс-секционное исследование с участием 1041 женщины в возрасте 18–44 лет. Основную группу составили 147 женщин с ММ, контрольную – 894. Определяли липидный профиль (общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), холестерин липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), триацилглицериды (ТАГ)), маркеры перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены – сопряженные триены (КД-СТ), ТБК-активные продукты (ТБК-АП)) и антиоксидантной защиты (α -токоферол, ретинол, восстановленный и окисленный глутатион (GSH и GSSG), общая антиокислительная активность (АОА)). Статистическая обработка данных проведена в R (критерии Стьюдента, Бруннера-Мунцеля, корреляции Спирмена).

Результаты. У пациенток с ММ зафиксированы изменения липидограммы – повышение ОХС и ХС ЛПНП, активация процессов перекисного окисления липидов – повышение КД-СТ, а также увеличение концентрации α -токоферола и ретинола по сравнению с группой контроля. Параметры интерстициальных узлов положительно коррелируют с маркерами окислительного стресса (ДК, ТБК-АП) и отрицательно – с показателями антиоксидантной защиты (АОА, GSH, ХС ЛПВП). Для субсерозных узлов выявлены обратные корреляции с КД-СТ, что указывает на патогенетические различия в зависимости от локализации узлов.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о диагностической ценности маркеров окислительного стресса и липидного обмена для выявления метаболических нарушений, ассоциированных с ММ.

Ключевые слова: окислительный стресс; перекисное окисление липидов; антиоксидантная активность; миома матки; дислипидемия

Для цитирования: Аталян А.В., Сутурина Л.В., Даренская М.А., Машукова А.К., Курашова Н.А., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И. Нарушения липидного обмена и в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» как звенья патогенеза миомы матки. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2026; 70(1): 50–60.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.50-60

Участие авторов: концепция и дизайн работы – Аталян А.В., Сутурина Л.В., Колесникова Л.И.; сбор данных – Курашова Н.А., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г.; анализ и интерпретация данных – Аталян А.В., Машукова А.К.; написание статьи – Аталян А.В., Машукова А.К.; редактирование статьи – Сутурина Л.В., Даренская М.А., Колесникова Л.И. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Аталян Алина Валерьевна, e-mail: atalyan@sbamsr.irk.ru

Финансирование. Исследование проведено за счет государственных бюджетных тем: №ААА-А19-119101590007-8 «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.09.2025

Принята к печати 19.10.2025

Опубликована 27.03.2026

Atalyan A.V., Suturina L.V., Darenskaya M.A., Mashukova A.K., Kurashova N.A., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadeliaeva Ya.G., Kolesnikova L.I.

Lipid metabolism and the «lipid peroxidation-antioxidant defense» system as a component of the pathogenesis of uterine fibroids

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 16 Timiryazeva st., Irkutsk, 664003, Russia

Introduction. Despite the high prevalence of uterine fibroids (UF), its pathogenesis associated with metabolic disorders requires further study. Dyslipidemia and oxidative stress have been identified as triggers for UF development. Available evidence regarding lipid peroxidation and antioxidant defense in UF remains contradictory. **Aim** – to investigate the specific alterations in lipid metabolism and the lipid peroxidation-antioxidant defense system, and their associations with UF characteristics in women of reproductive age.

Methods. This cross-sectional study included 1041 women aged 18 – 44 years. The study groups consisted of 147 cases (women with UF) and 894 controls. We measured the lipid profile (total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C), triacylglycerides (TAG)), lipid peroxidation markers (diene conjugates (DC), ketodienes and conjugated trienes (KD-CT), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)), and antioxidant defense parameters (α -tocopherol, retinol, reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG), total antioxidant activity (TAA)). Data were analyzed in R using the t-test, Brunner-Munzel test, and Spearman correlation.

Results. Patients with UF demonstrated altered lipid profile – elevated TC and LDL-C levels, activation of lipid peroxidation processes – increased KD-CT, along with elevated concentrations of α -tocopherol and retinol compared to the control group. Parameters of intramural fibroids had positive correlations with oxidative stress markers (DC, TBARS) and negative correlation with antioxidant defense indicators (TAA, GSH, HDL-C). Negative KD-CT correlations in subserosal fibroids suggest location-dependent pathogenesis.

Conclusion. The obtained data demonstrate the diagnostic value of oxidative stress markers and lipid metabolism parameters for detecting metabolic disorders associated with UF.

Keywords: oxidative stress; lipid peroxidation; antioxidant activity; uterine fibroid; dyslipidemia

For citation: Atalyan A.V., Suturina L.V., Darenskaya M.A., Mashukova A.K., Kurashova N.A., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadeliaeva Ya.G., Kolesnikova L.I. Lipid metabolism and the «lipid peroxidation-antioxidant defense» system as a component of the pathogenesis of uterine fibroids. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2026; 70(1): 50–60. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.50-60

Author's contribution: concept and design of the work – Atalyan A.V., Suturina L.V., Kolesnikova L.I.; data collection – Kurashova N.A., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadeliaeva Ya.G.; analysis and interpretation of data – Atalyan A.V., Mashukova A.K.; writing the text – Atalyan A.V., Mashukova A.K.; editing the text – Suturina L.V., Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Atalyan A.V., e-mail: atalyan@sbamsr.irk.ru

Information about the authors:

Atalyan A.V., <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Suturina L.V., <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Darenskaya M.A., <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Mashukova A.K., <https://orcid.org/0009-0004-7831-3397>

Kurashova N.A., <https://orcid.org/0000-0001-8591-8619>

Danusevich I.N., <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Lazareva L.M., <https://orcid.org/0000-0002-7662-8529>

Nadeliaeva Ya.G., <https://orcid.org/0000-0002-5747-7315>

Kolesnikova L.I., <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Financing. The study was conducted as part of state-budgeted research themes: No. AAA-A19-119101590007-8 "Pathophysiological Mechanisms and Genetic-Metabolic Predictors of Reproductive Health Preservation and Longevity in Different Age, Gender, and Ethnic Groups."

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

Received 15.09.2025

Accepted 19.10.2025

Published 27.03.2026

Введение

Миома матки (ММ) относится к доброкачественным новообразованиям моноклонального происхождения и происходит из гладкомышечных клеток миометрия. Распространенность ММ варьируется от 4,5 до 68,6% среди женщин репродуктивного возраста [1 – 5]. Основная патогенетическая роль в развитии ММ принадлежит нарушениям в синтезе и рецепции эстрогенов и прогестерона. Указанные гормоны существенно влияют на течение метаболических реакций, в частности – липидного обмена. Так, эстрогены способствуют накоплению триацилглицеридов (ТАГ), общего холестерина (ОХС), модулируют экспрессию липопротеиновой липазы [6]. В то же время известно, что нарушения липидного обмена могут выступать триггером развития ММ путем активации пролиферации гладкомышечных клеток через взаимодействие липидных метаболитов – таких как производные холестерина (например, 27-гидроксихолестерол) и свободные жирные кислоты – с рецепторами эстрогенов и прогестерона, а также индукции секреции провоспалительных цитокинов [7]. Отмечается, что дислипидемия при ожирении ведет к гиперэстрогемии, что способствует росту миомы [8]. Кроме того, показано, что дислипидемия в виде низкого уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и высокого уровня ОХС, а также холестерина низкой плотности (ХС ЛПНП) связана с размером миоматозных узлов [9].

Активные формы кислорода (АФК) являются высокореакционными молекулами, играют решающую роль в реализации различных свободнорадикальных процессов в клетках, оказывают выраженное повреждающее действие на различные макромолекулы, включая белки, липиды, нуклеиновые кислоты [10]. АФК повреждают клеточные мембраны, вызывают мутации ДНК, стимулируют реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ), индуцируют развитие гипоксии, способствуя таким образом множественным процессам, которые приводят к усилению пролиферации клеток, замедлению апоптоза, ухудшению оксигенации в миоматозном узле, отложению в нем внеклеточного матрикса – ключевым аспектам развития ММ [11, 12]. К тому же, длительный окислительный стресс истощает ресурсы антиоксидантной системы организма, нарушая регуляцию метаболических процессов [13] и повышая риск развития онкологических заболеваний [14].

Литературные данные об активности прооксидантов и антиоксидантов в крови у женщин с ММ и в ткани миоматозных узлов зачастую противоречивы [15]. В исследовании Vignini и соавт. наблюдали повышение уровня конечных продуктов липопероксидации и снижение ак-

тивности СОД в крови у женщин с ММ [16]. Результаты, полученные Markowska и соавт., демонстрируют статистически значимое повышение активности глутатионпероксидазы в миоматозной ткани относительно интактного миометрия. При этом межгрупповых различий в активности каталазы зарегистрировано не было. Параллельно авторы отметили наличие незначимой тенденции к росту антиоксидантной активности плазмы крови, оцененной с помощью FRAP-метода [17]. Согласно исследованию Santulli и соавт., у пациенток с ММ зафиксирован повышенный уровень биомаркеров окислительной модификации белков по сравнению с контрольной группой. Это проявлялось в статистически значимом увеличении концентрации карбонильных групп сывороточных белков и продуктов окислительной модификации белков (АОРП), а также в значимом снижении уровня сульфгидрильных групп [18]. Результаты исследования Vural и соавт. показали повышенную активность компонентов антиоксидантной защиты – церулоплазмينا, каталазы и тиолов в ткани миомы по сравнению с тканью миометрия [19]. В пилотном исследовании Siebiera M. и соавт. продемонстрирован повышенный уровень концентрации альфа-токоферола сыворотки крови в группе лиц с миомой матки по сравнению с контрольной группой [20].

Несмотря на проводимые исследования, до сих пор недостаточно информации о патогенетических взаимосвязях изменений показателей липидного обмена и системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» с параметрами миомы матки у женщин. Кроме того, на сегодняшний день недостаточно данных, оценивающих уровни биомаркеров в зависимости от локализации и объема миоматозных узлов. Недообследованной остается категория женщин репродуктивного возраста, проживающая на территории Иркутской области. Особый интерес представляют популяционные исследования.

Цель исследования – выявить особенности изменений показателей липидного обмена, системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и их взаимосвязи с характеристиками ММ у женщин репродуктивного возраста.

Методика

Настоящее исследование выполнено на основе данных, полученных в ходе ранее проведенного эпидемиологического исследования по оценке распространенности синдрома поликистозных яичников (СПЯ) в неселективной популяции женщин Прибайкалья в течение 2016 – 2019 гг. [21].

Участницами настоящего исследования являются 1041 женщина в возрасте от 18 до 44 лет, проходившие

ежегодный медицинский осмотр по месту работы (неселективная популяционная выборка) в Иркутской области и Республике Бурятия. По результатам обследования ММ была диагностирована у 147 женщин (14,12%), которые составили основную группу. Оставшиеся 894 женщины (85,88%) без ММ сформировали группу контроля. Исследование было одобрено Этическим комитетом Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск, Россия) (протокол № 2.1 от 24 февраля 2016 г.). Исследование было проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (версия 2008 г.).

Критерии включения в исследование: подписание информированного согласия на проведение исследования; возраст от 18 до 44 лет; принадлежность к европеоидной или монголоидной расе; доступность и соблюдение всех процедур во время исследования. Критериями исключения являлись: текущая беременность или лактация; гистерэктомия, двусторонняя овариэктомия, абляция эндометрия или эмболизация маточной артерии в анамнезе; текущий или предыдущий (в течение 3 месяцев) прием гормональных препаратов или сенситизаторов инсулина.

Общеклинические исследования включали анкетный опрос, оценку антропометрических характеристик, с расчетом индекса массы тела по формуле: $IMT = m/h^2$, где m – масса тела в кг, h – рост в м. Измерение окружности талии (ОТ) проводилось на уровне нижних краев 10-х ребер при спокойном дыхании. Определение доли жировой ткани и висцерального жира проводили при помощи монитора состава тела HBF-508-E (OMRON, Япония). Для верификации ММ и определения ее локализации проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза с использованием аппарата Mindray M7 (MINDRAY, Китай). Классификация узлов проводилась в соответствии с анатомо-топографическими критериями тремя опытными специалистами, а при несовпадении мнений проводилось консилиумное обсуждение. В качестве размера максимального узла для каждой участницы исследования фиксировался наибольший диаметр (в миллиметрах) среди всех выявленных миоматозных узлов каждой локализации.

В качестве материала для лабораторных исследований использовали сыворотку и плазму крови, а также гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Образцы крови получали с помощью одноразовых вакуумных систем из локтевой вены после 15-минутного отдыха, натошак, с 8 до 9 часов утра. После взятия венозная кровь была своевременно доставлена в лабораторию. При комнатной температуре время доставки не превышало 60 мин после взятия крови. В случаях, когда доставка крови осуществ-

лялась в течение дня, она хранилась при температуре от +4 °C до +6 °C (в холодильнике) и далее в специальных транспортных контейнерах доставлялась в лабораторию. Полученная сыворотка хранилась в одноразовых пробирках типа Eppendorf при –40 °C, размораживание при необходимости производили не более одного раза.

Уровни ОХС, ХС ЛПВП, ТАГ определяли из сыворотки крови с помощью наборов Cormay (PZ CORMAY S.A., Польша) на автоматическом анализаторе BTS-350 (BioSystems, Барселона, Испания) методом фотометрии. Содержание ХС ЛПНП рассчитывали по формуле: $ХС\ ЛПНП = ОХС - (ХС\ ЛПВП + ХС\ ЛПОНП)$, где уровень холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) рассчитывался как $ХС\ ЛПОНП = ТАГ/2,2$.

Исследование состояния системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ-АОЗ) включало в себя: определение продуктов ПОЛ (диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряженные триены (КД-СТ), ТБК-активные продукты (ТБК-АП)) и компонентов системы АОЗ (общая антиокислительная активность (общая АОА), супероксиддисмутаза (СОД), α -токоферол, ретинол, восстановленный (GSH) и окисленный глутатион (GSSG)). Измерения ДК, КД-СТ, ТБК-АП и общей АОА производились на спектрофотометре «СФ – 2000» (ОКБ СПЕКТР, Санкт-Петербург, Россия), СОД – BTS-350 (BioSystems, Барселона, Испания).

Измерения концентраций GSH и GSSG, α -токоферола и ретинола проводились с использованием флуориметрического метода на флуорате 02 АБФФ-Т (Люмэкс, Россия). Концентрацию GSH и GSSG определяли из гемолизата, выражали в ммоль/л. Содержание жирорастворимых витаминов определяли в сыворотке крови, выражали в мкмоль/л.

Для расчета коэффициента окислительного стресса (КОС) применяли специально разработанное авторское программное обеспечение [22]. Полученные значения КОС интерпретировали следующим образом: КОС > 1 отражает активацию окислительных процессов в системе.

Анализ данных выполняли с использованием методов статистической обработки, реализованных в языке R, версия 4.0.3. [23].

Категориальные переменные представлялись посредством абсолютных и относительных частот (доли и проценты). Анализ таблиц сопряженности выполнен с использованием критерия χ^2 . Соответствие распределения непрерывных признаков нормальному закону оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. В зависимости от характера распределения количественные данные представлены как $M \pm SD$ (среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение) или Median (IQR) (меди-

ана (интерквартильный размах)) и применяли критерии Т-критерий Стьюдента (при нормальном распределении и гомоскедастичности) или непараметрический – Бруннера-Мунцеля [24] (в случае нарушения параметрических предпосылок) для сравнения независимых групп. Оценка взаимосвязи признаков проводилась при помощи корреляции Спирмана.

Статистическую значимость определяли при уровне $p < 0,05$, что соответствовало порогу ошибки первого рода $\alpha = 0,05$.

Результаты

Общая характеристика участниц исследования, включая демографические и антропометрические данные, представлена в **таблице 1**, согласно которой женщины с ММ характеризуются более старшим возрастом, а так-

повышение (в пределах референтных значений) уровня ОХС и ХС ЛПНП относительно группы контроля.

В нашем исследовании в группе с ММ выявлены более высокие уровни вторичных продуктов ПОЛ (КД-СТ) относительно соответствующих значений в группе контроля. Одновременно, среди параметров антиоксидантной защиты зарегистрировано статистически значимое повышение уровней α -токоферола и ретинола по отношению к группе контроля (**табл. 4**). Существенных различий между изучаемыми группами по значениям интегрального показателя КОС выявлено не было.

При проведении корреляционного анализа изучаемых биохимических показателей и характеристик ММ была обнаружена статистически значимая положительная корреляционная связь между размером максимального миоматозного узла и ДК ($r = 0,27$, $p = 0,001$), при

Таблица 1 / Table 1

Основные характеристики участниц исследования

Main characteristics of the study participants

	Основная группа / Main group $n_1 = 147$	Группа контроля / Control group $n_2 = 894$	p
	$M \pm SD$; Median (IQR)		
Возраст, лет / Age, years	38,99 $\pm$ 4,52	33,66 $\pm$ 6,33	< 0,001**
Рост, см / Height, cm	162,48 $\pm$ 6,08	163,25 $\pm$ 6,02	0.151**
Вес, кг / Weight, kg	69,0 (61,25 – 80,9)	65,15 (57,3 – 75,68)	0.001***
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	26,3 (23,85 – 30,45)	24,6 (21,4 – 28,38)	< 0,001***
ОТ, см / WC, cm	79,0 (72,25 – 87,0)	76,0 (68,0 – 85,0)	0.001***
Доля жировой ткани, % / Body fat percentage, %	38,95 (31,95 – 43,90)	36,10 (29,00 – 42,20)	0.002***
Висцеральный жир, % / Visceral fat, %	7,0 (5,0 – 8,0)	6,0 (4,0 – 7,0)	< 0,001***

Примечание. * – p – величина критерия χ^2 , ** – p – величина критерия Стьюдента; *** – p – величина критерия Бруннера-Мунцеля.

Note. * – p -value for the χ^2 test; ** – p -value for Student's t-test; *** – p -value for the Brunner-Munzel test.

же большими, по сравнению с группой контроля, значениями веса, ИМТ, ОТ, объема жировой ткани и висцерального жира.

Морфологические и ультразвуковые характеристики миоматозных узлов женщин основной группы показаны в **таблице 2**.

Как представлено в **таблице 3**, в основной группе обследованных нами женщин с ММ наблюдается значимое

этом количество узлов, независимо от их локализации, положительно коррелировало с уровнем α -токоферола и ретинола ($r = 0,19$, $p = 0,022$ и $r = 0,23$, $p = 0,007$ соответственно).

У женщин без ММ обнаружена слабая положительная корреляция между процентным содержанием жировой ткани и уровнем ретинола ($r = 0,089$, $p = 0,009$) и α -токоферола ($r = 0,096$, $p = 0,005$). В группе с ММ значимой

Таблица 2 / Table 2

Характеристика миоматозных узлов у женщин основной группы**Characteristics of uterine fibroids in women of the main group**

Параметр / Parameter	Median (IQR)
Количество узлов / Number of fibroids	1,0 (1,0 – 2,0)
Размер наибольшего миоматозного узла, мм / Size of the largest fibroid, mm	19,0 (12,5 – 33)
Единичный узел / Solitary fibroid, n/N (%)	81/147 (55,1)
Множественные узлы / Multiple fibroids, n/N (%)	66/147(44,9)
Наличие узлов различной локализации / Presence of fibroids in different locations, n/N (%)	42/147(28,6)
Наличие узлов одной локализации / Presence of fibroids in a single location, n/N (%)	105/147 (71,4)
Интерстициальные узлы / Intramural fibroids, n/N (%)	70/147 (47,6)
Размер наибольшего интерстициального узла / Size of the largest Intramural fibroid, мм	17,0 (10,0 – 22,0)
Субмукозные узлы / Submucosal fibroids, n/N (%)	7/147(4,8)
Размер наибольшего субмукозного узла / Size of the largest submucosal fibroid, мм	15,0 (10,0 – 24,0)
Субсерозные узлы / Subserosal fibroids, n/N (%)	28/147(19,1)
Размер наибольшего субсерозного узла / Size of the largest subserosal fibroid, мм	19,5 (15,0 – 27,5)

Таблица 3 / Table 3

Липидный спектр сыворотки крови у женщин с миомой матки и в контрольной группе**Serum lipid profile in women with uterine fibroids and in the control group**

	Основная группа/ Main group $n_1 = 147$	Группа контроля/ Control group $n_2 = 894$	p^*
	Median (IQR)		
ТАГ, ммоль/л / TAG, mmol/L	0,97 (0,69 – 1,19)	0,91 (0,68 – 1,18)	0,367
ОХС, ммоль/л / TC, mmol/L	4,67 (4,07 – 5,41)	4,33 (3,81 – 4,99)	< 0,001
ХС ЛПВП, ммоль/л / HDL–C, mmol/L	1,09 (0,92 – 1,28)	1,06 (0,92 – 1,27)	0,422
ХС ЛПНП, ммоль/л / LDL–C, mmol/L	3,23 (2,52 – 3,75)	2,81 (2,25 – 3,39)	< 0,001
ХС ЛПОНП, ммоль/л / VLDL–C, mmol/L	0,44 (0,31 – 0,55)	0,41 (0,3 – 0,53)	0,321

Примечание. * – p – величина критерия Бруннера-Мунцеля.

Note. * – p -value for the Brunner-Munzel test.

Таблица 4 / Table 4

Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у женщин с миомой матки и в контрольной группе
Indicators of lipid peroxidation and antioxidant defense in women with uterine fibroids and in the control group

	Основная группа / Main group $n_1 = 147$	Группа контроля / Control group $n_2 = 894$	p^*
	Median (IQR)		
ДК, мкмоль/л / DC, $\mu\text{mol/L}$	1,29 (1,02 – 1,88)	1,3 (0,98 – 1,68)	0,168
КД-СТ, усл.ед. / KD–CT, arb. units	0,64 (0,43 – 1,04)	0,58 (0,38 – 0,86)	0,029
ТБК-АП, мкмоль/л / TBARS, $\mu\text{mol/L}$	1,41 (1,0 – 1,81)	1,35 (0,93 – 1,82)	0,321
Общая АОА, усл.ед. / TAA, arb. units	11,88 (9,58 – 13,89)	11,68 (9,23 – 14,43)	0,916
СОД, усл.ед. / SOD, arb. units	1,62 (1,51 – 1,76)	1,63 (1,48 – 1,76)	0,726
GSH, ммоль/л / mmol/L	2,27 (1,98 – 2,59)	2,31 (2,02 – 2,62)	0,235
GSSG, ммоль/л / mmol/L	1,89 (1,72 – 2,2)	1,95 (1,74 – 2,17)	0,219
GSH / GSSG	1,18 (1,02 – 1,35)	1,18 (1,01 – 1,38)	0,786
α -токоферол, мкмоль/л / α -tocopherol, $\mu\text{mol/L}$	8,37 (6,28 – 10,61)	7,12 (5,28 – 9,58)	< 0,001
ретинол, мкмоль/л / retinol, $\mu\text{mol/L}$	0,69 (0,58 – 0,86)	0,6 (0,47 – 0,82)	< 0,001
KOC / OSI	1,08 (0,54 – 2,56)	1,14 (0,49 – 2,73)	0,844
KOC < 1 / OSI < 1, n/N (%)	68/132 (51,52)	389/728 (53,43)	0,684**
KOC $\geq$ 1 / OSI $\geq$ 1, n/N (%)	64/132 (48,48)	339/728 (46,57)	

Примечание. * – p – величина критерия Бруннера-Мунцеля, ** – p – величина критерия χ^2 .

Note. * – p -value for the Brunner – Munzel test; ** – p -value for the χ^2 test.

корреляции между процентным содержанием жировой ткани и уровнем жирорастворимых витаминов не выявлено (для ретинола: $r = -0,113$, $p = 0,173$; для α -токоферола: $r = -0,006$, $p = 0,939$).

При анализе характеристик изолированных интерстициальных узлов выявлена положительная корреляция между размером узла и уровнем ДК ($r = 0,41$, $p = 0,0004$), а также положительные связи с ТБК-АП ($r = 0,26$, $p = 0,029$). Отрицательные корреляции наблюдались между размером узла и уровнем ХС ЛПВП ($r = -0,26$, $p = 0,031$), а также общей АОА ($r = -0,41$, $p = 0,0005$). Количество интерстициальных узлов отрицательно коррелировало с содержанием GSH ($r = -0,26$, $p = 0,032$).

Для субсерозных узлов установлены отрицательные корреляции между количеством узлов и уровнем ХС

ЛПВП ($r = -0,39$, $p = 0,039$), а также показателем КД-СТ ($r = -0,39$, $p = 0,035$).

Обсуждение

Избыточная масса тела и ожирение относятся к факторам риска развития ММ [8]. Во многом это связано с изменением метаболизма стероидных гормонов, формированием хронического воспаления и развитием инсулинорезистентности при ожирении [25]. Так, в адипоцитах отмечают повышение периферической конверсии андрогенов в эстрогены посредством фермента ароматазы [6].

В работе А. Vignini и соавт. [16] выявлена связь между толщиной предбрюшинного жира (Preperitoneal fat thickness, PFT) и наличием ММ, в то время как различий по ИМТ между случаями и контролями выявляе-

но не было. В исследовании A. Ciavattini и соавт. также показана ассоциация PFT с наличием ММ (ОШ = 1,27; 95% ДИ: 1,15–1,40; $p < 0,0001$) с пороговым значением 6,7 мм. При этом связь ИМТ и толщины подкожного жира (Subcutaneous fat thickness, SFT) с ММ статистически не значима. Хроническое воспаление, обусловленное висцеральным жиром и связанное с повышенной секрецией адипоцитами TNF- α , Activin A и других адипокинов и цитокинов, может оказывать влияние на формирование хронического воспалительного микроокружения матки, провоцировать аномальную экспрессию компонентов внеклеточного матрикса и стимулировать рост ММ [26]. Таким образом, даже женщины с нормальным весом могут подвергаться повышенному риску ММ при большом скоплении висцерального жира [16, 26].

В основной группе обследованных нами женщин с ММ наблюдалось значимое повышение уровня ОХС и ХС ЛПНП относительно группы контроля, что согласуется с рядом работ, опубликованных ранее. Так, положительная связь между нарушениями липидного обмена (повышенный ОХС, ХС ЛПНП, ТАГ) и риском развития миомы наблюдалась в исследовании O. Uimari и соавт. [27]. Авторами было показано, что повышение на 1 ммоль/л ОХС, ХС ЛПНП и ТАГ увеличивает риск возникновения ММ (ОШ = 1,21; 95% ДИ: 1,05–1,41; ОШ = 1,13, 95% ДИ: 1,02–1,26 и ОШ = 1,27, 95% ДИ: 1,09–1,49).

В работе A. Vignini и соавт. [16] была обнаружена положительная связь ХС ЛПНП с наличием ММ, а также отрицательная – с ХС ЛПВП. В то же время, в данном исследовании в отношении ТАГ и ОХС значимых различий между группами случай-контроль не наблюдалось. Позднее, Sh. Afruza и соавт. была продемонстрирована ассоциация повышенных уровней ТАГ, ОХС, ХС ЛПНП и сниженного ХС ЛПВП с ММ [28].

Согласно современным представлениям, дислипидемия способствует повышению уровня свободных радикалов, что может индуцировать повреждение ДНК и аномальный рост клеток миометрия [15]. В этом контексте выявление более высоких уровней вторичных продуктов ПОЛ (КД-СТ) в группе женщин с ММ согласуется с концепцией о ключевой роли окислительного стресса в патогенезе данного заболевания. При этом отсутствие существенных различий по интегральному показателю КОС между группами, вероятно, отражает компенсаторную активацию антиоксидантной системы в условиях хронического оксидативного стресса.

Отсутствие корреляции между процентным содержанием жировой ткани и уровнем жирорастворимых витаминов у пациенток с миомой, вероятно, может быть свя-

зано с повышенной потребностью в антиоксидантах на фоне окислительного стресса. Ретинол и α -токоферол способны депонироваться в адипоцитах [29, 30] и в условиях окислительного стресса, гипотетически, возможна их «мобилизация» из депо, что может рассматриваться как механизм саногенеза. Действительно, как следует из **таблицы 3**, при ММ характерно повышение уровней α -токоферола и ретинола по отношению к группе контроля.

Отрицательные корреляции между размером узлов и уровнем ХС ЛПВП согласуются с результатами исследования B.N. Turkey и соавт., в котором у пациенток с увеличенным объемом узла (≥ 5 см³) зафиксирована достоверно более низкая концентрация ЛПВП по сравнению с группой женщин, имеющих меньший объем матки (< 5 см³) (Turkey and Rubayae 2023).

Установленные взаимосвязи: прямая – между размером интерстициальных миоматозных узлов и концентрацией ДК и ТБК-АП – продуктами окислительной дегградации липидов, и обратная – с общей АОА и GSH – показателями антиоксидантной защиты, свидетельствуют о потенциальной роли окислительного стресса в патогенезе ММ. Другие исследователи утверждают, что миоматозные узлы могут создавать условия гипоксии из-за неадекватного кровоснабжения и хронического воспаления, что приводит к увеличению выработки АФК и запуску реакций ПОЛ [12]. Таким образом, чем больше миоматозный узел, тем сильнее выражены гипоксия, воспаление и окислительный стресс, что приводит к повышению уровня ДК, ТБК-АП и снижению общей АОА, GSH. Эти маркеры, предположительно, могут служить индикаторами активности патологического процесса при ММ. К тому же, необходимо учитывать локализацию узла, так как они могут иметь разную степень гипоксии.

Можно предположить, что выявленные разнонаправленные корреляционные связи (отрицательная – для субсерозных и положительная – для интерстициальных миоматозных узлов) с маркерами ПОЛ отражают патогенетические различия между данными типами узлов. Разная степень окислительного стресса, вероятно, связана с особенностями метаболизма и кровоснабжения, которые детерминированы их локализацией в миометрии.

Стоит отметить, полученные результаты нуждаются в определенных допущениях, поскольку анализ не учитывал этнический фактор при оценке взаимосвязей между липидным профилем, системой ПОЛ-АОЗ и характеристиками ММ. Полученные данные подчеркивают необходимость дальнейших исследований, направленных на изучение влияния этнической принадлежности на особенности липидного обмена, системы «перекисное окисление

липидов – антиоксидантная защита» и их роль в патогенезе ММ у женщин репродуктивного возраста.

Заключение

Результаты исследования подтверждают значимую роль метаболических нарушений и окислительного стресса в патогенезе ММ. У женщин с ММ выявлены характерные изменения липидного обмена (повышение ОХС и ХС ЛПНП), повышение продуктов ПОЛ (КД-СТ) и компенсаторное увеличение уровня антиоксидантов (α -токоферол, ретинол). Установлена корреляция между размерами и количеством миоматозных узлов независимо от их локализации и маркерами окислительного стресса: выявлена прямая зависимость с концентрацией продуктов перекисного окисления липидов (ДК) и обратная – с показателями антиоксидантной защиты (α -токоферол, ре-

тинол). Установлено, что рост интерстициальных узлов ассоциирован с усилением ПОЛ (повышение ДК, ТБК-АП) и истощением антиоксидантной защиты (снижение общей АОА, GSH, ХС ЛПВП), что подтверждает ключевую роль окислительного стресса в патогенезе ММ. Напротив, для субсерозных узлов обнаружены отрицательные корреляции с маркером ПОЛ (КД-СТ), что свидетельствует о патогенетических различиях в процессе роста узлов в зависимости от их локализации.

Полученные данные подчеркивают потенциальную диагностическую ценность определения биохимических маркеров, таких как ДК, КД-СТ, ТБК-АП, жирорастворимых антиоксидантов, параметров липидограмм для выявления метаболических нарушений, ассоциированных с ММ, которые создают неблагоприятный фон, усугубляя ее рост и клинические проявления.

Литература

(п.п. 1 – 3; 5, 7 – 9; 14 – 21; 23 – 30 см. References)

4. Бабаева Н.И., Наделяева Я.Г., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Егорова И.Ю., Аталян А.В. и др. Распространенность и основные характеристики миомы матки у женщин репродуктивного возраста основных этнических групп Прибайкалья: кросс-секционное исследование. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии* 2024; 23(2): 117–30. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2024-2-117-130>
6. Болотова Е.В., Дудникова А.В., Крутова В.А., Пирожник Е.Г., Кончакова Е.А. Взаимосвязь миомы матки и высокого кардиоваскулярного риска у женщин в перименопаузе. *Доктор. Ру.* 2021; 20(6): 87 – 91. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2021-20-6-87-91>
10. Даренская М.А., Беленькая Л.В., Аталян А.В., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г. и др. Особенности реакций окислительного стресса у женщин репродуктивного возраста с метаболическим синдромом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2022; 174(11): 555 – 9. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-174-11-555-559>
11. Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Лабыгина А.В., Колесникова Л.И. Окислительный стресс и показатели сперматогенеза у мужчин с идиопатическим бесплодием до и после приема этилметилгидроксипиридин малата. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2024; 68(3): 23 – 30. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2024.03.23-30>
12. Даренская М.А., Гончаров И.С., Колесников С.И., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Пародонтит и окислительный стресс: современные тенденции в изучении патогенетической взаимосвязи и способы коррекции. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(1): 81 – 91. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.81-91>
13. Никитина О.А., Даренская М.А., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Система антиоксидантной защиты: регуляция метаболических процессов, генетические детерминанты, методы определения. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022; 42(3): 4 – 17 <https://doi.org/10.18699/SSMJ20220301>
22. Аталян А.В., Ахматтагин Т.А., Даренская М.А., Семёнова Н.В., Курашова Н.А., Гребенкина Л.А. и др. Расчет коэффициента свободно-радикального окисления биосубстратов с учетом этнической принадлежности, возраста и пола пациента. Патент 2023610047, РФ; 2023.

References

1. Stewart E.A., Cookson C.L., Gandolfo R.A., Schulze-Rath R. Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review. *BJOG* 2017; 124(10): 1501–12. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14640>
2. Giuliani E., As-Sanie S., Marsh E.E. Epidemiology and management of uterine fibroids. *Int J Gynaecol Obstet* 2020; 149(1): 3–9. <https://doi.org/10.1002/ijgo.13102>
3. Atalyan A.V., Suturina L.V., Nadelyaeva Ya.G., Lazareva L.M., Shari-fulin E.M., Danusevich I.N. Prevalence of Uterine Fibroids in Women in Eastern Siberia: A Cross-Sectional Study. *IJBM* 2021; 11(4): 515–8. [https://doi.org/10.21103/Article11\(4\)_OA18](https://doi.org/10.21103/Article11(4)_OA18)
4. Babaeva N.I., Nadelyaeva Ya.G., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Egorova I. Yu., Atalyan A.V. et al. Prevalence and main characteristics of uterine fibroids in women of reproductive age of the main ethnic groups of the Baikal region: a cross-sectional study. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii* 2024; 23(2): 117–30. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2024-2-117-130> (In Russian)
5. Ahrendt H-J., Tylkoski H., Rabe T., Szczes A., Friedrich C., Roehl F-W. et al. Prevalence of uterine myomas in women in Germany: data of an epidemiological study. *Arch Gynecol Obstet* 2016; 293(6): 1243–53. <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3930-8>

6. Bolotova E.V., Dudnikova A.V., Krutova V.A., Pirozhnik E.G., Konchakova E.A. Association Between Uterine Fibroid and High Cardiovascular Risk in Premenopausal Women. *DR* 2021; 20(6): 87–91. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2021-20-6-87-91> (In Russian)
7. Kn S., Shetty S.S., Shetty P. Lipid-laden uterus: Investigating uterine fibroids and lipid association. *Pathol Res Pract* 2025; 266:155772. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2024.155772>
8. Narwal S., Vashist M., Kaushik R., Kalra V., Hooda R., Singh S. A systematic review on uterine leiomyoma: from pathogenomics to therapeutics. In: Abdul Hamid G, editor. *Soft tissue sarcoma and leiomyoma – diagnosis, management, and new perspectives*. London: *IntechOpen*; 2024. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1002877>
9. Turkey B.N., Rubayae B.J.A. Possible association between lipid profile and uterine fibroid size. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* 2023; 12(7): 1969–74. <https://doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20231905>
10. Darenskaya M.A., Belenkaya L.V., Atalyan A.V., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., et al. Features of oxidative stress reactions in women of reproductive age with metabolic syndrome. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2022; 174(11): 555 – 9. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-174-11-555-559> (In Russian)
11. Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Labygina A.V., Kolesnikova L.I. Oxidative stress and spermatogenesis parameters in men with idiopathic infertility before and after ethylmethylhydroxypyridine malate treatment. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2024; 68(3): 23 – 30. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2024.03.23-30> (In Russian)
12. Darenskaya M.A., Goncharov I.S., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. Periodontitis and oxidative stress: modern trends in the study of pathogenetic relationships and methods of correction. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2025; 69(1): 81 – 91. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.81-91> (In Russian)
13. Nikitina O.A., Darenskaya M.A., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. Antioxidant defense system: regulation of metabolic processes, genetic determinants, methods of determination. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* 2022; 42(3): 4–17. <https://doi.org/10.18699/SSMJ20220301> (In Russian)
14. Jelic M.D., Mandic A.D., Maricic S.M., Srdjenovic B.U. Oxidative stress and its role in cancer. *J Cancer Res Ther*. 2021; 17(1): 22 – 8. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_862_16
15. AlAshqar A., Lulseged B., Mason-Otey A., Liang J., Begum U.A.M., Afrin S. et al. Oxidative Stress and Antioxidants in Uterine Fibroids: Pathophysiology and Clinical Implications. *Antioxidants (Basel)* 2023; 12(4): 807. <https://doi.org/10.3390/antiox12040807>
16. Vignini A., Sabbatinelli J., Clemente N., Delli Carpini G., Tasseti M., Zagaglia G. et al. Preperitoneal Fat Thicknesses, Lipid Profile, and Oxidative Status in Women With Uterine Fibroids. *Reprod Sci* 2017; 24(10): 1419–25. <https://doi.org/10.1177/1933719116689598>
17. Markowska A., Mardas M., Gajdzik E., Zagrodzki P., Markowska J. Oxidative stress markers in uterine fibroids tissue in pre- and postmenopausal women. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol*. 2015; 42(6): 725–9. <https://doi.org/10.12891/ceog2002.2015>
18. Santulli P., Borghese B., Lemaréchal H., Leconte M., Millischer A-E., Batteux F. et al. Increased serum oxidative stress markers in women with uterine leiomyoma. *PLoS One* 2013; 8(8): e72069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072069>
19. Vural M., Camuzcuoglu H., Toy H., Camuzcuoglu A., Aksoy N. Oxidative stress and prolidase activity in women with uterine fibroids. *J Obstet Gynaecol* 2012; 32(1): 68–72. <https://doi.org/10.3109/01443615.2011.633718>
20. Ciebia M., Szymańska-Majchrzak J., Sentkowska A., Kilian K., Rogulski Z., Nowicka G. et al. Alpha-Tocopherol Serum Levels Are Increased in Caucasian Women with Uterine Fibroids: A Pilot Study. *Biomed Res Int* 2018; 6793726. <https://doi.org/10.1155/2018/6793726>
21. Suturina L.V., Lizneva D., Lazareva L.M., Danusevich I.N., Nadeliaeva I.G., Belenkaya L.V. et al. Ethnicity and the Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome: The Eastern Siberia PCOS Epidemiology and Phenotype Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2024; 110(1): e32–e43. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgae424>
22. Atalyan A.V., Akhmattat T.A., Darenskaya M.A., Semenova N.V., Kurashova N.A., Grebenkina L.A., et al. Calculation of the coefficient of free radical oxidation of biosubstrates taking into account the ethnicity, age and gender of the patient. Patent 2023610047, RF; 2023. (In Russian)
23. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria; 2024. Available from: URL: <https://www.R-project.org/>
24. Brunner E., Munzel U. The Nonparametric Behrens-Fisher Problem: Asymptotic Theory and a Small-Sample Approximation. *Biomet. J.* 2000; 42(1): 17–25. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4036\(200001\)42:1<17::AID-BIMJ17>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4036(200001)42:1<17::AID-BIMJ17>3.0.CO;2-U)
25. Tak Y.J., Lee S.Y., Park S.K., Kim Y.J., Lee J.G., Jeong D.W. et al. Association between uterine leiomyoma and metabolic syndrome in parous premenopausal women: A case-control study. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(46): e5325. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005325>
26. Ciavattini A., Delli Carpini G., Moriconi L., Clemente N., Orici F., Boschi A.C. et al. The association between ultrasound-estimated visceral fat deposition and uterine fibroids: an observational study. *Gynecol Endocrinol* 2017; 33(8): 634–7. <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1302418>
27. Uimari O., Auvinen J., Jokelainen J., Puukka K., Ruokonen A., Järvelin M-R. et al. Uterine fibroids and cardiovascular risk. *Hum Reprod* 2016; 31(12): 2689–703. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew249>
28. Afruza S., Hossain A.A., Jahan J., Sharmin A., Naznin H., Md Shameem. Association of Dyslipidemia with Uterine Fibroid: A Case Control Study. *TAJ: J of Teachers Assoc* 2021; 33(2): 100–6. <https://doi.org/10.3329/taj.v33i2.51346>
29. Ciarcià G., Bianchi S., Tomasello B., Acquaviva R., Malfa G.A., Naletova I et al. Vitamin E and Non-Communicable Diseases: A Review. *Biomedicine* 2022; 10(10): 2473. <https://doi.org/10.3390/biomedicine10102473>
30. Marazo A., Macáková K., Matoušová K., Krčmová L.K., Protti M., Mladěnka P. Vitamin A Update: Forms, Sources, Kinetics, Detection, Function, Deficiency, Therapeutic Use and Toxicity. *Nutrients* 2021; 13(5): 1703. <https://doi.org/10.3390/nu13051703>

Сведения об авторах:

Аталян Алина Валерьевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. гинекологии, андрологии и репродукции, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: atalyan@sbamsr.irk.ru

Сутурина Лариса Викторовна, доктор мед. наук, проф., гл. науч. сотр., рук. отд. охраны репродуктивного здоровья, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru

Даренская Марина Александровна, доктор биол. наук, проф. РАН, гл. науч. сотр., рук. лаб. патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Машукова Анастасия Константиновна, лаборант-исследователь лаб. гинекологии, андрологии и репродукции, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: imshel@mail.ru

Курашова Надежда Александровна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nakurashova@yandex.ru

Данусевич Ирина Николаевна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр., рук. лаб. гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: irinaemails@gmail.ru

Лазарева Людмила Михайловна, доктор мед. наук, ст. науч. сотр., рук. лаб. гинекологии, андрологии и репродукции, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lirken_@mail.ru

Наделяева Яна Геннадьевна, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ianadoc@mail.ru

Колесникова Любовь Ильинична, доктор мед. наук, проф., академик РАН, науч. рук. ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

© Коллектив авторов, 2026

УДК 615.917/616.24-005.98

Шустов Е.Б.¹, Мельникова М.В.¹, Шемаев М.Е.¹, Потапов П.К.^{1,2}, Фомичев А.В.², Золотоверхая Е.А.¹,
Ватаева А.А.¹, Бондаренко А.А.¹, Шульц А.В.¹, Остров В.Ф.¹

Содержание свинца и нейроспецифических белков в крови и тканях мозга, а также особенности сенсомоторных реакций в различные сроки после острой интоксикации ацетатом свинца

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», 192019, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1

²Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д.6

Введение. Одним из наиболее опасных для здоровья человека тяжелых металлов является свинец, что обуславливается его влиянием на различные метаболические пути. Основными органами-мишенями при отравлении свинцом являются кроветворная и нервная системы, почки. Сатурнизм, или отравление свинцом на уровне нервной системы, проявляется поражением головного мозга и периферических нервов. **Цель исследования** заключалась в установлении зависимости проявлений нейротоксичности свинца, выявляемых по динамике нейроспецифических белков, нарушения сенсорной реакции на раздражители различных модальностей от его концентрации в крови и тканях.

Методика. Лабораторных животных (здоровые нелинейные белые крысы-самцы с массой тела на начало исследования 180–220 г) подвергали острой интоксикации ацетатом свинца (300 мг/кг, что соответствует стандартной дозе LD₅₀). На 3, 15 и 29 сутки после острой интоксикации у выживших животных забирались венозная кровь и образцы тканей головного мозга, почек, печени, в которых определялась концентрация свинца. Также на 3 и 29 сутки проводилось определение нейроспецифических белков (NSE, BDNF, MBP и белка S100) в сыворотке крови, ликворе и гомогенате ткани мозга методом иммуноферментного анализа. У выживших после острой интоксикации животных устанавливали показатели реакции на внезапный световой, звуковой и электрошоковый стимулы на компьютеризированной тестовой системе количественной оценки рефлекса испуга у лабораторных животных TSE Startle Response System (TSE, Германия). Регистрировали сенсорные реакции животных в ответ на три стимула разной модальности на 3 и 29 сутки.

Результаты. Максимально высокая летальность животных отмечалась на вторые сутки постинтоксикационного периода, когда регистрировали нарастание концентрации свинца в тканях мозга до критического уровня. На основании показателей летальности выявлен интересный факт, что крысы существенно различаются по уровню индивидуальной чувствительности к токсическому действию свинца. Анализ концентрации нейротрофических белков в сыворотке крови и тканях показал негативное влияние свинца на репаративную систему мозга, связанную с нейротрофическими факторами. Нейрофизиологический тест локомоторной реакции на внезапный стимул Startle Response System у выживших после острой интоксикации свинцом животных выявил истощение ответной реакции при повторном воздействии светового и звукового стимулов на этапе формирования отдаленных последствий острой интоксикации.

Заключение. Выявлено, что тяжесть состояния животных и их гибель после острого отравления ацетатом свинца не зависит от его концентрации в крови. Сделано предположение, что тела нейронов более чувствительны к токсическому действию свинца, чем клетки нейроглии.

Ключевые слова: свинец; острое отравление; отдаленные последствия отравлений; нейроспецифические белки; сенсорные реакции; рефлекторный ответ

Для цитирования: Шустов Е.Б., Мельникова М.В., Шемаев М.Е., Потапов П.К., Фомичев А.В., Золотоверхая Е.А., Ватаева А.А., Бондаренко А.А., Шульц А.В., Остров В.Ф. Содержание свинца и нейроспецифических белков в крови и тканях мозга, а также особенности сенсомоторных реакций в различные сроки после острой интоксикации ацетатом свинца. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 61–73.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.61-73

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Шустов Е.Б., Мельникова М.В.; сбор и обработка материала – Мельникова М.В., Шемаев М.Е., Золотоверхая Е.А., Шульц А.В.; статистическая обработка матери-

ала – Шустов Е.Б., Потапов П.К.; написание текста – Мельникова М.В., Потапов П.К., Бондаренко А.А., окончательное утверждение для публикации – Шустов Е.Б., Фомичев А.В.; подготовка иллюстративного материала – Ватаева А.А., Бондаренко А.А., редактирование – Потапов П.К., Шемаев М.Е., Ватаева А.А., Остров В.Ф.

Для корреспонденции: *Потапов Петр Кириллович*, кандидат медицинских наук, докторант Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации; старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: forwardspb@mail.ru

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России (протокол № 4/24 от 04.04.2024). Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016 и Рекомендациями Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

Финансирование. Работа была выполнена в рамках выполнения Государственного задания ФМБА России № 388-00071-24-00 (код темы 64.004.24.800).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.03.2025

Принята к печати 20.08.2025

Опубликована 27.03.2026

Shustov E.B.¹, Melnikova M.V.¹, Shemaev M.E.¹, Potapov P.K.^{1, 2}, Fomichev A.V.², Zolotoverkhaya E.A.¹, Vataeva A.A.¹, Bondarenko A.A.¹, Shultz A.V.¹, Ostrov V.F.¹

Content of lead and neurospecific proteins in blood and brain tissue, as well as features of sensorimotor reactions at different times after acute lead acetate intoxication

¹The Federal State-Financed Institution Golikov Research Clinical Center of Toxicology under the Federal Medical Biological Agency, 192019, Russian Federation, Saint-Petersburg, Bekhtereva Street, 1

²The Federal State Budgetary Military educational institution of higher education «Military Medical Academy» of the Ministry of defence of the Russian Federation, 194044, Russian Federation, Saint-Petersburg, Academician Lebedev Street, 6

Introduction. Lead is one of the most hazardous heavy metals for human health due to its effect on various metabolic pathways. The main target organs in lead poisoning are the hematopoietic and nervous systems, and the kidneys. Saturnism or lead poisoning at the level of the nervous system is manifested by damage to the brain and peripheral nerves. **The aim of the study** was to establish the dependence of lead neurotoxicity manifestations, detected by the dynamics of neurospecific proteins, impaired sensory response to stimuli of various modalities on its concentration in the blood and tissues.

Methodology. Laboratory animals (healthy nonlinear white male rats with a body weight of 180–220 g at the beginning of the study) were subjected to acute intoxication with lead acetate (300 mg/kg, which corresponds to the standard dose LD₅₀). On the 3rd, 15th and 29th days after acute intoxication, venous blood and tissue samples of the brain, kidneys, and liver were taken from the surviving animals, in which the lead concentration was determined. Also, on days 3 and 29, neurospecific proteins (NSE, BDNF, MBP and S100 protein) were determined in the blood serum, cerebrospinal fluid and brain tissue homogenate using the enzyme immunoassay method. In animals that survived acute intoxication, the response rates to sudden light, sound and electric current stimuli were determined using the TSE Startle Response System (TSE, Germany), a computerized test system for quantitative assessment of the startle reflex in laboratory animals. Sensory reactions of animals in response to three stimuli of different modality were recorded on days 3 and 29.

Results. The highest mortality rate of animals was observed on the second day of the post-intoxication period, when an increase in lead concentration in brain tissues to a critical level was recorded. Based on the mortality rates, an interesting fact was revealed that rats differ significantly in the level of individual sensitivity to the toxic effect of lead. Analysis of the concentration of neurotrophic proteins in the blood serum and tissues showed a negative effect of lead on the reparative system of the brain associated with neurotrophic factors. Neurophysiological test of the locomotor reaction to a sudden stimulus Startle Response System in animals that survived acute lead intoxication revealed depletion of the response to repeated exposure to light and sound stimuli at the stage of formation of remote consequences of acute intoxication.

Conclusion. It was revealed that the severity of the condition of animals and their death after acute poisoning with lead acetate does not depend on its concentration in the blood. It was suggested that neuron bodies are more sensitive to the toxic effect of lead than neuroglial cells.

Keywords: lead; acute poisoning; remote effects of poisoning; neurospecific proteins; sensory reactions; reflex response

For citation: Shustov E.B., Melnikova M.V., Shemaev M.E., Potapov P.K., Fomichev A.V., Zolotoverkhaya E.A., Vataeva A.A., Bondarenko A.A., Shults A.V., Ostrov V.F. The content of lead and neurospecific proteins in the blood and brain tissue, as well as the features of sensorimotor reactions at different times after acute lead acetate intoxication. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal).* 2026; 70(1): 61–73. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.61-73

Author's contribution: the concept and design of the study were developed by E.B. Shustov, M.V. Melnikova; data collection and processing by M.V. Melnikova, M.E. Shemaev, E.A. Zolotoverkhaya, A.V. Shults; statistical processing of the material by E.B. Shustov, P.K. Potapov; text writing by M.V. Melnikova, P.K. Potapov, A.A. Bondarenko; final approval for publication by E.B. Shustov, A.V. Fomichev; preparation of illustrations by A.A. Vataeva, A.A. Bondarenko; editing by P.K. Potapov, M.E. Shemaev, A.A. Vataeva, V.F. Ostrov.

For correspondence: **Petr K. Potapov**, candidate of medical sciences, the doctoral student of The Federal State Budgetary Military educational institution of higher education «Military Medical Academy» of the Ministry of defence of the Russian Federation; the senior researcher of The Federal State-Financed Institution Golikov Research Clinical Center of Toxicology under the Federal Medical Biological Agency, e-mail: forwardspsb@mail.ru

Information about the authors:

Evgeniy Borisovich Shustov, <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>

Margarita Viktorovna Melnikova, <https://orcid.org/0000-0002-2996-5151>

Shemaev Mikhail Evgenievich, <https://orcid.org/0000-0001-6062-0437>

Petr Kirillovich Potapov, <https://orcid.org/0000-0002-4602-4468>

Aleksey Vyacheslavovich Fomichev, <https://orcid.org/0000-0002-9640-7168>

Ekaterina Andreevna Zolotoverkhaya, <https://orcid.org/0000-0002-9708-2596>

Alena Andreevna Vataeva, <https://orcid.org/0000-0003-4232-4882>

Anastasia Aleksandrovna Bondarenko, <https://orcid.org/0000-0002-9754-1537>

Alena Viktorovna Shultz, <https://orcid.org/0000-0002-9809-0678>

Vladimir Fedorovich Ostrov, <https://orcid.org/0009-0008-1410-806X>

Financing. This study was carried out within the framework of the State assignment of the Federal Medical and Biological Agency of Russia No. 388-00071-24-00 (topic code 64.004.24.800).

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

Received 06.03.2025

Accepted 20.08.2025

Published 27.03.2026

Введение

Согласно оценкам, приведенным в публикации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) «Воздействие химических веществ на здоровье населения: известное и неизвестное» за 2021 г., почти половина из 2 млн случаев смерти, вызванных воздействием установленных химических веществ в 2019 г., произошла по причине воздействия свинца. Долгосрочные последствия для здоровья, вызванные воздействием свинца, по оценкам, приводят к утрате 21,7 млн лет жизни вследствие инвалидности и смерти (годы жизни, скорректированные на инвалидность, DALY), включая 30% глобального бремени идиопатических интеллектуальных расстройств, 4,6%

глобального бремени сердечно-сосудистых заболеваний и 3% бремени хронических заболеваний почек [1].

Основными «зонами поражения» при интоксикации свинцом являются структуры префронтальной коры головного мозга, гиппокампа и мозжечка, повреждение которых может привести к различным неврологическим расстройствам, среди которых поведенческие и когнитивные нарушения: снижение памяти, скорости обработки информации, зрительно-пространственных навыков, моторики. В клинической практике неврологическая картина отравления свинцом характеризуется эпилептиформными припадками, асимметрией иннервации черепными нервами, анизокорией, гиперкинезами, атаксией, дизартрией, повышением сухожильных рефлексов, тремором

пальцев рук, нейропатическими болями в конечностях, нистагмом [2].

При отравлении свинцом на фоне окислительного стресса развиваются признаки воспаления: лейкоцитоз, лимфоцитоз, снижение содержания общего белка, альбуминов [3]. В эксперименте было показано генотоксическое действие свинца, вызванное повреждением образования гема и повышением синтеза цитохрома P450 в печени [4]. Было установлено, что около 80% свинца, попавшего в организм, депонируется в костной ткани, оставшиеся 20% распределяются в остальных тканях, связываясь с сульфгидрильными группами белков и образуя токсические соединения [5-7]. В головном мозге выражен диффузный отек серого и белого вещества в сочетании с дистрофическими изменениями кортикальных и ганглионарных нейронов, демиелинизация белого вещества [8].

Одним из механизмов ангиотоксического действия свинца является активация сигнальных путей митоген-активируемой протеинкиназы, которая запускает каскад реакций синтеза провоспалительных белков, приводящий к увеличению сосудистого сопротивления и артериального давления [9].

В литературе практически отсутствуют работы, в которых бы возникновение токсических эффектов было бы сопоставлено с содержанием свинца в тканях. Ранее нами было показано [10], что нейроспецифические белки, определяемые в тканях мозга в отдаленный период после тяжелых острых отравлений нейротропными токсикантами, в том числе ацетатом свинца, чувствительны как к факту интоксикации, так и к виду токсиканта, однако, их связь с концентрацией свинца в тканях мозга, ликворе и крови не была изучена. В связи с этим **целью** работы было установление зависимости проявлений нейротоксичности свинца, выявляемых по динамике нейроспецифических белков, нарушению сенсорной реакции на раздражители различных модальностей, от его концентрации в крови и тканях.

Методика

Экспериментальное исследование выполнено на 45 самцах крыс с массой тела 180–220 г. В качестве нейротропного токсиканта был использован ацетат свинца (ООО АО «Реахим», Россия) в/б в дозе 300 мг/кг (что соответствует стандартной дозе LD₅₀) в виде 5% водного раствора с pH 6–7. На 3, 15 и 29 сутки после острой интоксикации у выживших животных забиралась венозная кровь и образцы тканей головного мозга, почек, печени, в которых определялась концентрация свинца. Определение нейроспецифических белков (NSE, BDNF, MBP и белка S100) в сыворотке крови, ликворе и гомогенате

ткани мозга животных осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов («Cloud-Clone Corp», США) согласно инструкции производителя на 3 и 29 сутки.

Ввиду того, что при воздействии свинца даже в низких концентрациях отмечается замедление моторных и сенсорных реакций [11], в качестве нейрофизиологического маркера нарушений функций рефлекторной деятельности мозга у выживших после острой интоксикации животных использовались показатели реакции на внезапный световой, звуковой и электротоковый стимул на компьютеризированной тестовой системе количественной оценки рефлекса испуга у лабораторных животных TSE Startle Response System («TSE», Германия). Перед проведением исследования животные были адаптированы к пребыванию в исследовательской камере установки. На 3 и 29 сутки регистрировали сенсорные реакции животных в ответ на три стимула разной модальности по следующему алгоритму:

1. Адаптация крысы к рабочей камере (белый шум 55 Дб) – 2 мин;
2. Вычисление триггерных значений – 30 с;
3. Запись в состоянии покоя – 30 с;
4. Интервал – 1 с;
5. Запись 100 мс + подача светового стимула в течение 40 мс + запись 300 мс + интервал между стимулами 5 с (повторение трижды);
6. Интервал – 15 с;
7. Запись 100 мс + подача звукового стимула в виде белого шума 115 Дб в течение 40 мс + запись 300 мс + интервал между стимулами 5 с (повторение трижды);
8. Интервал – 15 с;
9. Запись 100 мс + подача электроболевого стимула силой в 1 мА в течение 40 мс + запись 300 мс + интервал между стимулами 30 с (повторение трижды).

В режиме анализа данных вычислялись: латентный период, продолжительность первого (главного) пика реакции, максимальная длительность колебательного процесса на кривой реакции после стимула, максимальная амплитуда пиков, количество пиков в постстимульном периоде. Так как каждый стимул воздействовал на животных трижды, анализировались усредненные значения ответов на стимул, а также, в качестве дополнительной нейрофизиологической информации, индекс нарастания ответа (ИНО, отношение значения при 3-м стимуле к первому), который характеризует процессы суммации импульсов в таламусе, их сенситизации или угасания.

Статистическая обработка полученных экспериментальных данных осуществлялась в программах Excel и Statistica v.10. Достоверность различий между группами и точками наблюдений оценивалась по ранговому непараметрическому критерию Вилкоксона-Манна-Уитни, взаимосвязи между показателями – методом рангового корреляционного анализа по Спирмену, достоверность влияния контролируемого фактора – по критерию Краскела-Уоллиса.

Результаты

Суммарно за период наблюдения (29 суток) после тяжелого острого отравления ацетатом свинца погибло 14 животных (летальность 44%).

На 3, 15 и 29 сутки после острой интоксикации у выживших животных забиралась венозная кровь и образцы тканей (головной мозг, почки, печень), в гомогенате которых определялась концентрация свинца (табл. 2).

Наличие повышенных концентраций свинца в тканях мозга спустя 4 недели после острой интоксикации послужило основанием для изучения особенностей его нейротоксического действия. В качестве маркеров повреждения ткани мозга были выбраны нейроспецифические белки, отражающие нарушения энергетических процессов в телах нейронов (активность нейронспецифической

енолазы, NSE), повреждения белого вещества мозга (основной белок миелина, MBP), нейроглии (кальций-связывающий белок S100), а также особенности репаративных процессов (нейротрофический фактор мозга BDNF). С учетом того, что в литературе известно несколько подходов к их определению в различных биосредах, было проведено их изучение в плазме крови, ликворе и гомогенате ткани мозга. Результаты такого определения представлены в таблице 3.

Типовая картина зарегистрированной локомоторной реакции животных на внезапный сенсорный стимул (реакция испуга) представлена на рисунке 1.

Результаты нейрофизиологических исследований у выживших после острой интоксикации животных и интактного контроля на 3 и 29 сутки после отравления ацетатом свинца представлены в таблице 4.

Обсуждение

Картина острого отравления после в/б введения крысам ацетата свинца в дозе 300 мг/кг (соответствует LD₅₀) проявлялась на протяжении 2 суток, с нарастанием к середине вторых суток, и далее, либо переходила в гибель животных, либо наступал быстрый регресс симптоматики к исходу пятых суток. При начальных проявлениях интоксикации, с учетом в/б пути введения свинца, пре-

Таблица 1 / Table 1

Динамика признаков интоксикации при отравлении ацетатом свинца (кол-во животных)
Dynamics of signs of intoxication in lead acetate poisoning (number of animals)

Признак Sign	День 0 Day 0	День 1 Day 1	День 2 Day 2	День 3 Day 3	День 4 Day 4	День 15 Day 15	День 29 Day 29
Без признаков интоксикации No signs of intoxication	30	0	0	0	0	10	2
Раздражение брюшины Peritoneal irritation	–	0	0	4	8	2	0
+ энтеротоксический симптомокомплекс + enterotoxic symptom complex	–	21	23	19	9	5	2
+ угнетение ЦНС + CNS depression	–	7	3	3	1	0	1
Гибель Death	–	2	2	0	0	1	9
Выведены из исследования Withdrawn from the study	–	–	–	8	–	3	5
Число живых на конец дня Number of living at the end of the day	30	28	26	18	18	14	0

Таблица 2 / Table 2

Содержание свинца в тканях лабораторных животных на 3, 15, 29 сутки после острого отравления ацетатом свинца (внутрибрюшинно 300 мг/кг в виде 5% водного раствора), Me [Q₁; Q₃]

Lead content in tissues of laboratory animals on days 3, 15, 29 after acute poisoning with lead acetate (intraperitoneal 300 mg/kg in the form of a 5% aqueous solution), Me [Q₁; Q₃]

Группа Group	Содержание свинца в тканях (M ± m) Lead content in tissues (M ± m)			
	кровь (мкг/л) blood (mcg/l)	мозг (мкг/г) brain (mcg/g)	почки (мкг/г) kidneys (mcg/g)	печень (мкг/г) liver (mcg/g)
Интактные Intact (n = 15)	10,19 [9,5; 11]	1,36 [1,2; 1,5]	2,05 [1,8; 2,4]	1,15 [1,05; 1,25]
Свинец, 3 сутки Lead, 3 days (n = 6)	124,9 [124; 125,8]	102,5 [101; 104]	135,5 [134; 137]	9669 [9500; 9850]
Свинец, 15 сутки Lead, 15 days (n = 3)	585 [584; 586]	86,7 [86; 87]	5363 [5361; 5365]	994 [950; 1050]
Свинец, 29 сутки Lead, 29 days (n = 5)	1660 [1645; 1675]	109,6 [108,5; 110,5]	622 [620,5; 623,5]	888 [886,5; 889,5]

валирующими симптомами были симптомы раздражения брюшины – положение животного на животе, подгибая задние лапы, брюшные мышцы напряжены («горбатые»), при этом наблюдалось выраженное снижение двигательной активности, но через 60–90 минут после введения крысы начинали активно употреблять корм и воду, двигательная активность приобретала повышенный характер. При нарастании тяжести симптомов к этим признакам присоединялся энтеропатогенный симптомокомплекс (вздутие живота, положение на животе и избегание движений, напряжение мышц спины и живота, прекращение потребления пищи и воды). В дальнейшем в картине интоксикации доминировало резкое снижение двигательной активности, прекращался прием пищи и воды. Если в этой фазе интоксикации животное не погибало, то далее возникала быстрая нормализация внешнего вида и поведения животных.

Изучение результатов определения содержания свинца в тканях крыс после острого отравления ацетатом свинца позволило выявить факт, что у интактных животных на минимальном уровне отмечалось присутствие свинца в крови и тканях, вероятно, за счет возможного

нахождения его в следовых количествах в корме и водопроводной воде. При этом между концентрациями свинца в крови и тканях отсутствует статистически значимая корреляционная связь (так, для ткани мозга коэффициент корреляции равен 0,004, для ткани почек – –0,18, для ткани печени – –0,34, все – не достоверны). Как следует из анализа соотношения концентрации свинца в тканях и крови, распределение свинца по организму неравномерное (в тканях его в 5–10 раз меньше), следовательно, тяжелые металлы (и свинец в частности) формируют кровяное депо, вероятно за счет образования непроникающих через гистогематические барьеры аддуктов с транспортными белками крови и эритроцитами. Полученные результаты подтверждают, что у интактных животных транспорт свинца из крови в органы осуществляется без участия механизмов простой или облегченной диффузии, так как наличие этих механизмов сопровождалось бы положительной корреляционной связью между значениями содержания свинца в крови и тканях.

При анализе данных **таблицы 2** обращает на себя внимание, что в течение периода наблюдения у некоторых животных после в/б введения ацетата свинца сохранялся

Таблица 3 / Table 3

Концентрации нейроспецифических белков в сыворотке крови, ликворе и гомогенате ткани мозга у выживших животных на 3 и 29 сутки после острого отравления ацетатом свинца в дозе 300 мг/кг, Ме [Q₁; Q₃]

Concentrations of neurospecific proteins in blood serum, cerebrospinal fluid and brain tissue homogenate in surviving animals on days 3 and 29 after acute poisoning with lead acetate at a dose of 300 mg/kg, Me [Q₁; Q₃]

Показатель Indicator	Кровь Blood	Ликвор Liquor	Мозг Brain	Кровь Blood	Ликвор Liquor	Мозг Brain
	3 сутки 3 days					
	Контроль Control (n = 6)			Ацетат свинца Lead acetate (n = 6)		
BDNF (пг/мл) (pg/ml)	196 [88; 214]	5106 [0; 26429]	нд	238 [160; 268]	9381 [464; 12565]	нд
MBP (нг/мл) (ng/ml)	0,0 [0,0; 0,0]	3,41 [2,56; 3,98]	нд	0,0 [0,0; 0,0]	1,28 [0,01; 11,26]	нд
NSE (нг/мл) (ng/ml)	0,0 [0,0; 0,9]	1,14 [0,0; 16,47]	нд	0,09 [0,08; 0,1]	0,0 [0,0; 0,02]	нд
S100 (нг/мл, нг/г белка^) (ng/ml, ng/g protein^)	0 [0,0; 0,2]	0,0 [0,0; 0,0]	нд	0,125 [0,06; 0,13]	0,0 [0,0; 0,0]	нд
	29 сутки 29 days					
	Контроль Control (n = 6)			Ацетат свинца Lead acetate (n = 5)		
BDNF (пг/мл, пг/г белка^) (pg/ml, pg/g protein^)	293 [178; 606]	4740 [0; 5552]	13,88 [3,12; 51,72]	279 [37; 378]	2055 [588; 3516]	16,83 [12,17; 32,89]
MBP (нг/мл, нг/г белка^) (ng/ml, ng/g protein^)	0 [0; 0]*	0,09 [0,0; 0,61]	0,98 [0,45; 1,08]	0,01 [0,0; 0,04]	0,10 [0,0; 0,28]	0,50 [0,44; 062]
NSE (нг/мл, нг/г белка^) (ng/ml, ng/g protein^)	0,0 [0,0; 0,0]*	0,0 [0,0; 34,77]	0 [0; 0]*	0,0 [0,0; 0,0]*	0,0 [0,0; 25,5]	0,13 [0,0; 0,15]
S100 (нг/мл, нг/г белка^) (ng/ml, ng/g protein^)	0,02 [0,0; 0,08]	0,0 [0,0; 0,0]*	0,0 [0,0; 0,02]	0,07 [0,0; 0,23]	0,0 [0,0; 0,06]	0,0 [0,0; 0,02]

Примечания. 0* – ниже порога определения; ^ – для ткани мозга; нд – нет данных (не исследовалось).

Notes. 0* – below detection limit; ^ – for brain tissue; nd – no data (not studied).

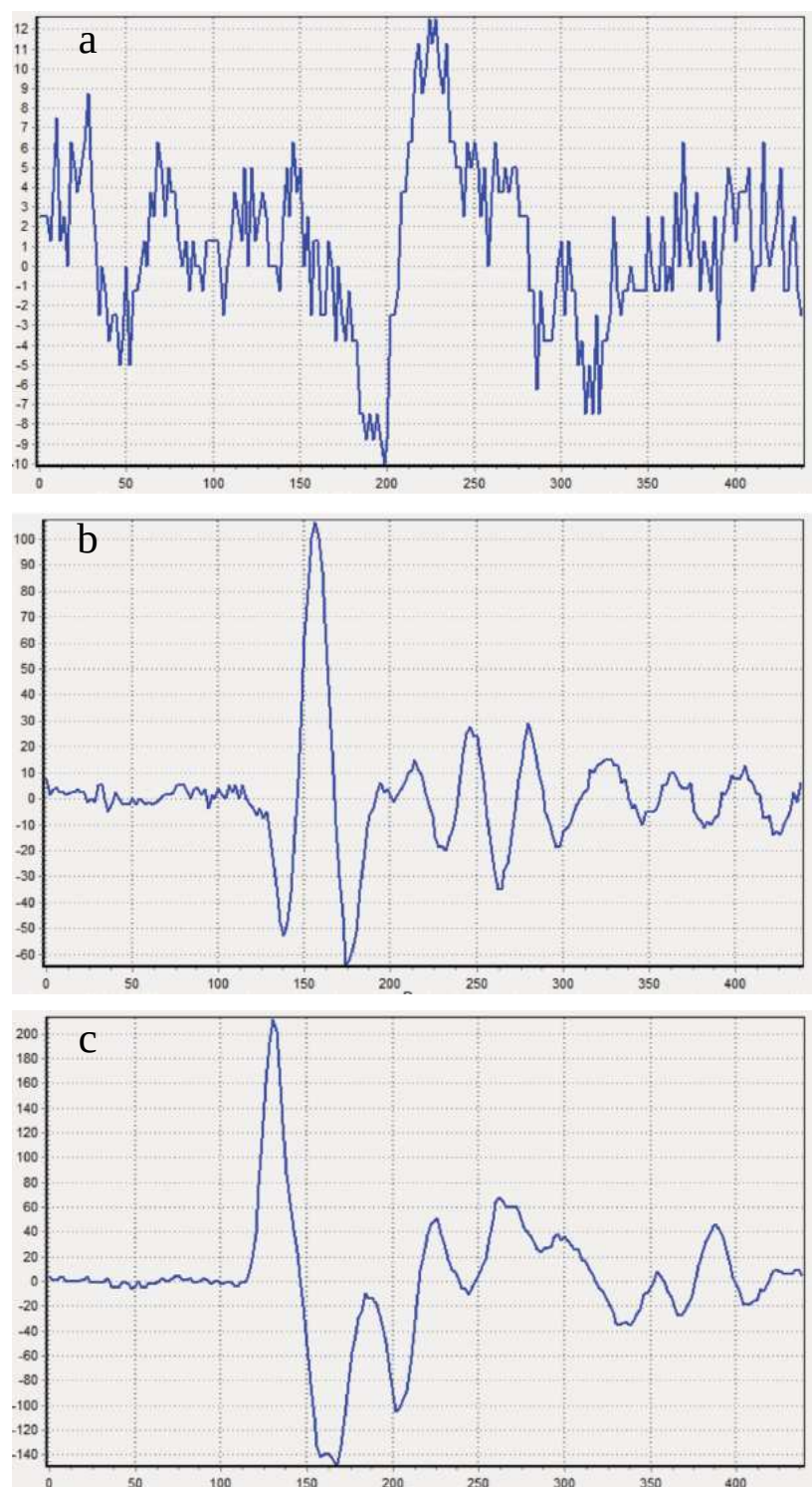


Рис. 1. Типовые картины зарегистрированной локомоторной реакции животных на стимул: а) Свет, б) Шум, в) Электрический ток. (Вертикальная ось: величина давления на пластину (мг), Горизонтальная ось: время (мс).)

Fig. 1. Typical pictures of the recorded locomotor response of animals to a stimulus: a) Light, b) Noise, c) Electric current. (Vertical axis: pressure on the plate (mg), Horizontal axis: time (ms).)

Таблица 4 / Table 4

Показатели рефлексорной реакции животных на резкий стимул на 3 и 29 сутки после острого отравления свинцом (тест Startle Response System, выжившие животные, Me [Q₁; Q₃])

Indicators of the reflex response of animals to a sharp stimulus on the 3rd and 29th days after acute lead poisoning (Startle Response System test, surviving animals, Me [Q₁; Q₃])

Показатель Indicator	Точка исследования Research point	Контрольная группа Control group	Ацетат свинца Lead acetate	Различия между группами Differences between groups
Стимул – свет Stimulus – light				
ЛП _{инс} (отн. ед) LP _{ins} (rel. units)	3 день (n = 12)	0,7 [0,5; 2,0]	0,3 [0,0; 0,33]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	0,4 [0,0; 0,5]	1,1 [0,1; 3,6]	↑, p = 0,05
ДР _{ср} (мс) DR _{avg} (ms)	3 день (n = 12)	15,3 [6,0; 44,0]	8,6 [6,6; 10,0]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	12,7 [5,3; 21,3]	14,0 [10,0; 18,7]	
ДР _{инс} (отн. ед) DR _{ins} (rel. units)	3 день (n = 12)	5,8 [1,9; 11,6]	1,6 [0,7; 3,6]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	0,5 [0,5; 1,5]	0,4 [0,2; 0,5]	
АР _{ср} (ед) AR _{avg} (units)	3 день (n = 12)	26,0 [19,0; 43,0]	22,3 [14,0; 33,3]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	13,5 [10,7; 15,3]	10,3 [8,7; 16,7]	
Стимул – звук Stimulus – sound				
ДР _{инс} (отн. ед) DR _{ins} (rel. units)	3 день (n = 12)	1,17 [0,26; 4,0]	1,0 [0,3; 3,9]	
	29 день (n = 6)	3,0 [0,26; 6,0]	1,18 [0,25; 1,40]	↓, p = 0,05
Стимул – электрический ток Stimulus – electric current				
ЛП _{ср} (мс) LP _{avg} (ms)	3 день (n = 12)	64,0 [18,7; 88,6]	28,0 [10,7; 58,0]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	1,0 [0,0; 3,3]	5,3 [3,3; 13,3]	↑, p = 0,05
ДР _{ср} (мс) DR _{avg} (ms)	3 день (n = 12)	45,3 [10,0; 141,3]	14,7 [2,7; 22,7]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	9,3 [8,7; 12,0]	5,3 [4,7; 13,3]	↓, p = 0,05
АР _{ср} (ед) AR _{avg} (units)	3 день (n = 12)	288 [154; 851]	236 [78; 512]	↓, p = 0,05
	29 день (n = 6)	583 [233; 1153]	122 [39; 515]	↓, p = 0,01

Примечания. ЛП – латентный период; ДР – длительность реакции на стимул; АР – амплитуда реакции; _{ср} – среднее арифметическое по 3 последовательным стимулам; _{инс} – индекс нарастания ответа. По другим исследованным показателям достоверных различий выявлено не было.

Notes. LP – latent period; DR – duration of response to a stimulus; AR – response amplitude; _{avg} – arithmetic mean for 3 consecutive stimuli; _{ins} – response increase index. Other studies did not reveal any statistically significant results.

рост его концентрации в крови, в то время как у остальных крыс его концентрация через 4 недели существенно снижалась, что подтверждают высокие значения ко-

эффициента вариации этого показателя (КВ = 0,39 в точке 3 суток и 0,96 в точке 29 дней). С учетом того, что при некропии у животных выявлялись разной степени выра-

женности спайки в брюшине, такая высокая вариабельность всасывания токсиканта может быть связана с формированием в спайках, с коллагеном которых и с выпавшим на брюшину фибрином свинец образует плохо диссоциирующие альбуминаты, самостоятельного тканевого депо, обеспечивающего пролонгированный период абсорбции.

В тканях мозга отмечалась достаточно плавная (по сравнению с другими органами) динамика уровня свинца, существенно отстающая от роста концентрации токсиканта в крови, что подтверждает достаточно высокий уровень сохранения гематоэнцефалического барьера для этого тяжелого металла. При этом фактор времени после острой интоксикации (в диапазоне периода наблюдения 2–29 дней) не играл существенной роли в динамике концентрации свинца в тканях мозга (с ним связано 2% вариативности показателя, $p = 0,64$), т.е. поступивший в мозг свинец длительно из него не выводился, оставаясь на высоком уровне, достаточном для проявления нейротоксического действия. По сравнению с интактными животными превышение составило в 50–75 раз.

Также обращает на себя внимание, что максимально быстро (к третьим суткам) достигается максимум концентрации свинца в печени. Вероятно, это может быть связано с наличием гепатоперитонияльных венозных и лимфатических сосудистых связей, обеспечивающих преимущественное всасывание солей свинца из брюшины в систему печеночных вен, что может приводить в ранние сроки отравления к росту биохимических маркеров повреждения печени. Однако последующее снижение содержания токсиканта в этом органе (в 10 раз к двухнедельному сроку по сравнению со значением на третьи сутки после отравления) обеспечивает относительно короткий период гепатотоксического действия. Дисперсионный факторный анализ показал, что в постинтоксикационном периоде контролируемый фактор времени после отравления является принципиально значимым для снижения концентрации свинца в печени (коэффициент детерминации 0,81, $p = 2 \cdot 10^{-12}$). Тем не менее, в последующие 2 недели периода наблюдения (16–29 суток) содержание свинца в печени более чем в 3500 раз превышает уровень, характерный для интактных животных.

В почках максимальная концентрация свинца была отмечена в более поздние (по сравнению с печенью) сроки (15 суток после острого отравления), и его концентрация в 9–11 раз превышала содержание токсиканта в крови, что объясняет высокий уровень нефротоксичности свинца. В сопоставлении с уровнем свинца в почках на пике концентрации после острой интоксикации,

он более чем в 3000 раз превышает уровень у интактных животных.

При анализе данных **таблицы 3** обращает на себя внимание, что в обеих группах животных только BDNF определяется в значительных концентрациях как в тканях мозга, так и в ликворе и сыворотке крови. Причем в контрольной группе его концентрация в ликворе на третьи сутки в среднем в 72 раза превышает его концентрацию в плазме крови, на 29-е сутки – в 13 раз, и в 137 раз превышает концентрацию в тканях мозга, а в группе с отравлением свинцом – в 241 раз. Следовательно, этот нейроспецифический белок кумулируется в ликворе, что может быть связано как с низкой скоростью его деградации (протеолиза), так и с медленной скоростью обратной диффузии в кровь через гематоэнцефалический барьер.

При сравнении выборок в контрольной группе и в группе выживших после острого отравления свинцом животных ни для какого показателя не были выявлены статистически достоверные отличия, как в ранние сроки постинтоксикационного периода (3 суток), так и в более поздние (29 суток). Эти результаты требуют самостоятельного анализа, так как противоречат известным данным по динамике этих белков в крови при других критических состояниях – черепно-мозговых травмах и ишемических поражениях мозга [12–16].

Можно предположить, что при токсическом поражении ткани мозга свинцом актуализируются иные, чем при механическом или ишемическом воздействии, сигнальные пути повреждения нейронов и клеток глии, которые не ведут к изменению уровня экспрессии генов, кодирующих их синтез. Кроме того, вероятным является и то, что у выживших после острой интоксикации животных уровень индивидуальной чувствительности к токсиканту, а следовательно, и степень тяжести повреждения нейронов и клеток глии была меньшей, чем у погибших, что и обеспечило разделение животных по критерию выживаемости.

Как следует из данных **таблицы 4**, в постинтоксикационном периоде показатели рефлекторного ответа на сенсорные стимулы у выживших животных в основном близки к таковым у контрольных животных. На 3-и сутки после острой интоксикации признаками токсического действия были: снижение длительности реакции на световой стимул (на 61%) и электрический ток (на 67%), сокращение периода постстимульной активности в ответ на звуковой стимул (на 27%), снижение амплитуды реакции на электрический стимул (на 39%) и повышение числа пиков при электрической стимуляции. Такие отличия от контрольной группы могут свидетельствовать о повышении тормозного контроля над рефлекторным ответом

в ранние сроки после интоксикации. Признаками отдаленных последствий острой интоксикации на 29-е сутки были: ослабление (истощение) ответных реакций при повторной стимуляции вспышкой света или резким звуком (снижение индексов нарастания ответа на свет по показателям латентного периода и длительности реакции, а также длительности реакции на звук) и снижение амплитуды реакции на свет. Необходимо отметить, что изменения рефлекторной реакции на повторную стимуляцию преимущественно связаны с обработкой сенсорных сигналов в таламусе.

Корреляционный анализ показал, что некоторые показатели рефлекса на резкий стимул связаны с концентрацией свинца в тканях мозга: индекс нарастания амплитуды реакции при повторной стимуляции светом ($= +0,85$), длительность реакции на звук ($= +0,81$), индексы нарастания ответа на электрический ток по показателям латентного периода реакции ($= +0,77$) и длительности постстимульной активности ($= +0,77$). Обращает на себя внимание, что латентный период и амплитуда реакции на стимул не коррелировали с концентрацией свинца в тканях мозга.

Заключение

Сопоставление данных таблиц 1 и 2 показывает, что тяжесть состояния животных и их гибель после острого отравления ацетатом свинца не зависят от его концентрации в крови, так как она нарастает вплоть до 4 недель периода наблюдения, а максимально выраженные признаки интоксикации отмечаются на 2–3 сутки после острой интоксикации.

Нарастание концентрации свинца в тканях мозга до критического уровня, вызывающего глубокую кому и гибель животного, отмечается на вторые сутки постинтоксикационного периода, что отражается в факте максимально высокой летальности в этот период времени. В дальнейшем концентрация свинца в тканях мозга остается высокой на всем периоде наблюдения, причем выраженность признаков острой интоксикации существенно снижается, а у трети из выживших животных на 3 сутки вообще не определяется. Следовательно, исходная популяция практически здоровых крыс существенно различается по уровню индивидуальной чувствительности к токсическому действию свинца: низкоустойчивые гибнут в первые сутки, среднеустойчивые – на вторые-третьи сутки, а 56% животных относятся к категории более устойчивых, у которых (в связи с большой длительностью сохранения высокой концентрации свинца в тканях мозга) развиваются отдаленные последствия острых интоксикаций [10].

Корреляционный анализ показал, что концентрация нейроспецифических белков в сыворотке крови не имеет значимых коэффициентов ранговой корреляции с концентрацией свинца в крови, но обладает слабыми корреляционными связями с концентрацией свинца в тканях головного мозга: с S100 ($r = \pm 0,56$) и BDNF ($r = -0,54$). Следовательно, именно накопление свинца в тканях головного мозга является причиной поступления в кровоток маркера повреждения нейроглии – кальций-связывающего белка S100. В свою очередь, отрицательная корреляционная связь в отдаленном периоде острых интоксикаций между концентрацией свинца в тканях мозга и мозговым нейротрофическим фактором BDNF свидетельствует о негативном влиянии токсиканта на репаративную систему мозга, связанную с нейротрофическими факторами.

Так как в силу малого количества забираемого у крыс ликвора нам не удалось определить концентрацию свинца в спинномозговой жидкости животных, а источником нейроспецифических белков в ликворе является ткань мозга, то также были проанализированы взаимосвязи маркеров повреждения мозга в ликворе и концентрации свинца в ткани мозга. Установлено, что с повышенным уровнем свинца в тканях мозга взаимосвязано повышение в ликворе белка S100 ($r = 0,51$). Эта связь не отличается от ранее описанной связи для тканей мозга. В то же время для ликвора оказалась ярко выраженная почти линейная связь между белком S100 и нейротрофическим фактором мозга BDNF ($r = 0,91$), что может свидетельствовать о наличии общих механизмов их стимуляции и запуске репаративных эффектов нейротрофинов при токсическом повреждении нейроглии.

При исследовании взаимосвязей концентрации нейроспецифических белков в тканях мозга и содержанием свинца в них выявляется выраженная положительная корреляционная связь с маркером повреждения тел нейронов NSE ($r = 0,72$) и слабая положительная – с маркером повреждения глиальных клеток белком S100 ($r = 0,44$). Оценка соотношения этих связей позволяет предположить, что тела нейронов более чувствительны к токсическому действию свинца, чем клетки нейроглии. При этом также выявляется положительная корреляционная связь между маркером повреждения белого вещества мозга MBP и нейротрофическим фактором мозга BDNF ($r = 0,74$). Такая связь может отражать наличие общих путей индукции для нейротрофинов и сигнальных молекул повреждения аксонов.

Как было отмечено при анализе данных **таблицы 3**, концентрация нейроспецифического белка BDNF в ликворе значительно превышает его уровень в сыворотке крови как в контрольной группе, так и в группе

животных, выживших после тяжелого острого отравления ацетатом свинца. Так как единственным источником поступления этого белка в кровь является выведение из ликворной системы мозга через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), то по соотношению концентраций BDNF в сыворотке крови и ликворе можно судить о степени повреждения проницаемости ГЭБ. Проведенные расчеты показали, что под влиянием интоксикации свинцом показатель проницаемости ГЭБ для BDNF повышается в 3 раза (с 0,066 до 0,197 ед.). Это может быть существенным для проникновения в ткань мозга не только токсических метаболитов из других сред организма,

но и гаптенов, цитокинов системного воспалительного ответа, что может усиливать токсическое действие свинца на нервную систему.

Тест на аппарате Startle Response System у выживших после острой интоксикации свинцом животных выявил коррелирующие с концентрацией этого металла в тканях мозга на ранних сроках постинтоксикационного периода признаки нарушений механизмов тормозного контроля нейронов данного рефлекса, а на этапе формирования отдаленных последствий острой интоксикации – истощение ответной реакции при повторном воздействии светового и звукового стимулов.

Литература

(п.п. 3, 4, 6; 7, 15, 16 см. References)

1. Всемирная организация здравоохранения. Отравление свинцом. Доступно по: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
2. Сутункова М.П., Никогосян К.М., Рябова Ю.В. и др. Современное представление о механизмах токсического действия свинца на центральную нервную систему (обзор литературы). *Медицина труда и экология человека*. 2023; 4: 196–215. <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2023-10415>
3. Галенко М.С., Гравель И.В., Вельц Н.Ю. и др. Нормирование содержания тяжелых металлов и мышьяка как фактор безопасности использования лекарственных растительных препаратов. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021; 9(2): 61–8. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-2-61-68>
4. Теплая Г.А. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (обзор литературы). *Астраханский вестник экологического образования*. 2013; 1(23): 182–92.
5. Якимова Н.Л., Соседова Л.М., Вокина В.А. и др. Проявления свинцовой интоксикации на фоне гипергликемического состояния в эксперименте. *Медицина труда и промышленная экология*. 2017; 2: 54–6.
6. Шустов Е.Б., Мельникова М.В., Мастерова К.В. и др. Анализ факторов, влияющих на процессы апоптоза в периоде отдаленных последствий тяжелых острых отравлений нейротропными токсикантами. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2025; 27(1): 5–14. <https://doi.org/10.47183/mes.2024-247>
7. Шестова Г.В., Ливанов Г.А., Остапенко Ю.Н. и др. Опасность хронических отравлений свинцом для здоровья населения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2012; 4(42): 65–76.
8. Клименко А.Л., Деев А.И., Басаков И.С. и др. Класс нейроспецифических белков S100 и металлолигандный гомеостаз в этиопатогенезе ишемического инсульта. *Микроэлементы в медицине*. 2019; 20(1): 3–13. <https://doi.org/10.19112/2413-6174-2019-20-4-3-13>
9. Левчук Л.А., Бохан Н.А., Иванова С.А. Нейроспецифические белки как трансдиагностические маркеры аффективных расстройств. *Нейрохимия*. 2023; 40(1): 30–4. <https://doi.org/10.31857/S1027813323010119>
10. Максимова М.Ю., Ионова В.Г., Сыскина А.А., и др. Нейроспецифические белки в оценке состояния ткани мозга при атеротромботическом инсульте (клинико-биохимическое исследование). *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2011; 5 (3): 4–10.

References

1. World Health Organization. Lead poisoning. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
2. Sutunkova M.P., Nikogosyan K.M., Ryabova Yu.V. et al. Current understanding of the mechanisms of lead toxic effects on the central nervous system (literature review). *Occupational Medicine and Human Ecology*. 2023; 4: 196–215. <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2023-10415> (in Russian)
3. Abdelhamid F.M., Mahgoub H.A., Ateya A.I. Ameliorative effect of curcumin against lead acetate-induced hemato-biochemical alterations, hepatotoxicity, and testicular oxidative damage in rats. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2020; 1: 10950–65. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07718-3>
4. Minigalieva I.A., Shtin T.N., Makeyev O.H. et al. Some outcomes and a hypothetical mechanism of combined lead and benzo(a)pyrene intoxication, and its alleviation with a complex of bioprotectors. *Toxicology Reports*. 2020; 7: 986–94. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.08.004>
5. Galenko M.S., Gravel I.V., Velts N.Yu., Alyautdin R.N. Limits for the Content of Heavy Metals and Arsenic as a Means of Ensuring Safe Use of Herbal Medicinal Products. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii (Safety and Risk of Pharmacotherapy)*. 2021; 9(2): 61–8. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-2-61-68> (in Russian)
6. Pratush A., Kumar A., Hu Z. Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. *International Microbiology*. 2018; 21: 97–106. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0012-3>
7. Yang C.M., Chien M.Y., Chao P.C. et al. Investigation of toxic heavy metals content and estimation of potential health risks in Chinese herbal

- medicine. *Journal of Hazardous Materials*. 2021; 412: 125142. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125142>
8. Teplaja G.A. Heavy metals as a factor of environmental pollution (review). *Astrahanskij vestnik jeologicheskogo obrazovanija. (Astrakhan bulletin of environmental education)*. 2013; 1 (23): 182–92. (in Russian)
 9. Yakimova N.L., Sosedova L.M., Vokina V.A. et al. Experimental lead intoxication symptoms with hyperglycemia state. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya. (Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology)*. 2017; 2: 54–6. (in Russian)
 10. Shustov E.B., Melnikova M.V., Masterova K.V. et al. Analysis of factors influencing apoptotic processes during formation of long-term health effects of severe acute poisoning with neurotropic toxicants. *Extreme Medicine*. 2025; 27(1): 5–14. <https://doi.org/10.47183/mes.2024-247>
 11. Shestova G.V., Livanov G.A., Ostapenko Yu.N. et al. Danger of chronic poisoning by lead for health of people. *Medicina ekstremal'nyh situacij. (Emergency medicine)*. 2012; 4 (42): 65–76. (in Russian)
 12. Klimenko A.L., Deev A.I., Baskakov I.S. et al. Neurospecific proteins of S100 family and metal-ligand homeostasis in etiopathogenesis of ischemic stroke: a literature review. *Mikrojelementy v medicine (Trace Elements in Medicine (Moscow))*. 2019; 20(4): 3–13. <https://doi.org/10.19112/2413-6174-2019-20-4-3-13> (in Russian)
 13. Levchuk L.A., Bokhan N.A., Ivanova S.A. Neurospecific Proteins as Transdiagnostic Markers of Affective Disorders. *Nejrohimiya. (Neurochemical Journal)*. 2023; 40(1): 30–4. <https://doi.org/10.31857/S1027813323010119> (in Russian)
 14. Maksimova M.Ju., Ionova V.G., Syskina A.A., et al. Neurospecific peptides in the assessment of brain damage in patients with atherothrombotic stroke. *Annaly klinicheskoy i jeksperimental'noj nevrologii (Annals of Clinical and Experimental Neurology)*. 2011; 5(3): 4–10. (in Russian)
 15. Lima Giacobbo B., Doorduyn J., Klein H.C. et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Molecular Neurobiology*. 2019; 56(5): 3295–312. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1283-6>
 16. Vlasakova K., Tsuchiya T., Garfinkel I.N. et al. Performance of biomarkers NF-L, NSE, Tau and GFAP in blood and cerebrospinal fluid in rat for the detection of nervous system injury. *Front. Neurosci*. 2023; 17: 1285359. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1285359>

Сведения об авторах:

Шустов Евгений Борисович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: shustov-msk@mail.ru

Мельникова Маргарита Викторовна, науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: melnikova.m.v@toxicology.ru

Шемаев Михаил Евгеньевич, науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: shemaevm@mail.ru

Потапов Петр Кириллович, канд. мед. наук, докторант Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации; старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: forwardspb@mail.ru

Фомичев Алексей Вячеславович, канд. мед. наук, доцент кафедры военно-полевой терапии Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия» Министерства обороны Российской Федерации, e-mail: Fomichoff74@mail.ru

Золотоверхая Екатерина Андреевна, канд. биол. наук, ведущий науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: e.zolotoverkhaja@yandex.ru

Ватаева Алена Андреевна, мл. науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: vataeva.a.a@toxicology.ru

Бондаренко Анастасия Александровна, науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: bondarenko-nastua@yandex.ru

Шульц Алена Викторовна, мл. науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: shults.alena24@yandex.ru

Остров Владимир Федорович, вед. науч. сотр., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: ostrov.v.f@toxicology.ru

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-006.6

Абакумова Т.В.¹, Антонеева И.И.^{1,2}, Мягдиева И.Р.¹, Долгова Д.Р.¹, Генинг Т.П.¹, Генинг С.О.³,
Слесарева Ю.С.¹

ЕрСам-положительные опухолевые клетки циркулирующей крови и асцита в оценке риска по раку яичников

¹ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (УлГУ), Россия, 432017, Ульяновск, ул. Л.Толстого, д. 42

²ГУЗ Областной клинический онкологический диспансер (ОКОД), Россия, 432017, Ульяновск, ул. 12 Сентября, д. 90

³ООО «Лучи Здоровье», 121205, Россия, Москва, тер. Сколково Инновационного центра, ул. Нобеля, д. 7

Цель: изучить роль ЕрСам – положительных опухолевых клеток в циркулирующей крови и в асците в оценке риска развития рака яичников.

Методика. В исследование включены 42 больные раком яичников I – IV стадии по FIGO и 11 пациенток с доброкачественными опухолями яичников. Клетки мононуклеарной фракции крови и асцита окрашивали моноклональными антителами к CD45, ЕрСам (CD326), цитокератину 18. Подсчет опухолевых клеток ЕрСам⁺CD45⁺, ЕрСам⁺CK18⁺, ЕрСам⁺CD45⁺ произведен методом проточной цитометрии с двойной флуоресцентной меткой на приборе BioSino (Китай). Уровень CA-125 и HE4 определяли методом ИФА. Статистическая обработка проводилась с использованием Statistica 13.0, Jamovi 2.4.14.

Результаты. При прогрессировании рака яичников, наличии асцита, метастаз и рецидивов заболевания в циркулирующей крови повышается количество опухолевых клеток фенотипа ЕрСам⁺CK18⁺. Обнаружена сильная связь между количеством ЕрСам⁺CK18⁺ опухолевых клеток и концентрацией онкомаркеров CA-125 и HE4. В асците количество клеток ЕрСам⁺CD45⁺ и атипичных/гибридных клеток ЕрСам⁺CD45⁺ значимо выше, чем в циркулирующей крови. Риск возникновения рецидива возрастает в 1,7 раза при увеличении количества ЕрСам⁺CK18⁺ и в 1,14 раза при увеличении количества ЕрСам⁺CD45⁺ в крови. Прогностический потенциал при анализе времени без прогрессирования присутствовал для пациенток с метастазами на III – IV стадии рака яичников для ЕрСам⁺CD45⁺ в асците и уровня HE4 в крови.

Заключение. Исследовано количество ЕрСам-положительных опухолевых клеток в асците и циркулирующей крови пациенток на разных стадиях рака яичников. Показана прогностическая значимость различных фенотипов ЕрСам⁺ опухолевых клеток в циркулирующей крови при оценке риска прогрессирования и периода времени без прогрессирования при раке яичников. Полученные данные могут быть использованы при прогнозировании течения рака яичников.

Ключевые слова: рак яичников; ЕрСам⁺ циркулирующие опухолевые клетки; асцит; прогноз

Для цитирования: Абакумова Т.В., Антонеева И.И., Мягдиева И.Р., Долгова Д.Р., Генинг Т.П., Генинг С.О., Слесарева Ю.С. ЕрСам-положительные опухолевые клетки циркулирующей крови и асцита в оценке риска по раку яичников. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2026; 70(1): 74–84.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.74-84

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование – Абакумова Т.В., Антонеева И.И., Генинг Т.П.; сбор и обработка материала, статистическая обработка материала – Мягдиева И.Р., Долгова Д.Р., Генинг С.О., Слесарева Ю.С. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Генинг Татьяна Петровна, e-mail: naum-53@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ (24-25-00269).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы выражают благодарность с.н.с. Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА Богомяковой Маргарите Евгеньевне за помощь в запуске нового проточного цитофлуориметра BioSino (Китай) и интерпретации получаемых данных.

Поступила 06.05.2025

Принята к печати 18.07.2025

Опубликована 27.03.2026

Abakumova T.V.¹, Antoneeva I.I.^{1,2}, Myagdieva I.R.¹, Dolgova D.R.¹, Gening T.P.¹, Gening S.O.³, Slesareva Yu.S.¹ **EpCam-positive tumor cells in circulating blood and ascites in ovarian cancer risk assessment**

¹Ulyanovsk State University, 42 Leo Tolstoy Street, Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

²Regional Clinical Oncologic Center, 90 September 12th Str., Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

³LLC Luchi Zdorovye, 7 Nobel Str., Moscow, Skolkovo Innovation Center area, 121205, Russian Federation

Aim: To study the role of EpCam-positive tumor cells in circulating blood and ascites in ovarian cancer risk assessment.

Methods. The study included 42 patients with ovarian cancer stages I – IV according to FIGO and 11 patients with benign ovarian tumors. Cells of the mononuclear fraction of the blood and ascites were stained with monoclonal antibodies to CD45, EpCam (CD326), cytokeratin 18. The counting of tumor cells EpCam+CD45⁻, EpCam+CK18⁺, EpCam+CD45⁺ was performed by flow cytometry with a double fluorescent label on a BioSino device (China). The level of CA-125 and HE4 was determined by ELISA. Statistical processing was performed using Statistica 13.0, Jamovi 2.4.14.

Results. With the progression of ovarian cancer, the presence of ascites, metastases and relapses of the disease, the number of tumor cells of the EpCam+CK18⁺ phenotype in the circulating blood increases. A strong relationship was found between the number of EpCam+CK18⁺ tumor cells and the concentration of tumor markers CA-125 and HE4. In ascites, the number of EpCam+CD45⁻ cells and atypical/hybrid EpCam+CD45⁺ cells is significantly higher than in circulating blood. The risk of relapse increases by 1.7 times with an increase in the number of EpCam+CK18⁺ and by 1.14 times with an increase in the number of EpCam+CD45⁺ in the blood. Predictive potential in the analysis of progression-free time was present for patients with metastases at stage III – IV ovarian cancer for EpCam+CD45⁻ in ascites and the level of HE4 in the blood.

Conclusion. The number of EpCam-positive tumor cells in ascites and circulating blood of patients at different stages of ovarian cancer was studied. The predictive significance of various phenotypes of EpCam⁺ tumor cells in circulating blood in assessing the risk of progression and the period without progression in ovarian cancer was shown. The obtained data can be used to predict the course of ovarian cancer.

Keywords: ovarian cancer; EpCam⁺ circulating tumor cells; ascites; prognosis

For citation: Abakumova T.V., Antoneeva I.I., Myagdieva I.R., Dolgova D.R., Gening T.P., Gening S.O., Slesareva Yu.S. EpCam-positive tumor cells in circulating blood and ascites in ovarian cancer risk assessment. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 74–84. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.74-84

Author's contribution: concept and design of the study, writing the text, editing the text – Abakumova T.V., Antoneeva I.I., Gening T.P.; collection and processing of material, statistical processing – Myagdieva I.R., Dolgova D.R., Gening S.O., Slesareva Yu.S. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: **Tatyana Gening**, BD., prof. of the Department of Physiology and Pathophysiology of the Ulyanovsk State University, e-mail: naum-53@yandex.ru

Information about the authors:

Abakumova T.V., <https://orcid.org/0000-0001-7559-5246>

Antoneeva I.I., <https://orcid.org/0000-0002-1525-2070>

Myagdieva I.R., <https://orcid.org/0000-0002-3908-0840>

Dolgova D.R., <https://orcid.org/0000-0001-5475-7031>

Gening T.P., <https://orcid.org/0000-0002-5117-1382>

Gening S.O., <https://orcid.org/0000-0001-6970-6659>

Slesareva Yu.S., <https://orcid.org/0009-0005-1177-9202>

Financing. The work was supported by a grant from the Russian Science Found (24-25-00269).

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

Acknowledgments. The authors express their gratitude to the senior research fellow of the Federal Scientific and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine named after Academ. Yu.M. Lopukhin FMBA to Margarita E. Bogomyakova for assistance in launching the new BioSino flow cytometer (China) and interpreting the data obtained.

Received 06.05.2025

Accepted 18.07.2025

Published 27.03.2026

Введение

Заболеваемость эпителиальным раком яичников (РЯ) растет, а 5-летняя выживаемость пациенток с прогрессирующим РЯ составляет всего 29%. При этом, по данным международной экспертной группы, показатель смертности от РЯ продолжит расти и к 2035 году превысит 250 000 [1]. Поздняя диагностика РЯ: более 60% всех случаев выявляется на III – IV стадии процесса – является одной из актуальных проблем данной нозологической формы [2].

Отсутствие при РЯ анатомического барьера между основной опухолью и брюшной полостью способствует распространению отделившихся раковых клеток. Секретируемые этими клетками факторы в конечном счете могут блокировать лимфатический дренаж и способствовать образованию асцита [3]. Стандартная терапия первой линии при серозном РЯ высокой степени злокачественности включает операцию по уменьшению опухоли и последующую ХТ на основе карбоплатина и паклитаксела. Возникающие рецидивы заболевания и метастазы связаны с субпопуляциями химиорезистентных опухолевых клеток [4].

Молекула адгезии эпителиальных клеток (Epcam) – это трансмембранный гликопротеин, включающий внеклеточный, трансмембранный и внутриклеточный домены и не зависящий от Ca^{2+} . Кроме участия в межклеточной адгезии, Epcam участвует в передаче сигналов, дифференцировке, пролиферации и в поддержании морфологии органов [5] в эпителиально-мезенхимальном переходе [6]. Благодаря частому и высокому уровню экспрессии в карциномах и их метастазах Epcam служит маркерной молекулой циркулирующих и диссеминированных опухолевых клеток [7], а также маркером слияния клеток [8]. Показано, что протеолитический фрагмент Epcam образует комплекс с β -catenin и LEF-1. Этот комплекс перемещается в ядро, активирует транскрипцию генов, связанных с пролиферацией клеток, способствуя в конечном счете онкогенезу [9].

Цель исследования: изучить роль Epcam – положительных опухолевых клеток в циркулирующей крови и в асците в оценке риска по раку яичников.

Методика

Для проведения исследований была взята периферическая кровь и асцит пациенток с впервые выявленной опухолью яичников ($n = 53$), из них: с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) (цистаденомы различного гистологического подтипа) ($n = 11$), с аденокарциномой яичников до получения противоопухолево-

го лечения ($n = 42$) (см. табл. 1), проходивших лечение в Областном клиническом онкологическом диспансере в 2023-2024 гг. до начала лечения по схеме ТР (паклитаксел, карбоплатин).

Пациенты были разделены на группы: I – прогрессирование на фоне ХТ (рефрактерная); II – рецидив после 6-ти и более месяцев после окончания ХТ (чувствительная). Все обследованные подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Института медицины, экологии и физической культуры Ульяновского государственного университета (протокол № 11 от 15.11.2023).

Критерии исключения из исследования: острые инфекционные заболевания, обострения тяжелых соматических заболеваний, диффузные заболевания соединительной ткани.

Опухолевый асцит отбирали до начала лечения в объеме 200 мл в стерильные контейнеры и сразу же центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин. Осадок промывали дважды фосфатным буфером pH 7,4 для удаления асцитической жидкости. Концентрацию клеток доводили до 5×10^6 клеток/мл в растворе.

Выделение моноклеарной фракции клеток (PBMC) из венозной крови, взятой до начала лечения, производили методом центрифугирования на градиенте фиколла (плотность 1,077 см³). Окрашивание проводили моноклональными антителами (МКА) к лейкоцитарному антигену CD45, мечеными FITC (ООО «Сорбент», Москва, Россия), CD45, мечеными PE (Elabscience, Китай), МКА к эпителиальному мембранному антигену Epcam (CD326), мечеными PE (E-AB-F1163D, Elabscience, Китай), МКА к цитокератину 18, мечеными FITC (LAB231Hu81, Cloud-Clone Corp., США). В ходе исследования был произведен подсчет количества циркулирующих клеток эпителиального происхождения (Epcam+CD45-, Epcam+CK18+, Epcam+CD45+) методом проточной цитометрии с использованием двойной флуоресцентной метки на приборе BioSino (Китай) (рис. 1). Для корректного анализа образца используются контроли: отрицательный контроль (неокрашенные клетки).

Методом ИФА определяли уровень онкомаркеров СА-125 и HE4 в сыворотке крови с помощью наборов «Вектор-Бест» (Россия).

Обработка результатов проводилась с помощью программы Biosino Zhongsheng Diagnostic System. Анализировали не менее 100 000 событий в секторе живых клеток.

Статистическая обработка проводилась с использованием Statistica 13.0 (TIBCO, USA), Jamovi 2.4.14. Для опи-

Таблица 1 / Table 1

Клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование

Clinical characteristics of patients included in the study

Группы Groups	Клиническая характеристика Clinical characteristics	Значение The meaning of the indicators
Доброкачественные опухоли яичников Benign ovarian tumors, <i>n</i> = 11	Возраст (Me [Q25; Q75]), лет Age (Me [Q25; Q75]), years	52 [49; 65]
	Абсолютное количество лейкоцитов Le x 10 ⁹ /л (Me [Q25; Q75]) Absolute leukocyte count Le x 10 ⁹ /l (Me [Q25; Q75])	6,92 [4,89; 7,60]
	Менопаузальный статус: Menopausal status:	
	Пременопауза Premenopause, <i>n</i> (%)	3 (18,2%)
	Постменопауза Postmenopause, <i>n</i> (%)	9 (81,8%)
Рак яичников/Ovarian cancer, <i>n</i> = 42	Возраст (Me [Q25; Q75]), лет Age (Me [Q25; Q75]), years	63 [56; 72]
	Абсолютное количество лейкоцитов Le x 10 ⁹ /л (Me [Q25; Q75]) Absolute leukocyte count Le x 10 ⁹ /l (Me [Q25; Q75])	9,21 [8,21-10,1]
	Менопаузальный статус: Menopausal status:	
	Пременопауза, <i>n</i> (%) Premenopause, <i>n</i> (%)	5 (12%)
	Постменопауза, <i>n</i> (%) Postmenopause, <i>n</i> (%)	37 (88%)
	Наличие асцита при поступлении Presence of ascites on admission	
	- да, <i>n</i> (%) - yes, <i>n</i> (%)	37 (88%)
	- нет, <i>n</i> (%) - no, <i>n</i> (%)	5 (12%)
	Гистотип первичной опухоли Primary tumor histotype	
	Серозная аденокарцинома high grade, <i>n</i> (%) High grade serous adenocarcinoma, <i>n</i> (%)	40 (95%)
	серозно-папиллярный, <i>n</i> (%) serous-papillary, <i>n</i> (%)	2 (5%)
	Стадия по классификации FIGO FIGO Stage	
	- I – II, <i>n</i> (%)	3 (7%)
	-III, <i>n</i> (%)	25 (60%)
	- IV, <i>n</i> (%)	14 (33%)
	Наличие метастаз/Presence of metastases:	
	- да, <i>n</i> (%) - yes, <i>n</i> (%)	23 (61,9%)
	- нет, <i>n</i> (%) - no, <i>n</i> (%)	19 (38,1%)

Примечание. *n* – число индивидов.Notes. *n* – number of individuals.

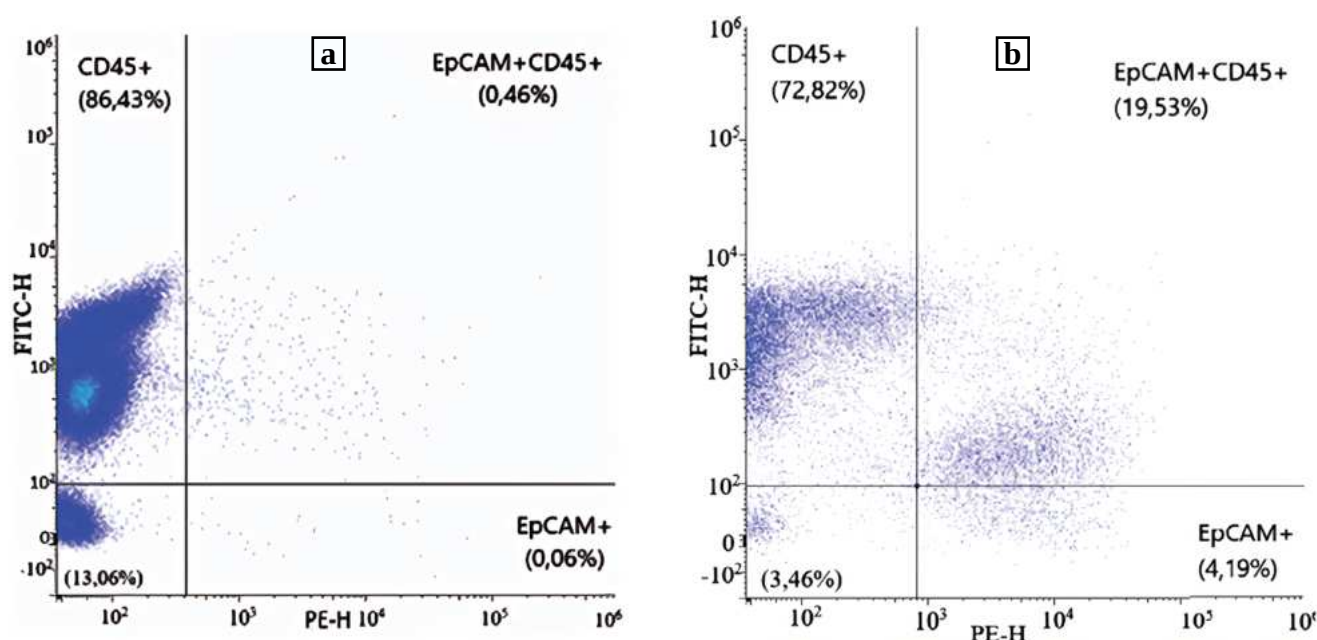


Рис. 1. Популяции EpCAM-положительных клеток в крови, выявленные методом многоцветной проточной цитометрии на аппарате BioSino (Китай) с применением программного обеспечения Biosino Zhongsheng Diagnostic System: а – гейтирование клеток EpCam+ по CD45+ в крови при раке яичников; б – гейтирование клеток EpCam+ по CD45+ в асцитической жидкости при раке яичников.

Fig. 1. Populations of EpCAM-positive cells in the blood, detected by multicolor flow cytometry on a BioSino device (China) using the Biosino Zhongsheng Diagnostic System software: а – gating of EpCam+ cells by CD45+ in the blood in ovarian cancer; б – gating of EpCam+ cells by CD45+ in ascitic fluid in ovarian cancer.

сания количественных признаков рассчитывалась медиана (Me) верхнего и нижнего квартилей (Q25; Q75). Для сравнения двух групп по количественным признакам рассчитывался критерий Манна – Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Для выявления статистической связи между количественными признаками рассчитывался корреляционный критерий Спирмена (r). Анализ времени без прогрессирования (ВБП) пациентов проводился по методу регрессии Кокса и Каплана-Майера (Long-rank тест). Для выделения категорий на основе значений, используемых в прогнозировании, определяли точку разделения (cut-point). Для оценки вероятности событий использован показатель относительного риска (ОР) с указанием границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). Статистическая значимость устанавливалась при значении $p < 0,05$.

Результаты

Анализ полученных данных показал значимое увеличение в циркулирующей крови по сравнению с пациентками с ДОЯ количества EpCam+CD45+ – клеток на начальных стадиях РЯ; количества EpCam+CK18+ и атипичных/гибридных клеток EpCam+CD45+ на распространенных стадиях РЯ (табл. 2).

В ходе проведенного исследования установлено значимое увеличение в циркулирующей крови пациенток с метастазами по сравнению с больными без mts количества EpCam+CD45- и EpCam+CK18+ опухолевых клеток, а также количества атипичных/гибридных клеток EpCam+CD45+ по сравнению с пациентами с ДОЯ (табл. 2).

Для оценки связи между количеством изученных популяций EpCam+ циркулирующих опухолевых клеток и показателями опухолевого процесса были изучены уровни онкомаркеров РЯ СА125 и Не4. Полученные данные позволяют утверждать о значимых различиях уровней онкомаркеров в зависимости от стадии, наличия асцита и наличия метастазов (табл. 3). Сегодня в качестве маркера циркулирующих опухолевых клеток используют молекулу адгезии эпителиальных клеток EpCam [10].

Анализ частоты встречаемости EpCam+ опухолевых клеток у пациенток с РЯ в циркулирующей крови и в асците показал значимое увеличение в асците пациенток при распространенных стадиях заболевания клеток EpCam+CD45- (18,8 [5,54; 75,3] против 7,13 [3,4; 10,8], $p = 0,042$) и атипичных/гибридных клеток EpCam+CD45+ (12,0 [5,14; 22,4] против 7,40 [5,36; 8,25], $p = 0,034$) (рис. 2).

Таблица 2 / Table 2

Количество EpCam+ опухолевых клеток в циркулирующей крови у пациенток с новообразованиями яичников (Me [Q₂₅; Q₇₅])EpCam+ tumor cell count in circulating blood in patients with ovarian neoplasms (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Показатель Indicator		EpCam+CD45-/1 мл EpCam+CD45-/1 ml	EpCam+CK18+/1 мл EpCam+CK18+/1 ml	EpCam+CD45+/-/1 мл EpCam+CD45+/-/1 ml
Доброкачественные опухоли яичников, n = 11 Benign ovarian tumors, n = 11		1,97 [0,863; 2,97]	2,92 [1,95; 5,00]	4,15 [2,35; 5,75]
Рак яичников Ovarian cancer	I – II стадия по FIGO, n = 12 FIGO stage I – II, n = 12	3,50 [0; 8,65] p ₁ = 0,037	1,83 [1,45; 3,97]	2,9 [2,0; 5,3]
	III – IV стадия по FIGO, n = 30 FIGO stage III – IV, n = 30	1,97 [0,78; 1,13]	5,09 [2,75; 18,0] p ₁ = 0,018 p ₂ = 0,001	5,7 [4,13-; 8,85] p ₁ = 0,042
	Без асцита, n = 18 Without ascites, n = 18	2,37 [1,17; 4,82] p ₁ = 0,048	2,75 [1,85; 4,85]	4,65 [2,48; 7,40]
	С асцитом, n = 24 With ascites, n = 24	1,33 [0,52; 4,20]	6,10 [2,72; 19,7] p ₁ = 0,032 p ₃ = 0,003	4,20 [2,76; 6,30]
	Без метастазов, n = 22 Without metastases, n = 22	1,80 [0,50; 4,00]	2,83 [1,99; 5,00]	4,20 [2,40; 6,30]
	С метастазами, n = 20 With metastases, n = 20	3,60 [1,97; 13,6] p ₁ = 0,022 p ₄ = 0,016	14,8 [6,10; 23,7] p ₁ = 0,001 p ₄ = 0,001	7,50 [4,10; 10,9] p ₁ = 0,043

Примечание: n – число индивидов, p₁ – по сравнению с доброкачественными опухолями яичников; p₂ – по сравнению с I – II стадией; p₃ – по сравнению с безасцитной формой; p₄ – по сравнению с кровью пациенток без метастазов.

Note: n – number of individuals, p₁ – compared with benign ovarian tumors; p₂ – compared with stage I – II; p₃ – compared with the ascites-free form; p₄ – compared with the blood of patients without metastases.

Таблица 3 / Table 3

Уровень онкомаркеров CA125 и He4 у пациенток с новообразованиями яичников (Me [Q₂₅; Q₇₅])Level of tumor markers CA125 and He4 in patients with ovarian neoplasms (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Показатель Indicator		CA125, Ед/мл CA125, U/ml	He4, пмоль/л He4, pmol/l
Доброкачественные опухоли яичников, n = 11 Benign ovarian tumors, n = 11		19,8 [9,91; 46,0]	53,0 [45,7-61,3]
Рак яичников Ovarian cancer	I – II стадия по FIGO, n = 12 FIGO stage I – II, n = 12	175 [52; 591]	160 [134; 753]
	III – IV стадия по FIGO, n = 30 FIGO stage III – IV, n = 30	799 [381; 1120] p ₂ = 0,025	924 [704; 1650] p ₂ = 0,015
	Без асцита, n = 18 Without ascites, n = 18	30,2 [11,0; 175,0]	61,7 [52,0; 160,0]
	С асцитом, n = 24 With ascites, n = 24	749 [433; 889] p ₃ = 0,001	916 [685; 1320] p ₃ = 0,001
	Без метастазов, n = 22 Without metastases, n = 22	117 [14,2; 759]	125 [54,3; 781]
	С метастазами, n = 20 With metastases, n = 20	764 [713; 810] p ₄ = 0,022	1380 [950; 1700] p ₄ = 0,001

Примечание: данные статистически значимо отличаются от таковых: n – число индивидов, p₁ – при доброкачественных опухолях яичников; p₂ – на предыдущей стадии; p₃ – без асцита; p₄ – без метастазов.

Note: the data are statistically significantly different from those: n – number of individuals, p₁ – with benign ovarian tumors; p₂ – at the previous stage; p₃ – without ascites; p₄ – without metastases.

У 23 из 42 пациенток РЯ были выявлены метастазы и рецидивы. У этих пациенток достоверно выше количество $\text{EpCam}+\text{CD45-}$ и $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ в циркулирующей крови по сравнению с пациентками, у которых не были выявлены гематогенные метастазы и рецидивы после лечения (рис. 2).

Полученные нами данные позволяют предполагать, что количество опухолевых клеток $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ в циркулирующей крови было значимо больше у пациенток при распространенном процессе по сравнению с пациентками на ранних стадиях РЯ и при наличии асцита по сравнению с безасцитными формами РЯ (рис. 2).

Также в крови количество $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ опухолевых клеток коррелирует с уровнем СА-125 ($r = 0,604$, $p < 0,001$) и с уровнем He4 ($r = 0,528$, $p < 0,001$). В асците количество $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ коррелирует с уровнем СА-125 ($r = 0,338$, $p = 0,035$).

Нами не обнаружены коррелятивные связи между количеством опухолевых клеток фенотипов $\text{EpCam}+\text{CD45+}$ и $\text{EpCam}+\text{CD45-}$ как в асците, так и в циркулирующей крови с уровнем онкомаркеров СА-125 и HE4 .

В модели регрессии Кокса риск возникновения рецидива РЯ повышается в 1,17 (1,00-1,36, $p = 0,048$) раза при увеличении количества $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ в крови. При уве-

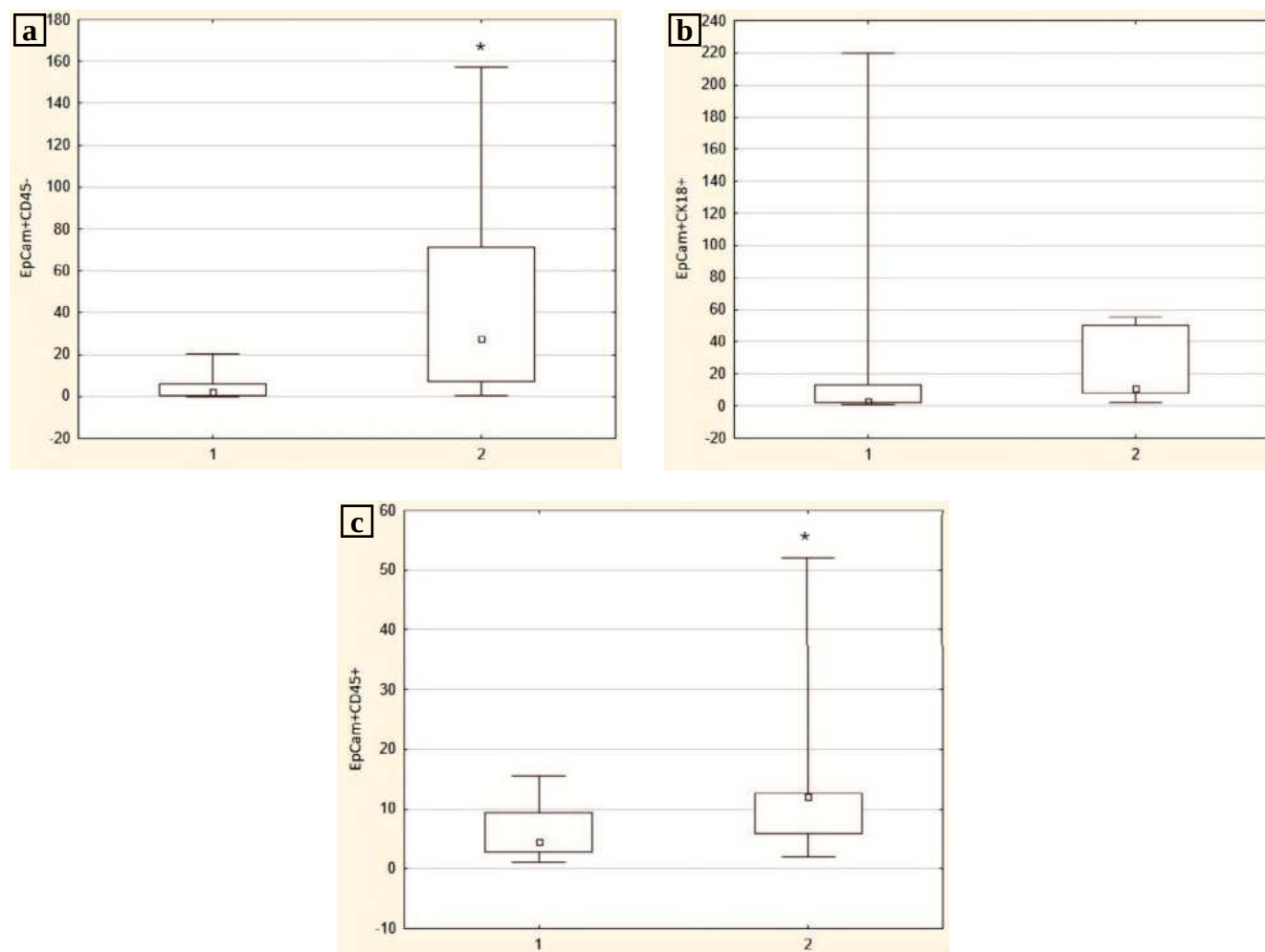


Рис. 2. Анализ частоты встречаемости $\text{EpCam}+\text{CD45-}$ (a), $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ (b), $\text{EpCam}+\text{CD45+}$ (c) – опухолевых клеток у пациенток при раке яичников в циркулирующей крови (1) и в асците (2), $\square$ – медиана, $\square$ – 25%-75%, I – минимум-максимум.

Примечание. * – статистически значимо отличается от количества в крови.

Fig. 2. Analysis of the frequency of occurrence of $\text{EpCam}+\text{CD45-}$ (a), $\text{EpCam}+\text{CK18+}$ (b), $\text{EpCam}+\text{CD45+}$ (c) – tumor cells in patients with ovarian cancer in the circulating blood (1) and in ascites (2), $\square$ – median, $\square$ – 25%-75%, I – minimum-maximum.

Note. * – statistically significantly different from the amount in the blood.

личении количества EpCam+CK18+ опухолевых клеток, циркулирующих в крови выше 12,8 шт/мл, медиана ВБП у пациенток с РЯ составляет 21,9 (21,9 – Н/О, 95% ДИ) недель (**рис. 3**).

В модели регрессии Кокса риск возникновения рецидива РЯ повышается в 1,14 (1,04–1,24, $p = 0,004$) раза при увеличении количества циркулирующих EpCam+CD45+ клеток в крови.

При увеличении количества опухолевых клеток EpCam+CD45+ циркулирующих в крови выше 5,3 шт/мл, медиана ВБП у пациентов с РЯ составляет 25,9 (25,9 – Н/О, 95% ДИ) недель (**рис. 4**). При количестве EpCam+CD45+ циркулирующих опухолевых клеток в крови меньше 5,3 шт/мл, медиана ВБП не определяется.

В многофакторном анализе ВБП предиктивный потенциал присутствовал для EpCam+CD45- в асците (ОР 1,03, 95 % ДИ 1,01-1,05, $p = 0,001$) и уровень HE4

в крови (ОР 1,00, 95 % ДИ 0,97-1,02, $p = 0,002$) у женщин с метастазами при распространенном РЯ.

Обсуждение

В клинической онкологии имеется острая потребность в доступных маркерах, позволяющих оценить риск прогрессирования и чувствительность к используемым схемам лечения. EpCam изначально был идентифицирован как антиген, ассоциированный с опухолью, благодаря его высокой экспрессии в быстрорастущих эпителиальных опухолях. EpCam экспрессируется во многих видах эпителиальных опухолей [11]. При КРР комплекс EpCam с клаудином, СО-029 и CD44v6 способствует прогрессированию и повышает устойчивость раковых клеток к апоптозу [12]. Способность EpCam повышать устойчивость к химиотерапии посредством сигнального пути Wnt5b показана при миелоидном лейкозе [13].

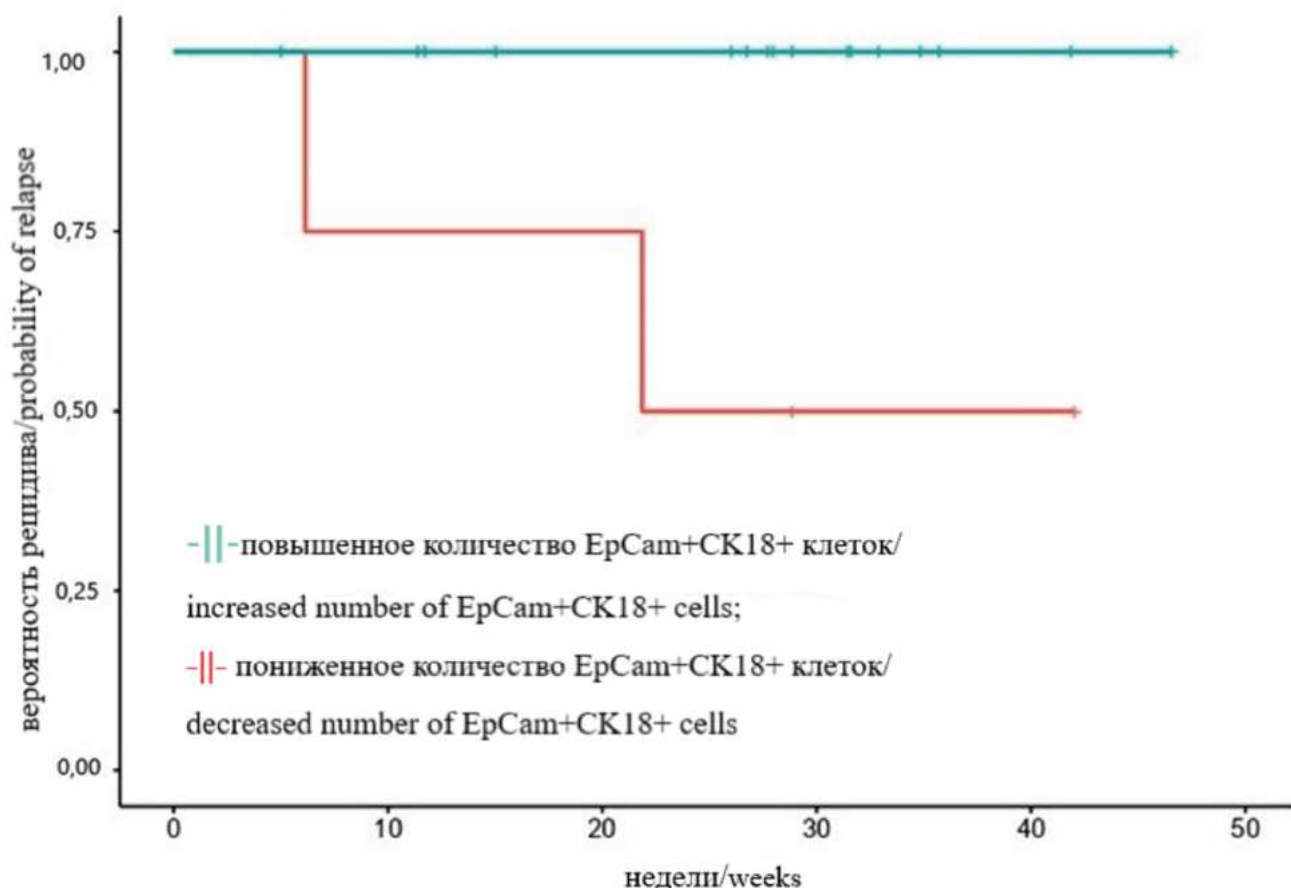


Рис. 3. Кривая времени без прогрессирования пациенток с раком яичников в зависимости от количества EpCam+CK18+ в крови (cut-point = 12,8 шт/мл) (Long-rank = 0,048).

Fig. 3. Progression-free time curve of patients with ovarian cancer depending on the amount of EpCam+CK18+ in the blood (cut-point = 12.8 pcs/ml) (Long-rank = 0.048).

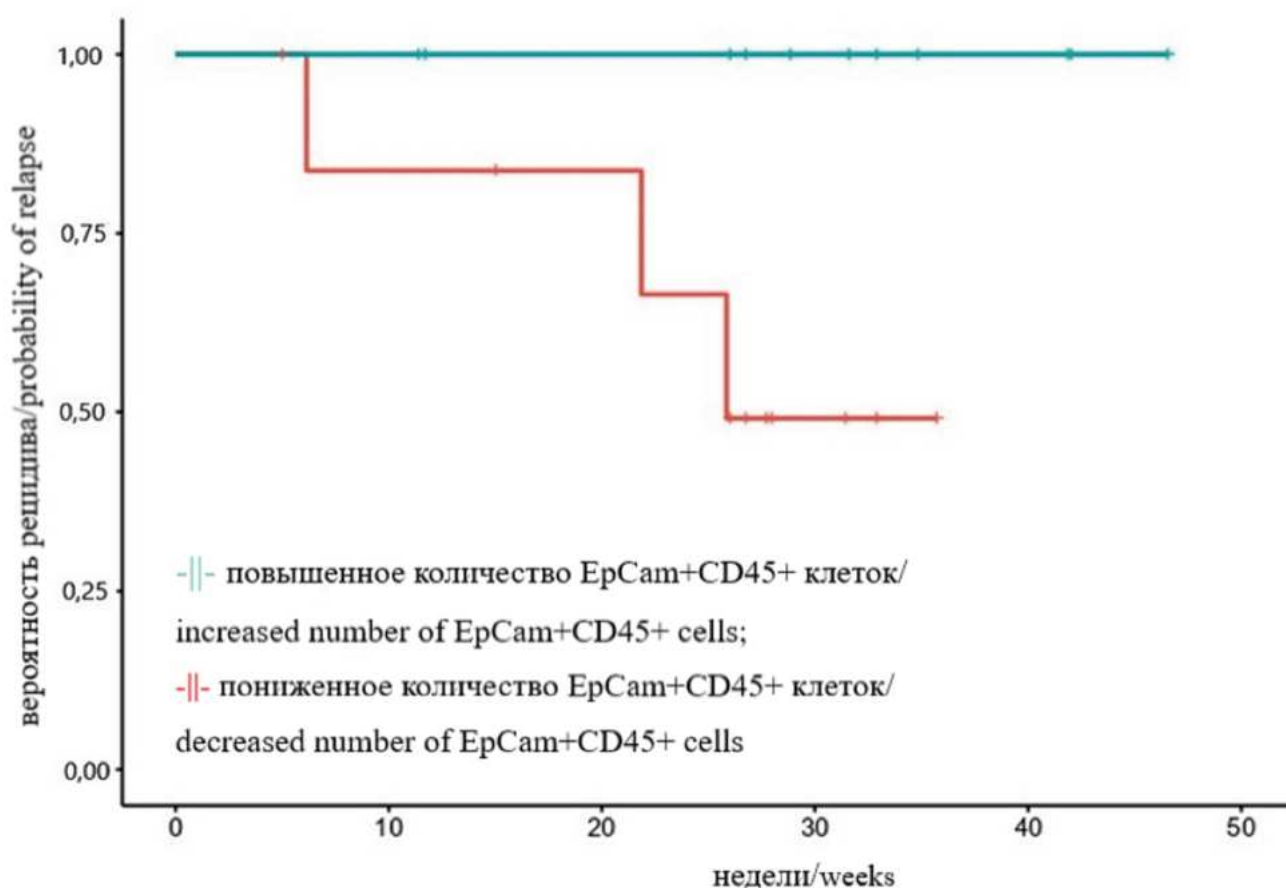


Рис. 4. Кривая времени без прогрессирования пациенток с раком яичников в зависимости от количества EpCam+CD45+ в крови (cut-point = 5,3 шт/мл) (Long-rank = 0,004).

Fig. 4. Progression-free time curve of patients with ovarian cancer depending on the amount of EpCam+CD45+ in the blood (cut-point = 5.3 pcs/ml) (Long-rank = 0.004).

В то же время установлено, что при некоторых видах рака: ротовой полости и ротоглотки [14], карциноме эндометрия [15], карциноме прямой кишки [10] – EpCam может рассматриваться как супрессор опухолей. Молекулярные механизмы противоопухолевой функции EpCam на сегодняшний день не ясны. Анализ частоты встречаемости EpCam+ опухолевых клеток показал, что у пациенток в асците при РЯ наблюдалось значимое увеличение количества EpCam+CD45- и EpCam+CD45+ по сравнению с аналогичными показателями в циркулирующей крови.

СК18 – основной структурный компонент цитоплазмы эпителиальных клеток [16], за исключением плоского эпителия. СК18 в основном экспрессируется в однослойных эпителиальных тканях и в опухолях, возникающих из СК18 – положительных эпителиальных клеток [17]. В хирургической патологии СК18 используется для вы-

явления аденокарцином, возникающих из СК18 – положительных эпителиальных клеток [18]. Выраженная экспрессия СК18 имела место в ряде опухолей, в том числе при РЯ. При этом как снижение экспрессии СК18, так и её повышение могут быть связаны с неблагоприятным прогнозом в зависимости от биологических свойств опухоли [19]. Антитела к СК18 используются в качестве диагностических онкомаркеров. В то же время данные литературы об уровне экспрессии СК18 при многих видах рака противоречивы [20]. Так, показано, что повышенный уровень белка СК18 связан с неблагоприятными характеристиками опухоли при немелкоклеточном раке легких [21] и карциноме пищевода [22]. В то же время снижение экспрессии СК18 ассоциируется с прогрессированием колоректального рака [23] и рака молочной железы [24, 25]. Особого внимания заслуживает обнаружение

сильной связи между количеством EpCam+ CK18+ опухолевых клеток и концентрацией онкомаркеров при РЯ.

Использование циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) относят к малоинвазивным методам детекции. На сегодня в клинике используют в основном информацию о количественной оценке ЦОК. Молекулярная характеристика маркеров ЦОК существенно расширит диагностические возможности и точность оценки прогноза при РЯ.

Заключение

Исследовано количество EpCam-положительных опухолевых клеток в асците и циркулирующей крови пациентов на разных стадиях РЯ. Показана предиктивная значимость различных фенотипов EpCam+ опухолевых клеток в циркулирующей крови при оценке риска прогрессирования и периода ВБП при РЯ. Полученные данные могут быть использованы при прогнозировании течения РЯ.

Литература / References

- Lheureux S., Gourley C., Vergote I., Oza A.M. Epithelial ovarian cancer. *Lancet*. 2019; 393(10177): 1240 – 53. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32552-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32552-2)
- Reid F., Bhatla N., Oza A.M., Blank S.V., Cohen R., Adams T., et al. The World Ovarian Cancer Coalition Every Woman Study: identifying challenges and opportunities to improve survival and quality of life. *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2021; 31(2): 238 – 44. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2019-000983>
- Geng Z., Pan X., Xu J., Jia X. Friend and foe: the regulation network of ascites components in ovarian cancer progression. *J Cell Commun Signal*. 2023; 17(3): 391 – 407. <https://doi.org/10.1007/s12079-022-00698-8>
- Foster R., Buckanovich R.J., Rueda B.R. Ovarian cancer stem cells: working towards the root of stemness. *Cancer Lett*. 2013; 338(1): 147 – 57. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.10.023>
- Mohtar M.A., Syafruddin S.E., Nasir S.N., Low T.Y. Revisiting the Roles of Pro-Metastatic EpCAM in Cancer. *Biomolecules*. 2020; 10(2): 255. <https://doi.org/10.3390/biom10020255>
- Kaigorodova E.V., Savelieva O.E., Tashireva L.A., Tarabanovskaya N.A., Simolina E.I., Denisov E.V., et al. Heterogeneity of Circulating Tumor Cells in Neoadjuvant Chemotherapy of Breast Cancer. *Molecules*. 2018; 23(4): 727. <https://doi.org/10.3390/molecules23040727>
- Gires O., Pan M., Schinke H., Canis M., Baeuerle P.A. Expression and function of epithelial cell adhesion molecule EpCAM: where are we after 40 years? *Cancer Metastasis Rev*. 2020; 39(3): 969 – 87. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09898-3>
- Ruano A.P.C., Gadelha Guimarães A.P., Braun A.C., Flores B.C.T.C.P., Tariki M.S., Abdallah E.A., et al. Fusion Cell Markers in Circulating Tumor Cells from Patients with High-Grade Ovarian Serous Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(23): 14687. <https://doi.org/10.3390/ijms232314687>
- Brown T.C., Sankpal N.V., Gillanders W.E. Functional Implications of the Dynamic Regulation of EpCAM during Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Biomolecules*. 2021; 11(7): 956. <https://doi.org/10.3390/biom11070956>
- Ceelen W. Intraperitoneal EpCAM-Targeted Immunotoxin: A First Step Towards Engineering the Immune Environment in Colorectal Peritoneal Metastases? *Ann Surg Oncol*. 2021; 28(9): 4772 – 4. <https://doi.org/10.1245/s10434-021-10147-2>
- Panda S.S., Lee C.C., Geevimaan K., Chen K.C., Yang S.H., Shen C.N., et al. Intracellular domain of epithelial cell adhesion molecule induces Wnt receptor transcription to promote colorectal cancer progression. *J Biomed Sci*. 2024; 31(1): 72. <https://doi.org/10.1186/s12929-024-01057-y>
- Tavsan Z., Ayar Kayalı H. EpCAM-claudin-tetraspanin-modulated ovarian cancer progression and drug resistance. *Cell Adh Migr*. 2020; 14(1): 57 – 68. <https://doi.org/10.1080/19336918.2020.1732761>
- Zheng X., Fan X., Fu B., Zheng M., Zhang A., Zhong K., et al. EpCAM Inhibition Sensitizes Chemoresistant Leukemia to Immune Surveillance. *Cancer Res*. 2017; 77(2): 482 – 93. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0842>
- Umemori K., Ono K., Eguchi T., Kawai H., Nakamura T., Ogawa T., et al. EpEX, the soluble extracellular domain of EpCAM, resists cetuximab treatment of EGFR-high head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2023; 142: 106433. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2023.106433>
- Wen K.C., Sung P.L., Chou Y.T., Pan C.M., Wang P.H., Lee O.K., et al. The role of EpCAM in tumor progression and the clinical prognosis of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2018; 148(2): 383 – 92. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.11.033>
- Zambuto S.G., Jain I., Clancy K.B.H., Underhill G.H., Harley B.A.C. Role of Extracellular Matrix Biomolecules on Endometrial Epithelial Cell Attachment and Cytokeratin 18 Expression on Gelatin Hydrogels. *ACS Biomater Sci Eng*. 2022; 8(9): 3819 – 30. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.2c00247>
- Faridi N., Bathaie S.Z., Abroun S., Farzaneh P., Karbasian H., Tamanoi F., et al. Isolation and characterization of the primary epithelial breast cancer cells and the adjacent normal epithelial cells from Iranian women's breast cancer tumors. *Cytotechnology*. 2018; 70(2): 625 – 39. <https://doi.org/10.1007/s10616-017-0159-3>
- Weng Y.R., Cui Y., Fang J.Y. Biological functions of cytokeratin 18 in cancer. *Mol Cancer Res*. 2012; 10(4): 485 – 93. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-11-0222>
- Tayama S., Motohara T., Narantuya D., Li C., Fujimoto K., Sakaguchi I., Tashiro H., et al. The impact of EpCAM expression on response to chemotherapy and clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(27): 44312 – 25. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17871>
- Chen H.J., Yu Y., Sun Y.X., Huang C.Z., Li J.Y., Liu F., et al. Id4 Suppresses the Growth and Invasion of Colorectal Cancer HCT116 Cells through CK18-Related Inhibition of AKT and EMT Signaling. *J Oncol*. 2021; 2021: 6660486. <https://doi.org/10.1155/2021/6660486>
- Zhang B., Wang J., Liu W., Yin Y., Qian D., Zhang H., et al. Cytokeratin 18 knockdown decreases cell migration and increases chemosensitivity in non-small cell lung cancer. *Cancer Res Clin Oncol*. 2016; 142(12): 2479 – 87. <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2253-x>

22. Fillies T., Werkmeister R., Packeisen J., Brandt B., Morin P., Weingart D., et al. Cytokeratin 8/18 expression indicates a poor prognosis in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *BMC Cancer*. 2006; 6: 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-10>
23. Shalannandia W.A., Chou Y., Bashari M.H., Khairani A.F. Intermediate Filaments in Breast Cancer Progression, and Potential Biomarker for Cancer Therapy: A Narrative Review. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2024; 16: 689 – 704. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S489953>
24. Menz A., Weitbrecht T., Gorbokon N., Büscheck F., Luebke A.M., Kluth M., Hube-Magg C., et al. Diagnostic and prognostic impact of cytokeratin 18 expression in human tumors: a tissue microarray study on 11,952 tumors. *Mol Med*. 2021; 27(1): 16. <https://doi.org/10.1186/s10020-021-00274-7>
25. Hendawy S.R., Mansour M., Hamed M., Hossam A., Ramez A.M. Serum Cytokeratin 18 as a Potential Early Marker for Chemotherapy Response in Breast Cancer Patients: A Prospective Study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2023; 24(3): 969-75. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2023.24.3.969>

Сведения об авторах:

Абакумова Татьяна Владимировна, доктор биол. наук, доцент, профессор кафедры физиологии и патофизиологии, вед. науч. сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»

Антонеева Инна Ивановна, доктор мед. наук, профессор, профессор кафедры физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», зав. отделением онкогинекологии ГУЗ ОКОД

Мягдиева Ильсея Ринатовна, ст. преподаватель кафедры физиологии и патофизиологии, мл. науч. сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»

Долгова Динара Ришатовна, канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, ст. науч. сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»

Генинг Татьяна Петровна, доктор биол. наук, профессор, зав. кафедрой физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»

Генинг Снежанна Олеговна, канд. мед. наук, Ph.D., врач-онколог ООО «Лучи Здоровье»

Слесарева Юлия Сергеевна, студентка мед. факультета специальности «Лечебное дело» ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616.62-003.7-089/615.22

Баринов Э.Ф., Гиллер Д.И., Ахундова С.А.

Молекулярные механизмы гемостатической эффективности этамзилата после контактной уретеролитотрипсии

ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького», 84003, Донецк, Россия, проспект Ильича, д. 16

Введение. Понимание ключевых механизмов регуляции компенсаторных реакций тромбоцитов способствует разработке современных гемостатических терапевтических средств.

Цель исследования – установить особенности молекулярной регуляции проагрегантной функции тромбоцитов (Тц) при введении этамзилата (ЭТЗЛ) пациентам с макрогематурией после контактной уретеролитотрипсии (КУЛТ).

Методика. В исследование включены 42 пациента (20 мужчин и 22 женщины; средний возраст $52,9 \pm 1,4$ года), у которых в течение 6 ч после КУЛТ сохранялась макрогематурия, в связи с чем назначался ЭТЗЛ. Когорта больных распределена на две группы: с эффективным – 1-я группа (20 пациентов) и неэффективным гемостазом – 2-я группа (22 пациента). Исследовали активность пуриновых PX_1 - и $P2Y$ -рецепторов, аденозинового $A2A$ -рецептора, α_2 -адренорецептора, TP -рецептора к TxA_2 , $GPVI$ -рецептора к коллагену IV-типа и FAT -рецептора в концентрациях EC_{50} . Моделирование взаимодействия рецепторов воспроизводили при инкубации Тц с субпороговыми концентрациями агонистов (EC_{10}). Оценку агрегации тромбоцитов проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (USA). Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc.

Результаты. Через 6 часов после введения ЭТЗЛ у пациентов 1-й группы макрогематурия уменьшилась ($p < 0,05$), во 2-й группе – не изменилась. В 1-й группе выявлена гиперреактивность $P2X_1$ -рецептора, α_2 -адренорецептора, нормореактивность TP -рецептора, $P2Y$ -рецепторов, гипореактивность FAT -рецептора, $GP VI$ -рецептора и аденозинового $A2$ -рецептора. Во 2-й группе обнаружена гиперреактивность аденозинового $A2A$ -рецептора, α_2 -адренорецептора, нормореактивность $P2X_1$ -рецептора и гипореактивность $P2Y$ -рецепторов, TP -рецептора, FAT -рецептора, $GP VI$ -рецептора. Исследование *in vitro* подтвердило, что при эффективном гемостазе ЭТЗЛ модулировал активность $P2X_1$ -рецептора, α_2 -адренорецептора и TP -рецептора, при неэффективном – α_2 -адренорецептора, $P2X_1$ -рецептора и $P2Y$ -рецепторов. Максимальный эффект агрегации воспроизводился в 1-й группе при инкубации Тц с ЭТЗЛ и АТФ, во 2-й группе – при инкубации с ЭТЗЛ и адреналином.

Заключение. Гемостатическая эффективность ЭТЗЛ после контактной уретеролитотрипсии определяется кластером и активностью рецепторов, регулирующих агрегацию Тц.

Ключевые слова: этамзилат; нефролитиаз; контактная уретеролитотрипсия; гематурия; агрегация; рецепторы тромбоцитов

Для цитирования: Баринов Э.Ф., Гиллер Д.И., Ахундова С.А. Молекулярные механизмы гемостатической эффективности этамзилата после контактной уретеролитотрипсии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 85–95.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.85-95

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, оценка активности рецепторов тромбоцитов, анализ полученных данных, редактирование рукописи – Баринов Э.Ф.; проведение агрегатометрических исследований, обзор литературы, подготовка рукописи – Гиллер Д.И.; моделирование *in vitro* эффектов этамзилата, статистическая обработка данных – Ахундова С.А.

Для корреспонденции: Баринов Эдуард Федорович, доктор мед. наук, заведующий кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии и молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» МЗ РФ, Россия. e-mail: barinov.ef@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 06.11.2024

Принята к печати 01.11.2025

Опубликована 27.03.2026

Barinov E.F., Giller D.I., Akhundova S.A.**Molecular mechanisms of hemostatic efficiency of etamzilat after contact ureterolithotripsy**

FSBEI HE «Donetsk State Medical University», 16 Avenue Ilyicha, 83003, Donetsk, Russia

Introduction. Understanding the key mechanisms regulating platelet compensatory responses facilitates the development of modern hemostatic therapeutic agents.

The aim of the study was to determine the peculiarities of molecular regulation of the proaggregant function of platelets (Ps) during administration of etamsylate (ETZL) to patients with macrohematuria after contact urethrolithotripsy.

Methods. The study included 42 patients (20 men and 22 women; mean age 52.9 ± 1.4 years; 19-79 years) who had macrohematuria within 6 h after contact urethrolithotripsy (CLT) and were treated with ETZL (single dose – 250 mg). The cohort of patients was divided into two groups: with effective – Group 1 (20 patients) and ineffective hemostasis – Group 2 (22 patients). The activity of purine P_{X1}- and P_{2Y}-receptors, adenosine A_{2A}-receptor, α_2 -adrenoreceptor, TR-receptor to TxA₂, GPVI-receptor and PAF-receptor was investigated at EC₅₀ concentrations. The proaggregant effect of ETZL was assessed by incubating c with 10 μ M of the drug. Modeling of receptor interactions was reproduced by incubating Ps with subthreshold concentrations of agonists (EC₁₀). Platelet aggregation was assessed by the turbidimetric method on a ChronoLog analyzer (USA). Statistical analysis was performed using the MedCalc package.

Results. At 6h after the introduction of ETZL, macrohematuria decreased ($p < 0.05$) in Group 1 patients, and did not change in Group 2. Group 1 showed hyperreactivity of P_{2X1}-receptor, α_2 -adrenoreceptor, normoreactivity of TP-receptor, P_{2Y}-receptors and hyporeactivity of PAF-receptor and GP VI-receptor to collagen; adenosine A₂-receptor. In Group 2, hyperreactivity of adenosine A_{2A}-receptor, α_2 -adrenoreceptor, normoreactivity of P_{2X1}-receptor and hyporeactivity of P_{2Y}-receptor, TR-receptor, PAF-receptor, GP VI-receptor were found. An *in vitro* study confirmed that ETZL modulated the activity of P_{2X1}-receptor, α_2 -adrenoreceptor, and TP-receptor in effective hemostasis, and α_2 -adrenoreceptor, P_{2X1}-receptor, and P_{2Y}-receptor activity in ineffective hemostasis. The maximal aggregation effect was reproduced in Group 1 when Ps was incubated with ETZL and ATP, and in Group 2 when incubated with ETZL and adrenaline.

Conclusion. The hemostatic efficacy of ETZL after contact ureterolithotripsy is determined by the cluster and activity of receptors regulating Ps aggregation.

Keywords: etamsylate; nephrolithiasis; contact ureterolithotripsy; hematuria; aggregation; platelet receptors

For citation: Barinov E.F., Giller D.I., Akhundova S.A. Molecular mechanisms of hemostatic efficacy of etamzilat after contact ureterolithotripsy. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 85–95. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.85-95

Autor's contribution: Barinov E.F. – conception and design of the study, evaluation of platelet receptor activity, analysis of the obtained data, manuscript editing; Giller D.I.-conducting aggregometry studies, literature review, manuscript preparation; Akhundova S.A. – *in vitro* modeling of Etamzilat effects, statistical processing of data.

For correspondence: Eduard F. Barinov, MD, PhD, Head of the Department of Histology, Cytology, Embryology and Molecular Medicine, FSBEI HE «Donetsk State Medical University», 83003, 16 Avenue Ilyicha, Donetsk, Russia. e-mail: barinov.ef@gmail.com

Information about authors:Eduard Barinov, <https://orcid.org/0000-0002-8070-2242>Dina Giller, <https://orcid.org/0000-0002-0279-1294>Sabina Akhundova, <https://orcid.org/0009-0001-8400-6500>**Financing.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 06.11.2024

Accepted 01.11.2025

Published 27.03.2026

Введение

Понимание ключевых механизмов коагуляции крови способствует разработке современных гемостатических терапевтических средств. С развитием современной биотехнологии рекомбинантные факторы свертывания стали доступны в качестве фармакологических препаратов [1]. Однако низкая распространенность многих факторов свертывания в плазме человека ограничивает их производство и клиническое применение [2]. В этой связи акцент в исследованиях по управлению гемостазом переносится на тромбоциты (Тц), которые участвуют в модуляции каскада коагуляции при геморрагии и тромбозе [3]. Известно, что в ответ на действие различных агонистов реакция Тц проявляется экзоцитозом плотных гранул, синтезом тромбоксана A₂ (TxA₂), активацией интегрина α IIb β 3 [4]. Логичным представляется разработка препаратов, позволяющих управлять функцией Тц. Так, Zhu Z. et al. [5] приводят результаты испытаний одного из таких образцов, который значительно усиливал высвобождение веществ из гранул Тц, вызывал активацию интегрина α IIb β 3; эффект обусловлен активацией сигнальных путей фосфолипазы C γ 2 и протеинкиназы C. Идея сама по себе не новая, поскольку до настоящего времени в клинической практике используется синтетическое гемостатическое средство этамзилат (диэтиламмониевая соль 2,5-дигидроксибензолсульфоната) [6]. Последний метаанализ, касающийся результатов клинических и фундаментальных исследований этамзилата (ЭТЗЛ) за 40 лет, опубликован [7] еще в 2006 году. Контролируемые клинические исследования показали терапевтическую эффективность этамзилата при дисфункциональных маточных кровотечениях, перивентрикулярных кровоизлияниях, хирургических и послеоперационных геморрагиях. Анализ механизма действия показал, что этамзилат действует на первом этапе гемостаза, улучшая адгезию тромбоцитов посредством Р-селектин-зависимого механизма [8]. Впоследствии, Cobo-Núñez NY et al. [9] пришли к заключению, что этамзилат эффективен только в определенных геморрагических ситуациях. По сути, остается невыясненной различная гемостатическая эффективность ЭТЗЛ.

Гипотеза. Если этамзилат оказывает гемостатический эффект посредством усиления проагрегантной активности Тц, то эффективность гемостаза (прекращение геморрагии или снижение ее выраженности) зависит от активности рецепторов, способных модулировать секрецию селектинов. Установлено, что в первые сутки после КУЛТ «возмущающее» воздействие на систему гемостаза оказывает не только механическое повреждение

стенки сосудов мочевыводящих путей (МВП), эндотелиальная дисфункция, ингибирование ЦОГ, связанное с назначением неселективных НПВП, но и влияние хирургической «стресс-реакции» на компенсаторные механизмы тромбоцитов (Тц). Поскольку индивидуальная реактивность организма проявляется чувствительностью рецепторов клеток-мишеней, то выраженность геморрагии зависит от активности рецепторов, регулирующих адгезию и агрегацию Тц. В этом контексте сохранение геморрагии/гематурии после оперативного вмешательства (неэффективный гемостаз) связано с дисфункцией тромбоцитарного звена гемостаза. Логично предположить, что назначение этамзилата обеспечивает ограничение геморрагии при сохранении определенных путей сигнализации в Тц.

Цель исследования – установить особенности молекулярной регуляции проагрегантной функции Тц при введении этамзилата пациентам с макрогематурией после контактной уретеролитотрипсии.

Методика

В исследование включены 42 пациента (20 мужчин и 22 женщины; средний возраст $52,9 \pm 1,4$ года; 19–79 лет), у которых на фоне стандартной литокINETической терапии в течение 7 суток, по данным визуализационного контроля, не произошла элиминация конкремента из средней трети мочеточника. Стандартная литокINETическая терапия включала НПВП (диклофенак натрия, 100–150 мг/сут), α_{1A} -адреноблокатор (тамсулозин, 0,4 мг/сут) и антибиотики. Средний размер конкремента составил $14,3 \pm 0,9$ мм (min-max 8,0–30,0 мм). По показаниям проведена антеградная контактная уретеролитотрипсия (КУЛТ) с использованием электроимпульсного литотриптора «Уролит» (ООО «МедЛайн»), ультразвукового литотриптора Karl Storz CALCUSON, гольмиевого лазерного литотриптора KARL STORZ Calculase II или их комбинации. После оперативного вмешательства на протяжении 2 суток с целью анальгезии назначали неселективные НПВП. При сохранении макрогематурии в течение 6 ч после КУЛТ пациентам внутривенно вводили этамзилат (разовая доза составила 250 мг). Макрогематурия диагностировалась, если количество эритроцитов составляло $\frac{1}{2}$ и более поля зрения. Микрогематурию определяли при наличии 3-х и более эритроцитов в поле зрения при микроскопии осадка мочи; при этом выделяли легкую степень – 3–10 э/пз, среднюю – 11–49 э/пз и тяжелую степень микрогематурии – 50–100 э/пз. Когорта больных распределена на две группы: с эффективным гемостазом – 20 пациентов (1-я группа), у которых через 6 часов после вве-

дения ЭТЗЛ гематурия снизилась на 43,2% ($p < 0,001$) по сравнению со значениями до введения препарата (соответственно, $41,2 \pm 0,8$ э/пз и $72,5 \pm 1,6$ э/пз). При неэффективном гемостазе (2-я группа, 22 пациента) у пациентов сохранялась макрогематурия.

Протокол исследования агрегационной способности Тц соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегатометрии [10]. Оценку агрегации Тц (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (USA). Анализ функциональной активности рецепторов проводили *in vitro* на суспензии Тц, для чего из периферической крови путем центрифугирования выделяли обогащенную тромбоцитами плазму. В пробе содержание Тц в 1 мкл составляло 200000 ± 20000 . В исследовании применяли агонисты рецепторов, участвующих в регуляции агрегации Тц, в частности: АДФ (лиганд пуриновых P2Y-рецепторов), ТхА2 (лиганд TP-рецептора), АТФ (лиганд пуриновых P₁-рецепторов), адреналин (неселективный лиганд α_2 -адренорецептора), коллаген IV типа (лиганд GPVI-рецептора), фактор активации тромбоцитов (лиганд ФАТ-рецептора), аденозин (лиганд A2A-рецептора). Проагрегантный эффект ЭТЗЛ оценивали при инкубации Тц с 10 мкМ препарата. В работе также применяли субпороговые концентрации агонистов, которые в контрольной группе (5 здоровых доноров) вызывали АТц на уровне 10% (ЕС₁₀). Анализ агрегатограмм проводили по следующим параметрам: амплитуда агрегации тромбоцитов (%); максимальный наклон кривой (Slope, %/мин); площадь под кривой (AUC, U). У всех обследованных пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc 18.10.2. Размер выборки из 42 пациентов был достаточным для выявления снижения гематурии на 5 эр/в поле зрения при микроскопии осадка мочи в первые 24 часа после КУЛТ со стандартным отклонением 9, мощностью 80% и уровнем значимости 5%. Точечная оценка величин, подлежащих анализу, проводилась путем расчета среднего арифметического признака ($\bar{x}$) или его медианы (Me) и соответствующей стандартной погрешности (m). При анализе межгрупповых различий применяли критерий Стьюдента (в случае нормального закона распределения) и критерий Вилкоксона (в случае отклонения закона распределения от нормального). Для выявления связи между признаками применяли методы корреляционного анализа: рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона или показатель ранговой корреляции Спирмена. Различие считалось статистически значимым при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Исследовательский вопрос – отличается ли функциональная активность рецепторов Тц до введения ЭТЗЛ при эффективном и неэффективном гемостазе после КУЛТ? До введения ЭТЗЛ у пациентов 1-й группы выявлена гиперреактивность P2X₁-рецептора, α_2 -адренорецептора и TP-рецептора, нормореактивность ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора; гипореактивность аденозинового A2-рецептора и P2Y-рецепторов (табл. 1). Активность P2X₁-рецептора превышала таковую α_2 -адренорецептора и TP-рецептора, соответственно, на 6,2% и 9,8% ($p < 0,01$). Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность P2X₁-рецептора > активности α_2 -адренорецептора = активности TP-рецептора > активности ФАТ-рецептора = активности GP VI-рецептора > активности аденозинового A2A-рецептора = активности P2Y-рецепторов. Следовательно, компенсаторные механизмы, направленные на спонтанный гемостаз после КУЛТ, проявляются усилением сигнализации через катионный P2X₁-рецептор; α_2 -адренорецептор, ассоциированный с Gi-белком и TP-рецептор, связанный с Gq- G_{12/13}-белками.

Включение компенсаторных механизмов Тц может быть обусловлено увеличением содержания внеклеточного АТФ (следствие гипоксии/ишемии тканей МВП), сохраняющейся активацией симпатoadреналовой системы, САС (результат послеоперационной ноцицепции) и повышением синтеза ТхА2 (активация ЦОГ вследствие пиелонефрита).

Во 2-й группе до введения ЭТЗЛ имела место нормореактивность α_2 -адренорецептора, P2X₁-рецептора и гипореактивность остальных рецепторов. Необходимо констатировать, что физиологический уровень пуринергической и адренергической сигнализации в Тц не обеспечивал значимого ограничения послеоперационной гематурии. Сохранение порогового уровня адреналина до и после КУЛТ может трактоваться как проявление индивидуальной реактивности организма, обеспечивающей ограничение стресс-реакции. Подтверждением индивидуальной реактивности пациентов могут быть выявленные различия чувствительности рецепторов в обследованных группах. Так, в 1-й группе активность TP-рецептора была на 53,8% ($p < 0,001$), P2X₁-рецептора на 43,5% ($p < 0,001$), ФАТ-рецептора на 34,3% ($p < 0,001$), GP VI-рецептора на 24,4% ($p < 0,001$) и α_2 -адренорецептора на 10,5% ($p < 0,001$) выше, чем во 2-й группе. Обращает на себя внимание гипореактивность Тц при кратковременной инкубации с ЭТЗЛ в обеих группах.

Таблица 1 / Table 1

Активность рецепторов тромбоцитов при эффективном (1-я группа) и неэффективном (2-я группа) гемостазе через 6 ч после контактной уретеролитотрипсии до введения этамзилата

Platelet receptor activity in effective (Group 1) and ineffective (Group 2) hemostasis 6 h after contact ureterolithotripsy before etamsilat administration

Агонист, EC ₅₀ Agonist, EC ₅₀	Активность рецепторов на изолированных тромбоцитах (%) Receptor activity on isolated platelets (%)			
	1-я группа (n = 20) Group 1 (n = 20)		2-я группа (n = 22) Group 2 (n = 22)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max	$\bar{X} \pm m$	Min – Max
АТФ ATP	64,7 ± 0,8	58,0–70,0	45,1 ± 0,7 $P < 0,001$	40,0–50,0
Адреналин Adrenalin	60,9 ± 0,8	56,0–70,0	55,1 ± 1,1 $P < 0,001$	47,0–60,0
ТхА2 TxA2	58,9 ± 0,9	50,0–65,0	38,3 ± 0,7 $P < 0,001$	32,0–42,0
ФАТ PAF	48,1 ± 0,7	42,0–53,0	35,8 ± 1,3 $P < 0,001$	29,0–44,0
Коллаген Collagen	46,9 ± 1,1	40,0–55,0	37,7 ± 0,8 $P < 0,001$	32,0–42,0
Этамзилат Etamsylate	41,2 ± 0,8	35,0–47,0	37,3 ± 0,7 $P = 0,002$	30,0–40,0
Аденозин Adenosine	40,4 ± 0,6	35,0–44,0	42,0 ± 1,2	42,0–55,0
АДФ ADP	39,7 ± 0,7	33,0–45,0	41,0 ± 0,7	35,0–45,0

Примечание: P – достоверность различий показателя между группами.

Note: P – significance of differences in the indicator between groups.

Исследовательский вопрос – отличается ли активность рецепторов Тц через 6 часов после введения стандартной дозы ЭТЗЛ при эффективном и неэффективном гемостазе? У пациентов 1-й группы выявлена гиперреактивность P2X₁-рецептора, α₂-адренорецептора, нормореактивность TP-рецептора, P2Y-рецепторов и гипореактивность ФАТ-рецептора, GP VI-рецептора и аденозинового A2-рецептора (**табл. 2**). По сравнению со значениями до введения ЭТЗЛ обнаружено повышение активности P2Y-рецепторов на 15,1% ($P < 0,001$); сохранение активности α₂-адренорецептора, а также снижение активности рецептора P2X₁-рецептора на 7,1% ($P = 0,003$), TP-рецептора на 18,0% ($P < 0,001$), ФАТ рецептора на 9,1% $P < 0,001$ и GPVI-рецептора на 5,6% ($P < 0,001$). Анализ множественной корреляции выявил

положительную связь между активностью P2X₁-рецептора и α₂-адренорецептора, TP-рецептора (соответственно, $r_{P2X_1-\alpha_2AP} = 0,600$, $p < 0,05$ и $r_{P2X_1-TP} = 0,405$; $p < 0,05$). Имеет место отрицательная связь между выраженностью гематурии и активностью P2X₁-рецептора ($r = -0,676$; $p < 0,05$), α₂-адренорецептора ($r = -0,555$; $p < 0,05$) и TP-рецептора ($r = -0,507$; $p < 0,05$). Установлена корреляционная связь между агрегацией Тц, индуцированной ЭТЗЛ, P2X₁-рецептором, α₂-адренорецептором и TP-рецептором (соответственно, $r_{ЭТЗЛ-P2X_1} = 0,500$, $p < 0,05$; $r_{ЭТЗЛ-\alpha_2AP} = 0,433$, $p < 0,05$; $r_{ЭТЗЛ-TP} = 0,394$; $p < 0,05$). Можно предположить, что ограничение гематурии при введении ЭТЗЛ связано с усилением агрегации Тц вследствие амплификации сигнальных путей повышения уровня внутриклеточного Ca²⁺ (посредством α₂-адренорецептора, сопряженного

Таблица 2 / Table 2

Активность рецепторов тромбоцитов при эффективном (1-я группа) и неэффективном (2-я группа) гемостазе через 6 ч после введения этамзилата

Platelet receptor activity in effective (Group 1) and ineffective (Group 2) hemostasis 6 h after etamzilate administration

Агонист EC ₅₀ Agonist EC ₅₀	Активность рецепторов на изолированных тромбоцитах (%) Receptor activity on isolated platelets (%)			
	1-я группа (n = 20) Group 1 (n = 20)		2-я группа (n = 22) Group 2 (n = 22)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max	$\bar{X} \pm m$	Min – Max
АТФ ATP	60,1 ± 1,2**	44,0–67,0	52,1 ± 1,0*** P < 0,001	43,0–57,0
Адреналин Adrenalin	59,9 ± 1,1	46,0–65,0	57,7 ± 1,5*	50,0–67,0
ТхА2 TxA2	48,3 ± 1,0***	40,0–55,0	40,1 ± 0,9 P < 0,001	35,0–45,0
АДФ ADP	45,7 ± 0,8	40,0–53,0	42,7 ± 0,9*** P = 0,026	38,0–50,0
ФАТ PAF	43,7 ± 0,8***	39,0–51,0	38,5 ± 1,1 P < 0,001	33,0–46,0
Коллаген Collagen	39,6 ± 0,8***	35,0–45,0	38,1 ± 0,8	34,0–43,0
Аденозин Adenosine	40,9 ± 0,6	35,0–46,0	59,1 ± 1,3 *** P < 0,001	50,0–66,0

Примечание: *** – достоверность различий на уровне $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$ и * – $p < 0,05$ по сравнению со значениями показателя до введения этамзилата. P – достоверность различий показателя между группами.

Note: *** – significance of differences at the level of $p < 0.001$, ** – $p < 0.01$ and * – $p < 0.05$ compared to the values of the indicator before etamzilate administration. P – significance of differences in the indicator between groups.

с Gi-белком; P2X₁-рецептора, открывающего Ca²⁺-канал, и TP-рецептора запускающего, сигнализацию посредством Gq- и G_{12/13}-белков).

Во 2-й группе выявлена гиперреактивность аденозинового A2A-рецептора, α₂-адренорецептора, нормореактивность P2X₁-рецептора и гипореактивность P2Y-рецепторов, TP-рецептора, ФАТ-рецептора, GPVI-рецептора. При этом активность аденозинового A2A-рецептора и P2X₁-рецепторов повышалась, соответственно, на 40,7% и 15,5% ($p < 0,001$) по сравнению с таковой до введения ЭТЗЛ; активность остальных рецепторов не изменилась. Положительная связь между активностью P2X₁-рецептора и α₂-адренорецептора ($r = 0,432$, $p < 0,05$), а также между активностью α₂-адренорецептора и P2Y-рецепторов ($r = 0,409$, $p < 0,05$) свидетельствует о взаимодействии катионного Ca²⁺-канала (следствие повышения внеклеточного содержания АТФ) и сигнальных путей, ассоцииро-

ванных с Gi- и Gq-белками, направленных на повышение уровня внутриклеточного Ca²⁺ в Тц.

Корреляционная связь между агрегацией Тц, индуцированной ЭТЗЛ и адреналином, АТФ, АДФ (соответственно, $r_{\text{ЭТЗЛ-а2AP}} = 0,518$, $p < 0,05$; $r_{\text{ЭТЗЛ-P2X}} = 0,411$; $p < 0,05$; $r_{\text{ЭТЗЛ-P2Y}} = 0,365$, $p < 0,05$) подтверждает факт модуляции гемостатиком реактивности α₂-адренорецептора, P2X₁-рецептора и P2Y-рецепторов при неэффективном гемостазе. Наличие отрицательной корреляционной связи между активностью аденозинового A2A-рецептора и P2Y-рецепторов ($r = -0,461$, $p < 0,05$), а также отсутствие таковой между АТц, индуцированной ЭТЗЛ и аденозином позволяет предположить, что изменения пуринового метаболизма обусловлены включением защитной реакции при гипоксии/ишемии тканей МВП и не связаны с введением гемостатика. Следовательно, при введении ЭТЗЛ включается стереотипный компенсаторный механизм Тц, связанный со

стимуляцией P2X₁-рецептора и α_2 -адренорецептора. Вероятно эффективность гемостаза зависит от степени активации рецепторов Тц, поскольку во 2-й группе активность P2X₁-рецептора была ниже на 13,3% ($p < 0,001$), TP-рецептора – на 17,0% ($p < 0,001$), P2Y-рецепторов – на 6,6% ($p < 0,05$), ФАТ – на 11,9% ($p < 0,001$), чем в 1-й группе. В этой связи важными представляются корреляционные связи рецептора, доминирующего в кластере, поскольку эффект его чрезмерной стимуляции может быть результатом синергизма с другими рецепторами. В 1-й группе таковым является P2X₁-рецептор, активность которого связана с активностью α_2 -адренорецептора и TP-рецептора, во 2-й группе – α_2 -адренорецептор, эффект стимуляции которого зависел от активности пуриновых P2X₁- и P2Y-рецепторов. Приведенные факты позволяют предположить участие различных путей сигнализации в регуляции компенсаторной реакции тромбоцитарного звена гемостаза у пациентов с эффективным и неэффективным гемостазом, индуцированным ЭТЗЛ. Для проверки данной гипотезы целесообразно использовать метод моделирования взаимодействия рецепторов Тц *in vitro* с использованием субпороговой дозы агонистов.

В 1-й группе установлено, что максимальный эффект агрегации проявлялся при изолированной стимуляции Тц посредством АТФ (табл. 3). При связывании адреналина с α_2 -адренорецептором значения Slope были сопоставимыми с таковыми при стимуляции P2X₁-рецептора, однако площадь под AUC – ниже на 17,4% ($p = 0,002$). По сути, при стимуляции сигнального пути, связанного с Gi-белком, в агрегацию вовлекается меньшее количество Тц, чем при включении АТФ-зависимого катионного канала. Характеристики агрегатограмм при инкубации Тц с ЭТЗЛ и адреналином являются сопоставимыми. При инкубации Тц одновременно с ЭТЗЛ и АТФ зарегистрирован максимальный эффект агрегации. Амплитуда, Slope и AUC при модуляции P2X₁-рецептора были выше, соответственно, на 8,2%, 5,1% и 21,2% ($p < 0,05$), относительно таковых при изолированной стимуляции P2X₁-рецептора. В основе данного эффекта может лежать повышение уровня внутриклеточного Ca²⁺ при открытии катионного канала. При инкубации Тц с ЭТЗЛ и ТхА2 проагрегантный эффект гемостатика снижался, отражением чего может быть уменьшение значений AUC на 19,2% ($P = 0,007$) по сравнению с таковыми при стимуляции Тц комбинацией ЭТЗЛ и АТФ. При этом амплитуда агрегации и Slope не отличались от таковых при изолированной стимуляции Тц посредством ЭТЗЛ и ТхА2; различия касались AUC, значение которого при инкубации Тц с ЭТЗЛ и ТхА2 было на 47,1% ($P < 0,001$) больше, чем при изолированной стимуляции TP-рецептора.

Следовательно, модуляция сигнального пути, связанного с TP-рецептором при введении ЭТЗЛ – менее эффективна, чем при модуляции функции катионного АТФ-регулируемого канала. При одновременном воздействии на Тц ЭТЗЛ и адреналина параметры агрегации были сопоставимыми с таковыми при инкубации Тц с ЭТЗЛ и ТхА2.

Более высокие значения Slope при взаимодействии ЭТЗЛ и адреналина по сравнению с изолированным эффектом ЭТЗЛ (на 13,0%; $p < 0,05$) свидетельствуют об оптимизации внутриклеточной сигнализации, расположенной ниже Gi – белка. Таким образом, через 6 ч после введения ЭТЗЛ ограничение гематурии связано с активностью P2X₁-рецептора, TP-рецептора и α_2 -адренорецептора, обеспечивающих повышение уровня внутриклеточного Ca²⁺. Наиболее эффективный синергизм ЭТЗЛ связан с функцией АТФ-зависимого кальциевого канала.

Во 2-й группе адреналин, АТФ и АДФ в дозе ЕС₁₀ воспроизводили сопоставимые характеристики агрегации Тц (табл. 4). При инкубации Тц с ЭТЗЛ амплитуда агрегации, Slope и AUC были меньше, чем при стимуляции α_2 -адренорецептора, соответственно, на 11,5% ($p = 0,009$), 20,5% ($p = 0,010$) и 22,8% ($p = 0,001$). Проагрегантные эффекты ЭТЗЛ, АТФ и АДФ являлись сопоставимыми. Имеет ли место модуляция активности α_2 -адренорецептора, P2X₁-рецептора, P2Y-рецепторов при инкубации Тц с ЭТЗЛ? Установлено, что максимальный эффект агрегации воспроизводился при инкубации Тц одновременно с ЭТЗЛ и адреналином. В данном случае значения AUC больше на 22,8% ($p < 0,001$), чем при изолированной стимуляции α_2 -адренорецептора и являются сопоставимыми с AUC в 1-й группе при инкубации Тц с ЭТЗЛ и адреналином. При одновременной стимуляции тромбоцитов ЭТЗЛ и АТФ – амплитуда, Slope и AUC во 2-й группе были меньше, соответственно, на 20,6%, 26,4% и 23,3% ($p < 0,01$), чем в 1-й группе. Следовательно, (а) сигнальные пути α_2 -адренорецептора и P2X₁-рецептора являются стереотипными механизмом регуляции Тц в ранние сроки после КУЛТ; (б) модуляция ЭТЗЛ активности α_2 -адренорецептора совпадает при эффективном и неэффективном гемостазе; (в) потенцирование активности P2X₁-рецептора ЭТЗЛ – выше при эффективном гемостазе. При стимуляции пуриновых P2X₁- и P2Y-рецепторов на фоне введения ЭТЗЛ в суспензию Тц величина амплитуды, Slope и AUC не отличалась. Однако, значения AUC при совместном воздействии ЭТЗЛ и АТФ на Тц превышали таковые при изолированном действии АТФ на 17,5% ($p = 0,042$), а при инкубации с ЭТЗЛ и АДФ – на 19,0% ($p = 0,010$) изолированный эффект АДФ, что подтверждает потенцирование эффекта пуриновых P2-рецепторов в случае введения ЭТЗЛ. Таким образом, сохра-

Таблица 3 / Table 3

Характеристика показателей агрегации тромбоцитов при эффективном гемостазе (1-я группа) через 6 ч после введения этамзилата

Characteristics of platelet aggregation indices with effective hemostasis (Group 1) 6 hours after etamsylate administration

Агонисты EC ₁₀ Agonist EC ₁₀	Показатели агрегатограммы Aggregogram indicators		
	Амплитуда агрегации (%) Aggregation amplitude (%)	Slope (% мин)	AUC (U)
АТФ ATP	14,6 ± 0,8 (95% ДИ 12,7–16,5)	17,8 ± 1,2 (95% ДИ 15,0–20,6)	23,6 ± 0,9 (95% ДИ 21,5–25,7)
Адреналин Adrenalin	12,0 ± 0,4 (95% ДИ 11,0–13,0) P = 0,016	17,3 ± 0,6 (95% ДИ 15,9–18,7)	19,5 ± 0,7 (95% ДИ 17,9–21,1) P = 0,002
ТхА2 TxA2	12,0 ± 0,3 (95% ДИ 11,2–12,7)	14,1 ± 0,6 (95% ДИ 12,6–15,5) P = 0,002	15,7 ± 0,6 (95% ДИ 14,3–17,1) P < 0,001
Этамзилат Etamsylate	12,3 ± 0,4 (95% ДИ 11,3–13,3)	15,4 ± 0,6 (95% ДИ 13,9–16,7)	19,4 ± 0,9 (95% ДИ 17,3–21,5) P = 0,004
Этамзилат + АТФ Etamsylate + ATP	15,8 ± 0,4 ¹ (95%ДИ 14,9–16,6)	18,7 ± 0,6 ¹ (95%ДИ 17,3–20,1) P = 0,047	28,6 ± 1,4 ^{1,2} (95%ДИ 25,6–31,6) P = 0,042
Этамзилат + ТхА2 Etamsylate + TxA2	13,0 ± 0,9 (95%ДИ 11,0–15,0)	16,9 ± 1,0 (95%ДИ 14,8–19,1)	23,1 ± 1,4 ^{1,3} (95%ДИ 20,2–25,9) P = 0,007
Этамзилат + Адреналин Etamsylate + Adrenalin	12,3 ± 0,9 (95%ДИ 10,5–14,1)	17,4 ± 1,1 ¹ (95%ДИ 15,0–19,7)	21,1 ± 1,3 (95%ДИ 18,5–23,8)

Примечание: ¹ – статистически значимое различие значений показателя агрегатограммы при комбинации агонистов на уровне $p < 0,05$ по сравнению со изолированным воздействием, соответственно, этамзилата и АТФ. ² и ³ – статистически значимое различие значений показателя агрегатограммы при комбинации агонистов на уровне $p < 0,05$ по сравнению со изолированным воздействием, соответственно, адреналина и ТхА2. P – достоверность различий показателя относительно значений предыдущего агониста.

Note: ¹ – statistically significant difference of the aggregation curves indicator values at the level of $p < 0.05$ in combination of agonists in comparison with the isolated exposure, respectively, to etamsylate and ATP. ² and ³ – statistically significant difference of the aggregation curves indicator values at combination of agonists at the level of $p < 0.05$ in comparison with isolated exposure, respectively with adrenaline and TxA2. P – reliability of differences of the indicator relative to the values of the previous agonist.

нение макрогематурии у пациентов 2-й группы через 6 ч после введения ЭТЗЛ свидетельствует, что стимуляция α_2 -адренорецептора, P2X₁-рецептора и P2Y-рецепторов является менее эффективной, чем стимуляция α_2 -адренорецептора, P2X₁-рецептора и TP-рецептора у пациен-

тов 1-й группы при эффективном гемостазе. Следовательно, гемостатическая эффективность ЭТЗЛ определяется не только активностью, но и кластером рецепторов, способных усиливать агрегацию Тц посредством синергизма сигнальных путей.

Обсуждение

На прикладной аспект синергического действия двух лигандов Тц впервые обратили внимание Shah B.H. et al. [11]. Оказалось, что эффекты агонистов реализуются через множественные сигнальные пути, включая каскады активации фосфолипазы С_υ. В последующем Butt I.F. et al. [12] подтвердили, что большинство агонистов рецепторов Тц усиливают эффекты друг друга, и уровень вну-

триклеточного Ca²⁺ играет в этом процессе важную роль. На значимость различных моделей синергизма агонистов Тц для усиления проагрегантного эффекта указывают Aliotta A et al. [13]. В этом контексте особое внимание привлекает адреналин, который может связываться с адренергическими α_{2A}-рецепторами и усиливать реактивность Тц [14]. Эффект адреналина связан с воздействием фосфатидилсерина на Тц, что сопровождается повышением притока ионов Ca²⁺ и Na⁺ через обменники Na⁺/H⁺

Таблица 4 / Table 4

Характеристика показателей агрегации тромбоцитов при неэффективном гемостазе (2-я группа) через 6 ч после введения этамзилата

Characteristics of platelet aggregation indices with effective hemostasis (Group 2) 6 hours after etamsylate administration

Агонисты EC ₁₀ Agonist EC ₁₀	Показатели агрегатограммы Aggregogram indicators		
	Амплитуда агрегации (%)	Slope (% мин)	AUC (U)
Адреналин Adrenalin	12,2 ± 0,4 (95% ДИ 11,3–13,1)	15,1 ± 0,8 (95% ДИ 13,3–16,9)	18,0 ± 0,8 (95% ДИ 16,1–19,9)
АТФ ATP	12,9 ± 0,5 (95% ДИ 11,8–14,0)	14,9 ± 0,7 (95% ДИ 13,4–16,4)	15,4 ± 1,0 (95% ДИ 13,1–16,4)
АДФ ADP	11,7 ± 0,5 (95% ДИ 10,6–12,8)	13,0 ± 0,6 (95% ДИ 11,7–14,3)	14,7 ± 0,7 (95% ДИ 13,2–16,2)
Этамзилат Etamsylate	10,8 ± 0,4 (95% ДИ 9,8–11,8)	12,0 ± 0,5 (95% ДИ 10,8–13,2)	13,9 ± 0,6 (95% ДИ 12,6–15,2)
Этамзилат + Адреналин Etamsylate + Adrenalin	12,9 ± 0,8 (95% ДИ 11,0–14,7)	16,0 ± 1,2 ¹ (95% ДИ 13,3–18,7)	22,1 ± 1,7 ^{1,2} (95% ДИ 18,5–25,7)
Этамзилат + АТФ Etamsylate + ATP	11,6 ± 0,3 (95% ДИ 10,9–12,3)	13,1 ± 0,5 (95% ДИ 12,0–14,2) P = 0,047	18,1 ± 0,7 ^{1,3} (95% ДИ 16,7–19,5) P = 0,042
Этамзилат + АДФ Etamsylate + ADP	12,1 ± 0,5 (95% ДИ 10,9–13,2)	14,1 ± 0,7 (95% ДИ 12,5–15,7)	17,5 ± 0,7 ^{1,4} (95% ДИ 16,1–19,0)

Примечание: ¹ и ² – статистически значимое различие значений показателя агрегатограммы при комбинации агонистов на уровне $p < 0,05$ по сравнению с изолированным воздействием, соответственно, этамзилата и адреналина. ³ и ⁴ – статистически значимое различие значений показателя агрегатограммы при комбинации агонистов на уровне $p < 0,05$ по сравнению с изолированным воздействием, соответственно, АТФ и АДФ. P – достоверность различий показателя относительно значений предыдущего агониста.

Note: ¹ and ² – statistically significant difference of the aggregation curves values at the level of $p < 0.05$ in combination of agonists in comparison with the isolated exposure, respectively, to etamsylate and epinephrine. ³ and ⁴ – statistically significant difference of the aggregation curves indicator values at combination of agonists at the level of $p < 0.05$ in comparison with isolated exposure, respectively with ATP and ADP. P – reliability of differences of the indicator relative to the values of the previous agonist.

и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Прокоагулянтный ответ Тц зависит от секретируемого АДФ, GPIIb/IIIa-зависимой внешней сигнализации и активности фермента фосфоинозитол-3 киназы (PI3-K). Ингибирование вышеуказанных путей сигнализации, а также увеличение цитозольного цАМФ являются наиболее эффективными механизмами контроля, лимитирующими воздействие адреналина на Тц человека [15]. Доказано, что стимуляция α_2 -адренорецептора усиливает агрегацию Тц, вызванную подпороговой дозой коллагена [16]. Синергизм агонистов значительно снижался ингибитором ЦОГ, блокатором рецепторов GPIIb/IIIa и антагонистом рецепторов P2Y_{12} . Адреналин также усиливает агрегацию Тц, вызванную АДФ вследствие активации рецепторов фибриногена и повышения экспрессии Р-селектина [17]. Синергическое взаимодействие АДФ и адреналина подтверждают Kawano Y. et al. [18].

К настоящему времени расшифрованы основные пути сигнализации при взаимодействии рецепторов, участвующих в агрегации Тц. Так, синергизм между адреналином и ТхА2 запускается через рецепторы, связанные с G-белком, которые активируют сигнальные пути фосфолипазы $\text{C}\gamma_2$, ЦОГ и МАР-киназы [19]. Синергический эффект адреналина и ФАТ включает активацию сигнальных путей киназы фосфолипазы $\text{C}\gamma_2/\text{Ca}^{2+}$, ЦОГ и МАР-киназы [20]. Предварительная обработка тромбоцитов ФАТ и ионофором (A23187) вызывала повышение содержания Ca^{2+} , причем феномен синергизма обеспечивался посредством активации путей сигнализации ТхА2 и тирозинкиназы [21]. Тромбоксановый А2-путь является основным фактором усиления начальной активации Тц. Эффект воспроизводится посредством совместной активации сигнальных путей белков $\text{G}_{12/13}$ и G_z , в которых ключевую роль играет активация фосфолипазы С и протеинкиназы С [22]. Низкие

дозы ТхА2 запускают (а) фосфорилирование тирозина различных белков, включая киназы FAK, Src и Syk, независимо от сигналов, связанных с интегрином $\alpha\text{IIb}\beta_3$ или P2Y -рецепторами; (б) путь Rho/Rho-киназы, который опосредован белками $\text{G}_{12/13}$ [23]. Хотя низкие дозы ТхА2 и адреналина по отдельности не вызывали агрегацию Тц и активацию интегрин $\alpha\text{IIb}\beta_3$, сочетание двух стимулов воспроизводило эти реакции. Эти результаты свидетельствуют, что для синергизма α_2 -адренорецептора и ТР-рецептора задействована многоуровневая сигнализация, связанная с белками Gi-, Gq- и $\text{G}_{12/13}$. Данная концепция помогает объяснить, почему неполное ингибирование сигнализации ТР-рецептора сопровождается активацией Тц [24]. Повышение агрегации Тц при совместном действии субпороговых концентраций АДФ и ТхА2 установили Khan N. et al. [25]. Синергические эффекты зависели от управляемых рецепторами Ca^{2+} -каналов, активации участка ЦОГ/ТхА2, белок Gq/фосфолипаза $\text{C}\gamma$ и сигнальных путей МАРК-киназы.

Заключение

Через 6 часов после введения ЭТЗЛ пациентам с послеоперационной гематурией воспроизводится стереотипный механизм сигнализации, связанный с гиперреактивностью α_2 -адренорецептора Тц. Амплификации путей сигнализации вследствие синергизма рецепторов, связанных с Gi-белком (α_2 -адренорецептора и P2Y_1 -рецептор), Gq-белком (P2Y_{12} -рецептор и ТР-рецептор) и G_{13} -белком (ТР-рецептор) лежит в основе компенсаторных реакций Тц при эффективном гемостазе. Дальнейшее понимание механизмов, регулирующих прокоагулянтную функцию Тц, позволит сформулировать подходы к разработке новых гемостатических фармакологических препаратов.

Литература / References

1. Chen Z., Herzog R.W., Kaufman R.J. Cellular stress and coagulation factor production: when more is not necessarily better. *J Thromb Haemost.* 2023; 21(12): 3329–41. <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2023.10.005>
2. Yu L., Yang D., Chu M., Sun Y. Advances and challenges in the purification of recombinant coagulation factors: A review. *J Chromatogr A.* 2024; 1716: 464662. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2024.464662>
3. Al-Koussa H., AlZaim I., El-Sabban M.E. Pathophysiology of Coagulation and Emerging Roles for Extracellular Vesicles in Coagulation Cascades and Disorders. *J Clin Med.* 2022; 11(16): 4932. <https://doi.org/10.3390/jcm11164932>
4. Allen M.F., Hutchinson J.L., Keith M., Mallah S., Corey R.A., Trory J.S. Difluorinated thromboxane A_2 reveals crosstalk between platelet activatory and inhibitory pathways by targeting both the TP and IP receptors. *Br J Pharmacol.* 2024; 181(19): 3685–99. <https://doi.org/10.1111/bph.16435>
5. Zhu Z., Luo Y., Liao H., Guo R., Hao D., Lu Z. Icaritin Sensitizes Thrombin- and ТхА2-Induced Platelet Activation and Promotes Hemostasis via Enhancing PLC γ_2 -PKC Signaling Pathways. *Thromb Haemost.* 2024; 124(8): 753–69. <https://doi.org/10.1055/a-2245-8457>
6. Okuma M., Takayama H., Sugiyama T., Sensaki S., Uchino H. Effects of etamsylate on platelet functions and arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost.* 1982; 48(3): 330–3.
7. Garay R.P., Chiavaroli C., Hannaert P. Therapeutic efficacy and mechanism of action of etamsylate, a long-standing hemostatic agent. *Am J Ther.* 2006; 13(3): 236–47. <https://doi.org/10.1097/01.mjt.0000158336.62740.54>
8. Alvarez-Guerra M., Hernandez M.R., Escolar G., Chiavaroli C., Garay R.P., Hannaert P. The hemostatic agent etamsylate enhances P-selectin membrane expression in human platelets and cultured endothe-

- lial cells. *Thromb Res*. 2002; 107(6): 329–35. [https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(02\)00353-5](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(02)00353-5)
9. Cobo-Nuñez M.Y., El Assar M., Cuevas P., Sánchez-Ferrer A., Martínez-González J. Haemostatic agent etamsylate -рецепт and in vivo antagonizes anti-coagulant activity of heparin. *Eur J Pharmacol*. 2018; 827: 167–72. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.03.028>
 10. Lawrie A.S., Kobayashi K., Lane P.J., Mackie I.J., Machin S.J. The automation of routine light transmission platelet aggregation. *Int J Lab Hematol*. 2014; 36(4): 431–8. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12161>
 11. Shah B.H., Siddiqui A., Qureshi K.A., Khan M., Rafi S., Ujan V.A., Yakoob M.Y. Co-activation of Gi and Gq proteins exerts synergistic effect on human platelet aggregation through activation of phospholipase C and Ca²⁺ signalling pathways. *Exp Mol Med*. 1999; 31(1): 42–6. <https://doi.org/10.1038/emmm.1999.7>
 12. Butt I.F., Saeed S.A., Waqar S.N., Aslam M. Synergistic interaction of epinephrine and calcium ionophore in platelet aggregation *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2005; 17(2): 1–5.
 13. Aliotta A., Bertaggia Calderara D., Alberio L. Flow Cytometric Monitoring of Dynamic Cytosolic Calcium, Sodium, and Potassium Fluxes Following Platelet Activation. *Cytometry A*. 2020; 97(9): 933–944. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24017>
 14. Singh S., Malm C.J., Ramström S., Hesse C., Jeppsson A. Adrenaline enhances -рецепт platelet activation and aggregation in blood samples from ticagrelor-treated patients. *Res Pract Thromb Haemost*. 2018; 2(4): 718–25. <https://doi.org/10.1002/rth2.12149>
 15. Gołaszewska A., Misztal T., Kazberuk A., Rusak T. Study on the Mechanism of the Adrenaline-Evoked Procoagulant Response in Human Platelets. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(5): 2997. <https://doi.org/10.3390/ijms25052997>
 16. Gołaszewska A., Misztal T., Marcinczyk N., Chabielska E., Rusak T. Adrenaline May Contribute to Prothrombotic Condition via Augmentation of Platelet Procoagulant Response, Enhancement of Fibrin Formation, and Attenuation of Fibrinolysis. *Front Physiol*. 2021; 12: 657881. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.657881>
 17. Singh S., Damén T., Nygren A., Shams Hakimi C., Ramström S., Dellborg M., Lindahl T.L. Adrenaline Improves Platelet Reactivity in Ticagrelor-Treated Healthy Volunteers. *Thromb Haemost*. 2019; 119(5): 735–43. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1683461>
 18. Kawano Y., Katsuyama M., Nagata M., Obana M., Nakamatsu S. Anti-platelet Effect of Mirtazapine via Co-blocking of the 5-HT_{2A} and α ₂-Adrenergic Receptors on Platelets. *Biol Pharm Bull*. 2021; 44(2): 238–244. <https://doi.org/10.1248/bpb.b20-00698>
 19. Saeed S.A., Rasheed H., Fecto F.A., Achakzai M.I., Ali R., Connor J.D. Signaling mechanisms mediated by G-protein coupled receptors in human platelets. *Acta Pharmacol Sin*. 2004; 25(7): 887–92.
 20. Saeed S.A., Rasheed H. Calcium-dependent synergistic interaction of platelet activating factor and epinephrine in human platelet aggregation. *Acta Pharmacol Sin*. 2003; 24(1): 31–6.
 21. Rasheed H., Saeed S.A. Involvement of thromboxane A₂ and tyrosine kinase in the synergistic interaction of platelet activating factor and calcium ionophore A23187 in human platelet aggregation. *Exp Mol Med*. 2004; 36(3): 220–5. <https://doi.org/10.1038/emmm.2004.30>
 22. Cong Y., Wang L., Peng R., Zhao Y., Bai F., Yang C. Timosaponin AIII induces antiplatelet and antithrombotic activity via Gq-mediated signaling by the thromboxane A₂ receptor. *Sci Rep*. 2016; 6: 38757. <https://doi.org/10.1038/srep38757>
 23. Minuz P., Fumagalli L., Gaino S., Tommasoli R.M., Degan M. Rapid stimulation of tyrosine phosphorylation signals downstream of G-protein-coupled receptors for thromboxane A₂ in human platelets. *Biochem J*. 2006; 400(1): 127–34. <https://doi.org/10.1042/BJ20061015>
 24. Minuz P., Meneguzzi A., Fumagalli L., Degan M., Calabria S., Ferraro R. Calcium-Dependent Src Phosphorylation and Reactive Oxygen Species Generation Are Implicated in the Activation of Human Platelet Induced by Thromboxane A₂ Analogs. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 1081. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01081>
 25. Khan N., Farooq A.D., Sadek B. Investigation of cyclooxygenase and signaling pathways involved in human platelet aggregation mediated by synergistic interaction of various agonists. *Drug Des Devel Ther*. 2015; 9: 3497–506. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S84335>

Сведения об авторах:

Баринов Эдуард Федорович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. гистологии, цитологии, эмбриологии и молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького», Россия

Гиллер Дина Игоревна, ассистент каф. гистологии, цитологии, эмбриологии и молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького», Россия

Ахундова Сабина Акбер кызы, ассистент каф. гистологии, цитологии, эмбриологии и молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького», Россия

© Коллектив авторов, 2026

УДК 616-092, 616-092.9

Джинджолия В.Г.¹, Ахуба Л.О.^{1,2}, Дობаджян Н.В.¹, Миквабия З.Я.¹**Моделирование алиментарной дислипидемии на приматах: модель на макаках яванских.**¹Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии» (Сухум), 384900, Республика Абхазия, Сухум, гора Трапеция, а/я 66²Абхазский государственный университет, 384900, Республика Абхазия, Сухум, ул. Университетская, д. 1

Введение. Низшие обезьяны являются лабораторными двойниками человека, что обуславливает их использование в целях моделирования патологических процессов. Моделирование нарушений липидного обмена на обезьянах является одним из актуальных направлений исследований в связи со значительным сходством патофизиологических и патоморфологических изменений у человека и обезьян. **Цель исследования** – получение и описание модели дислипидемии на макаках яванских, индуцированной диетой без содержания добавочного холестерина.

Методика. Обезьяны опытной группы были переведены на экспериментальный высококалорийный рацион и содержались на нем в течение 3-х месяцев. Исследовалась динамика изменений липидного профиля крови и глюкозы. Данные представлены в виде медианы и квартилей. Сравнение двух несвязанных групп выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни. При сравнении трех и более связанных групп использовался непараметрический критерий Фридмана с апостериорными сравнениями с помощью критерия Коновера-Имана с поправкой Холма.

Результаты. В опытной группе за три месяца содержания на экспериментальном рационе сформировалось устойчивое двукратное повышение уровня общего холестерина до 9,3 ммоль/л ($p = 0,025$) и липопротеидов низкой плотности до 5,67 ммоль/л ($p = 0,020$). Макаки яванские оказались устойчивы к повышению уровня триглицеридов. Динамика глюкозы не сформировала устойчивой тенденции, что подтвердило подверженность данного анализа стрессовым колебаниям.

Заключение. Макаки яванские являются подходящим объектом для моделирования гиперхолестеролемии и дислипидемии за счет фракции липопротеидов низкой плотности при использовании рациона без содержания добавленного холестерина.

Ключевые слова: дислипидемия; низшие обезьяны; модель; трансляционная медицина

Для цитирования: Джинджолия В.Г., Ахуба Л.О., Дობаджян Н.В., Миквабия З.Я. Моделирование алиментарной дислипидемии на приматах: модель на макаках яванских. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2026; 70(1): 96–104.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.96-104

Участие авторов: концепция и дизайн – Ахуба Л.О., Джинджолия В.Г., Миквабия З.Я.; сбор и обработка материала – Дობаджян Н.В., Джинджолия В.Г.; подготовка иллюстративного материала – Джинджолия В.Г.; статистическая обработка материала – Джинджолия В.Г.; написание текста – Джинджолия В.Г.; редактирование – Ахуба Л.О., Джинджолия В.Г.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Джинджолия Валерий Гаринович, мл. науч. сотр. лаборатории биохимических исследований крови ГНУ «ИЭПит АНА», аспирант. E-mail: dzhindzholiya.valeriy@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила 18.03.2025

Принята к печати 28.07.2025

Опубликована 27.03.2026

Dzhindzholiya V.G.¹, Akhuba L.O.^{1,2}, Dobadzhyan N.V.¹, Mikvabiya Z.Ya.¹**Modeling of Alimentary Dyslipidemia in Primates: A Study on Javanese Macaques**¹State Scientific Institution "Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia" (Sukhum), 384900, Republic of Abkhazia, Sukhum, Trapezitsa Mountain²Abkhazian State University, 384900, Republic of Abkhazia, Sukhum, Universitetskaya St. 1

Introduction. Nonhuman primates serve as laboratory analogs of humans, making them valuable models for studying pathological processes. The modeling of lipid metabolism disorders in monkeys is a relevant research direction due to the significant similarity in pathophysiological and pathomorphological changes between humans and primates.

Objective. Development and characterization of a dyslipidemia model in Javan macaques induced by a diet without added cholesterol.

Methods. Monkeys in the experimental group were transitioned to a high-calorie diet and maintained on it for three months. The dynamics of changes in blood lipid profile and glucose levels were analyzed. Data are presented as medians and quartiles. The comparison of two independent groups was performed using the Mann-Whitney U test. For comparisons among three or more related groups, the nonparametric Friedman test was applied, followed by post hoc comparisons using the Conover-Iman criterion with Hill's correction.

Results. Over the three-month experimental period, the study group exhibited a sustained twofold increase in total cholesterol to 9.3 mmol/L ($p = 0.025$) and low-density lipoprotein cholesterol to 5.67 mmol/L ($p = 0.020$). Javan macaques demonstrated resistance to elevated triglyceride levels. Glucose levels did not establish a consistent trend, reflecting susceptibility to stress-related fluctuations.

Conclusion. Javanese macaques are a suitable object for modeling hypercholesterolemia and dyslipidemia due to the fraction of low-density lipoproteins when using a diet without added cholesterol.

Keywords: dyslipidemia; nonhuman primates; model; translational medicine

For citation: Dzhindzholiya V.G., Akhuba L.O., Dobadzhyan N.V., Mikvabiya Z.Ya. Modeling of Alimentary Dyslipidemia in Primates: A Study on Javanese Macaques. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 96–104. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.96-104

Authors' Contributions: concept and design – Akhuba L.O., Dzhindzholiya V.G., Mikvabiya Z.Ya.; Data collection and processing – Dobadzhyan N.V., Dzhindzholiya V.G.; preparation of illustrative material – Dzhindzholiya V.G.; statistical analysis – Dzhindzholiya V.G.; manuscript writing – Dzhindzholiya V.G.; editing – Akhuba L.O., Dzhindzholiya V.G.; final approval of the manuscript, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Correspondence: *Dzhindzholiya Valeriy Garikovich*, Junior Research Fellow, Laboratory of Blood Biochemical Research, Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia, Graduate Student. E-mail: dzhindzholiya.valeriy@gmail.com

Information about the authors:

Akhuba L.O., <https://orcid.org/0000-0003-3712-9548>

Dzhindzholiya V.G., <https://orcid.org/0009-0006-0828-357X>

Dobadzhyan N.V., <https://orcid.org/0009-0009-1148-8623>

Mikvabiya Z.Y., <https://orcid.org/0000-0002-0729-6516>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 18.03.2025

Accepted 28.07.2025

Published 27.03.2026

Введение

Нарушение обмена липидов, выражающееся в форме дислипидемии, не только лежит в основе патогенеза атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний, но и ассоциировано со многими онкологическими и аутоиммунными заболеваниями [1, 2, 3]. Это обуславливает важность поиска и разработки методов исследования патогенетических механизмов, в частности, создание моделей дислипидемии.

В связи с большей доступностью и удобством работы моделирование дислипидемии как с целью изучения патофизиологических механизмов, так и испытания терапевтических вмешательств осуществляется, по большей части, на мелких лабораторных животных (крысах и кроликах).

В то же время, анатомически, физиологически и генетически человеку в качестве модельных объектов наиболее близки обезьяны, среди которых, по этическим соображениям, в медицинской приматологии используются низшие обезьяны. В частности, лишь использование обезьян позволяет изучать патоморфологические особенности развития атеросклероза ввиду сходства строения крупных сосудов с таковыми у человека [4]. Отдельные виды обладают специфическими особенностями, которые определяют спектр их применения. В частности, макаки яванские являются обезьянами, которые в наибольшей мере сходны с человеком по биохимическому профилю [4, 5]. Павианы гамадрилы ценны с точки зрения генетических исследований [4]. Следует также отметить,

что ценность лабораторных приматов в качестве модельных объектов заключается и в том, что влияние ВНД на развитие известных нам патологических процессов возможно изучать только на обезьянах [6, 7]. Это лишний раз указывает на обоснованность того, что низших обезьян называют лабораторными двойниками человека [8, 9].

Вместе с тем на сегодняшний день моделей нарушения липидного обмена без использования экзогенного холестерина на приматах описано крайне мало. Это в какой-то мере обусловлено и немногочисленностью приматологических центров.

Практически все существующие работы проведены на популяциях питомников в США и Китае; нет сообщений о работе в данном направлении на просторах стран СНГ. Этот факт, в свете генетической гетерогенности популяций и наличия генетической детерминации в формировании алиментарной дислипидемии, обосновывает важность разработки своих моделей [4].

На сегодняшний день лабораторными приматами, имеющими наибольшую ценность для прикладных и фундаментальных исследований метаболических нарушений, являются макаки яванские, макаки-резусы и павианы гамадрилы [4, 10].

С прикладной точки зрения модели алиментарной дислипидемии на приматах могут иметь приложение в исследовании фармацевтических препаратов. Не менее важно использование приматов в актуальных направлениях фундаментальных исследований. В частности, это изучение поведения белого ростка крови, который все чаще используется в расчетных индексах при оценке рисков развития различных заболеваний, на фоне метаболических нарушений [11]. Это молекулярные механизмы устойчивости к формированию атеросклеротических бляшек, индуци-

рованных дислипидемией, у павианов гамадрилов, а также феномен их устойчивости к алиментарному повышению холестерина, несмотря на наибольшее филогенетическое родство с человеком среди низших обезьян [4, 12].

При этом макаки яванские являются наиболее удобным объектом для исследования метаболических нарушений ввиду значительного сходства их биохимического профиля с человеческим. Это обуславливает наибольшую целесообразность и удобство их использования в моделировании метаболического синдрома, сахарного диабета (СД) и других нозологий [13, 14, 15].

Цель работы: изучение и описание дислипидемии на макаках яванских, индуцированной диетой без содержания добавочного холестерина.

Методика

В качестве объекта исследования были отобраны 8 половозрелых самцов макак яванских. Приматы были разделены на опытную ($n = 5$) и контрольную группы ($n = 3$). Опытная группа была переведена на экспериментальный рацион, контрольная содержалась на исходном рационе, разработанном в ГНУ «ИЭПит АНА». Обезьяны содержались согласно нормам Приложения А к Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (EST№123), а также требованиям ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33218-2014 и в соответствии с «Руководством по медицинской приматологии» [8]. Приматы на время эксперимента содержались в индивидуальных прижимных клетках.

Опытный рацион представлял собой модифицированный исходный с повышением общей калорийности в два раза (табл. 1). Повышение калорийности было обусловлено в основном за счет насыщенных жиров, быстрых углеводов.

Таблица 1 / Table 1

Основные параметры рациона в расчете на одну обезьяну
Core nutritional parameters per subject (monkey)

Параметр Parameter	Исходный рацион Baseline Diet	Опытный рацион Experimental Diet	Ед. измер. Unit
Калорийность общая Total Caloric Intake	12731	22408	ккал/неделю kcal/week
Масса рациона общая Total Diet Mass	5378	7560	гр/неделю gr/week
Добавленные насыщенные жиры Added Saturated Fats	-	4,6	% от общей массы % of the total weight
Добавленный сахар Added Sugar	-	6,5	% от общей массы % of the total weight
Жиры растительные, термически обработанные Thermally Processed Vegetable Fats	-	1,9	% от общей массы % of the total weight

Содержание белков, жиров и углеводов (быстрых) в исходном рационе составило 14%, 10% и 76% соответственно. Белковый компонент исходного рациона представлен преимущественно в виде яичного и молочного белка, а также растительного белка из круп (пшеница, ячмень, овсянка, семена подсолнечника) [8].

Экспериментальный рацион был составлен добавлением в исходный рацион жиров и быстрых углеводов с доведением общего процентного содержания жиров до 13%. Качественный состав добавленных углеводов и жиров принципиально отличался от исходных, которые слагались в основном из естественных источников. В то время как в исходном рационе жиры были из растительных источников, животный жир был из молока и яиц, в экспериментальный добавлены были гидрогенизированные насыщенные жиры, а также растительные термически обработанные жиры. Вторым значительным отличием являлось повышение калорийности приблизительно в два раза при содержании в тех же условиях.

Длительность эксперимента составила 4 месяца. В течение 3 месяцев животные опытной группы содержались на экспериментальном рационе. С конца 3-го месяца они были возвращены на исходный. К концу четвертого месяца было проведено повторное исследование лабораторных параметров для оценки отсроченных изменений.

Взятие биоматериала производили вакуумными системами для взятия крови в соответствии со стандартами по преаналитике и флеботомии¹ и, согласно СОП, по взятию крови ГНУ «ИЭПиТ АНА». Взятие производилось раз в две недели в течение первых трех месяцев и в конце четвертого месяца (127-е сутки). В анализ включены значения фоновые, на 31-е, 64-е, 93-е, 127-е сутки. Биоматериалом для биохимических исследований служила сыворотка крови. Седация не производилась.

Анализировались значения следующих биохимических анализов: глюкоза (Glu), общий холестерол (TC), триглицериды (TG), липопротеиды высокой плотности (HDL), липопротеиды низкой плотности (LDL), аланинаминотрансфераза (ALT), общий билирубин. Общий холестерол определялся холестеролоксидазным методом, триглицериды были определены глицеролфосфатоксидазным методом, ЛПВП определялись холестеролоксидазным методом с предварительным осаждением других фракций липопротеидов фосфорно-вольфрамовой кислотой, ЛПНП рассчитывали по формуле Фридевальда, ALT определялся кинетическим методом, общий билирубин по методу Ендрассика-Грофа. Измерения проводились на полуавтоматическом биохимическом анализаторе StatFax 4500+.

Количественные данные представлены с использованием медианы (Me) и квартилей (Q1-Q3). Для анализа были использованы непараметрические методы статистики ввиду малой выборки в каждой группе. Сравнение двух несвязанных групп выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для сравнения двух связанных групп использовался критерий Уилкоксона. При сравнении трех и более связанных групп использовался непараметрический критерий Фридмана с апостериорными сравнениями с помощью критерия Коновера-Имана с поправкой Холма. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ был выполнен в программе StatTech 4.6.3.

Результаты

Фоновые значения глюкозы в опытной и контрольной группах достигали 4,60 (Q1–Q3: 2,90–5,70) ммоль/л и 6,00 (Q1–Q3: 5,00–6,80) ммоль/л. В опытной группе в течение эксперимента глюкоза значимо не изменялась (табл. 2). Значения на 93-и сутки были сопоставимы с ис-

Таблица 2 / Table 2

Динамика глюкозы у макак яванских в опытной и контрольной группах, ммоль/л. Glu 0 – фоновые значения, далее обозначение точек соответственно суткам

Glucose dynamics in Javanese macaques (*Macaca fascicularis*) across experimental and control groups (mmol/L). Glu 0 – baseline values, subsequent time points indicate study days

Группа Group	Этапы наблюдения Measurement Time Points									
	Glu 0		Glu 31		Glu 64		Glu 93		Glu 127	
	Me	Q1 – Q3	Me	Q1 – Q3	Me	Q1 – Q3	Me	Q1 – Q3	Me	Q1 – Q3
Контроль Control	6,00 (n = 3)	5,00 – 6,80	4,77 (n = 3)	4,02 – 5,25	4,90 (n = 3)	4,55 – 5,25	6,40 (n = 3)	5,80 – 8,20	3,10 (n = 3)	2,90 – 3,45
Опыт Experimental	4,60 (n = 5)	2,90 – 5,70	3,93 (n = 5)	3,39 – 4,32	4,10 (n = 5)	3,30 – 4,50	4,42 (n = 5)	3,70 – 4,80	3,03 (n = 5)	3,00 – 3,30

ходными. В контрольной группе наблюдалось незначительное снижение глюкозы на 32-е и 64-е сутки относительно фоновых значений, но на 93-и сутки наблюдалось спонтанное повышение. Различия не были статистически значимы.

Общий холестерин (ТС) в фоновой точке в опытной группе макак яванских достигал 4,19 (Q1–Q3: 4,10–4,80) ммоль/л, а в контрольной – 4,30 (Q1–Q3: 4,10–5,32) ммоль/л (**рис. 1**). Динамика общего холестерина у макак яванских показала значительный прирост уже к концу первого месяца эксперимента, достигая в опытной группе 12,14 (Q1–Q3: 6,10–12,17) ммоль/л, а в контрольной сохраняла значения, близкие к исходным. К концу третьего месяца сформировался устойчивый двукратный прирост в опытной группе, и ТС достиг 9,3 (Q1–Q3: 6,80–9,95) ммоль/л, в то время как в контрольной был 4,30 (Q1–Q3: 4,05–4,40) ммоль/л. Полученный в этой точке прирост был статистически значим как при сравнении с фоном ($p = 0,006$), так и при сравнении с контрольной группой ($p = 0,025$).

Через месяц после возвращения особей экспериментальной группы на исходный рацион уровень ТС в опыт-

ной группе был все еще в полтора раза выше исходного уровня, достигая 6,23 (Q1–Q3: 3,70–6,67) ммоль/л.

Уровень триглицеридов для опытной группы в фоновой точке достигал 0,36 (Q1–Q3: 0,28–0,41) ммоль/л, для контрольной это значение было 0,43 (Q1–Q3: 0,26–0,58) ммоль/л и превосходило опытную. Аналогичное расхождение сохранялось в течение всего эксперимента. К концу третьего месяца уровень TG в опытной группе снизился до 0,29 (Q1–Q3: 0,21–0,30) ммоль/л, а в контрольной группе достиг 0,9 (Q1–Q3: 0,60–0,99) ммоль/л, не показывая статистической значимости и тенденции.

Липопротеиды высокой плотности также не показали тенденций к изменению. Для контрольной и опытной групп фоновые значения были 2,00 (Q1–Q3: 1,57–2,53) ммоль/л и 1,60 (Q1–Q3: 1,40–2,30) ммоль/л. К концу третьего месяца в опытной и контрольной группе HDL был 1,90 (Q1–Q3: 1,16–2,39) ммоль/л и 0,60 (Q1–Q3: 0,59–1,23) ммоль/л соответственно.

Уровень липопротеидов низкой плотности (LDL) в опытной группе вырос с 2,40 (Q1–Q3: 1,25–2,60) ммоль/л в фоновой точке до 5,67 (Q1–Q3: 4,70–7,48) ммоль/л в конце третьего месяца, проходя максимальное значе-

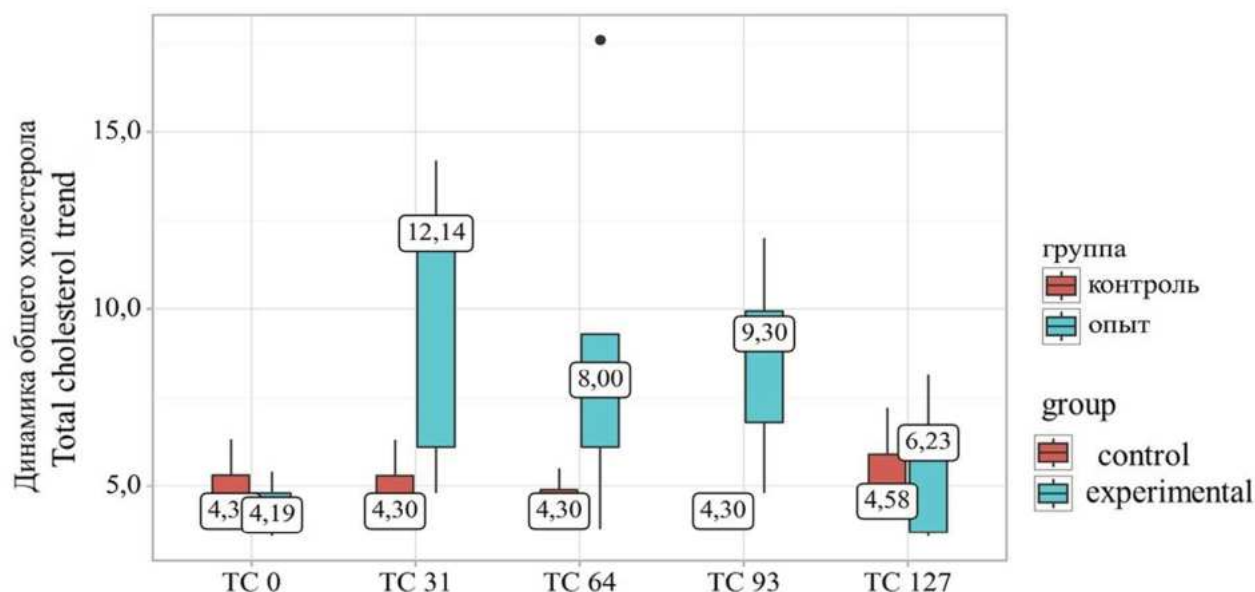


Рис. 1. Динамика общего холестерина в сыворотке крови макак яванских, ммоль/л. TC0 – фоновая точка. Далее обозначение соответственно суткам взятия крови. TC127 – четвертый месяц эксперимента и один месяц после возвращения приматов опытной группы на исходный рацион.

Fig. 1. Total cholesterol (TC) dynamics in serum of Javanese macaques (mmol/L). TC0: baseline measurement. Subsequent labels indicate blood sampling days. TC127: 4th experimental month and 1st month after returning the primates to the control diet.

ние в конце первого месяца в 9,35 (Q1–Q3: 4,04–10,57) ммоль/л (**рис. 2**). В контрольной группе LDL был 2,71 (Q1–Q3: 2,41–2,83) ммоль/л в фоновой точке и к концу третьего месяца достиг 2,73 (Q1–Q3: 2,38–3,25) ммоль/л, не показывая значимых колебаний. В общем тенденция повторила кривую, характерную для общего холестерина. Полученное к концу третьего месяца повышение LDL в 2,3 раза было статистически значимо как в сравнении с фоновым уровнем ($p = 0,020$), так и в сравнении с контрольной группой ($p = 0,025$). Через месяц после возвращения опытной группы на исходный рацион медианное значение LDL все еще было в 1,95 раза выше исходного и достигало 4,68 (Q1–Q3: 2,34–4,90) ммоль/л.

Билирубин в фоновой точке для опытной группы принимал значение 8,50 (Q1–Q3: 2,60–9,70) мкмоль/л, незначительно изменившись к концу третьего месяца до 8,30 (Q1–Q3: 4,20–12,10). Аналогичная, но более выраженная тенденция наблюдалась в контрольной группе, где фоновый уровень достигал 31,00 (Q1–Q3: 20,70–32,70) мкмоль/л, а в конечной точке – 13,30 (Q1–Q3: 11,50–16,00) мкмоль/л. Колебания билирубина не были значимы как клинически, так и статистически.

Показатель ALT в опытной группе в фоновой точке и к концу третьего месяца был 35,00 (Q1–Q3: 30,90–49,60) Ед/л и 35,30 (Q1–Q3: 29,80–38,90) Ед/л соответственно (**рис. 3**). В контрольной группе ALT в фоновой точке достигал 33,90 (Q1–Q3: 24,30–56,29) Ед/л, в конечной точке был 52,40 (Q1–Q3: 36,50–69,75) Ед/л. Колебания ALT не были значимы как клинически, так и статистически.

Обсуждение

Следует сказать, что макаки яванские, хоть и в наибольшей мере сходны с человеком по липидному профилю и биохимии в целом [4], тем не менее, дислипидемические изменения в ответ на высококалорийный рацион у них сводятся к гиперхолестеремии и повышению уровня липопротеидов низкой плотности без значимых изменений триглицеридов и липопротеидов высокой плотности, по меньшей мере, в краткосрочной перспективе (3 месяца). Тем не менее, очевидно, что индекс атерогенности в таком случае будет расти.

Двукратный прирост в уровне общего холестерина и уровне липопротеидов низкой плотности является кли-

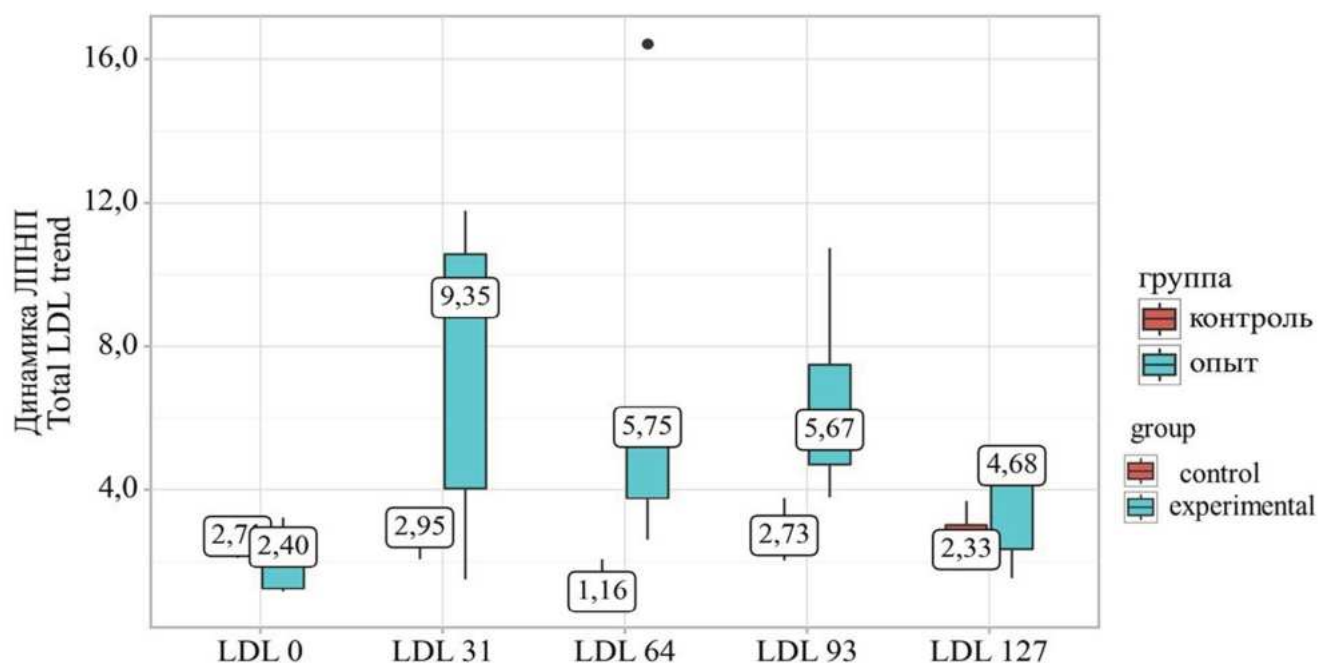


Рис.2. Динамика липопротеидов низкой плотности в опытной и контрольной группе, ммоль/л. LDL0 – фоновые значения липопротеидов низкой плотности. Далее обозначение соответственно суткам взятия крови.

Fig. 2. Low-density lipoprotein (LDL) dynamics in experimental and control groups (mmol/L). LDL0: baseline LDL levels. Subsequent labels indicate blood sampling days.

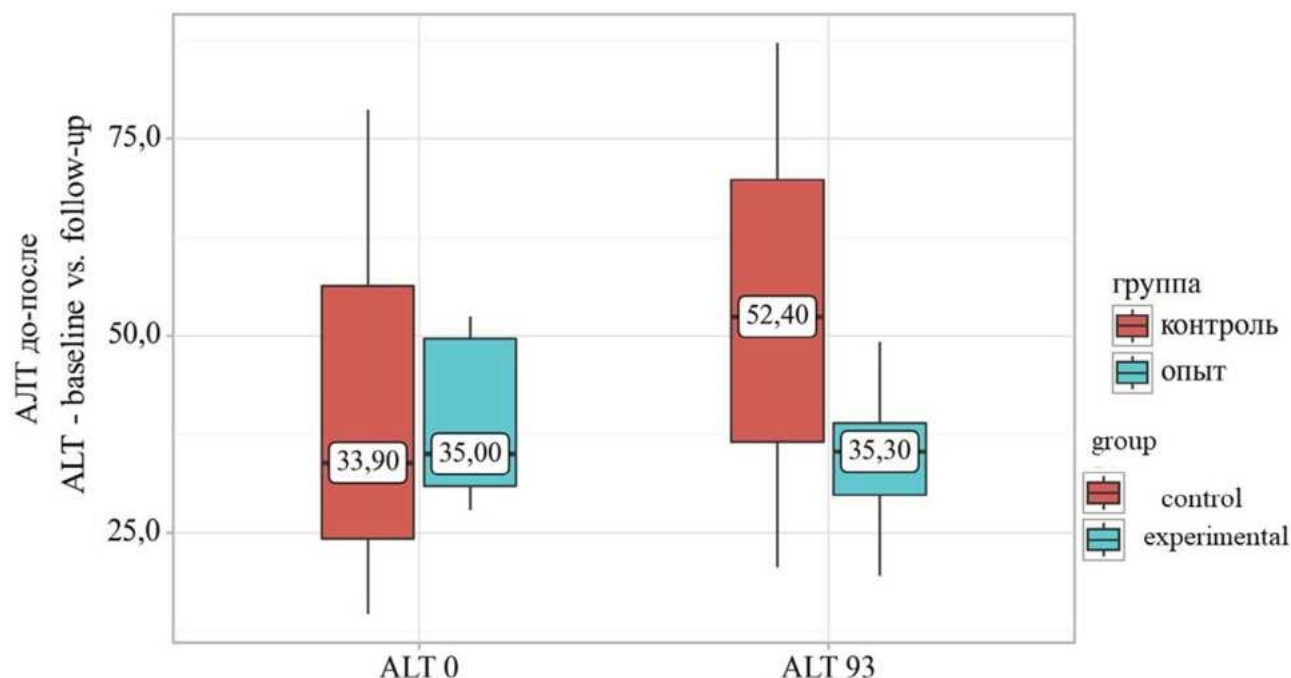


Рис. 3. Сравнение значений ALT (Ед/л) до начала исследования (ALT0) и к концу содержания на экспериментальном рационе (ALT93).
Fig. 3. Comparison of ALT levels (U/L) at baseline (ALT0) and after experimental diet exposure (ALT93).

нически значимым. Особенностью в нашем исследовании является то, что не использовался экзогенный холестерол. Данные других авторов на макаках яванских с использованием экзогенного холестерина показывают соразмерный прирост общего холестерина с достижением значения в 9,7 ммоль/л [16]. По всей видимости, использование высококалорийного рациона является более рациональным для получения значимого прироста общего холестерина, что подтверждается нашей работой, тогда как рацион с высоким содержанием фруктозы формирует прирост общего холестерина лишь до 5,7 ммоль/л [17, 18]. Более высокие значения можно ожидать на моделях генетически детерминированной дислипидемии, которую достаточно сложно получить у приматов ввиду более длительного цикла развития в сравнении с грызунами.

Отсутствие изменений в уровне триглицеридов в нашей работе согласуется с данными других исследователей на данном виде обезьян [16]. Высококалорийный рацион, формируя значимый прирост по общему холестерину и липопротеинам низкой плотности, не формирует того же для триглицеридов. Интересно, что фруктозосодержащая диета показывает хоть и незначительный, но устойчивый прирост в уровне триглицеридов [18].

Устойчивость липопротеидов высокой плотности, которая наблюдалась в нашей работе, также согласуется с литературными данными [16]. Действительно, в сопоставимые сроки содержание на гиперкалорийной жиросодержащей диете не приводит к снижению или повышению содержания липопротеидов высокой плотности. Интересно, что хроматограммы липидов плазмы показывают снижение липопротеидов высокой плотности на высококалорийной диете [19, 20]. Вероятно, различие связано с особенностями метода исследования.

Наблюдавшийся в нашем исследовании прирост LDL на фоне практически неизменных значений HDL и TG, говорит о том, что именно за счет этой фракции происходит прирост и в уровне общего холестерина. Аналогичные данные встречаются и у других авторов, но лишь с использованием экзогенного холестерина [4, 16].

Общий билирубин и аланинаминотрансфераза использовались нами в качестве простых маркеров возможной гепатотоксичности рациона. Тем не менее, значимых изменений ни в одном из параметров не было обнаружено, что указывает на отсутствие такого эффекта, по меньшей мере, в краткосрочном периоде. Тем не менее, данные параметры не говорят о возможном накоплении жи-

ров в печени, что можно изучить лишь с использованием ультразвукового исследования.

Глюкоза в данной работе заслуживает отдельного внимания. У приматов она является лабильным к стрессу анализитом и может проявлять значимые колебания. Для приматов это в особенности актуально в связи с сложными механизмами ВНД. Стрессорами для них могут выступать такие простые факторы, как смена работника по уходу, затрудненный процесс взятия крови, смена флеботомиста [6, 7, 21, 22]. Таким образом, у отдельных особей в некоторых точках может наблюдаться «спонтанное» повышение ее уровня. Тем не менее, даже с учетом этого, в течение эксперимента не наблюдалось какой-либо тенденции к повышению в ее уровне. Этот факт вызывает интерес в свете того, что для моделирования СД и метаболического синдрома наиболее часто используемым видом являются именно макаки яванские [4, 16].

Следует сказать, что у обезьян достаточно выражена видоспецифичность как в формировании дислипидемии и биохимических изменений в ответ на изменение рациона, так и в морфологическом изменении сосудов на фоне гиперхолестеролемии или дислипидемии [4, 23]. В связи с этим, отдельный интерес, в свете полученных нами данных, заключается в исследовании ответа на сходное воздействие у нескольких видов, по-

скольку различия в метаболических изменениях могут служить механизмами бифуркации патогенеза и приводить к преимущественному развитию по определенному пути.

Выводы

1. На высококалорийном рационе без добавления экзогенного холестерина получен статистически значимый двукратный прирост в уровне общего холестерина и липопротеидов низкой плотности крови, не уступающий таковому с использованием экзогенного холестерина в других исследованиях.
2. Изменений в концентрации липопротеидов высокой плотности, триглицеридов и глюкозы сыворотки крови не выявлено.
3. Макаки яванские являются релевантным объектом для формирования алиментарной модели без использования добавленного экзогенного холестерина.
4. Полученная модель может использоваться для исследования динамики лабораторных, инструментальных и клинических проявлений, ассоциированных с дислипидемией, в трансляционных исследованиях.

Литература

(п.п. 2–4; 11–20; 22; 23 см. References)

1. Смирнов А.В., Груздева О.В., Помешкин Е.В., Брагин-Мальцев А.И. Влияние дислипидемии на шансы развития рака предстательной железы. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022; 7(1): 42–52. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-1-42-52>
5. Мирошников М.В., Султанова К.Т., Ковалева М.А., Макарова М.Н. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референтных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 6: яванские макаки. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022; (2): 14–25. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-02>
6. Старцев В.Г. *Моделирование неврогенных заболеваний человека в эксперименте на обезьянах*. Москва: Медицина; 1971. 208 с.
7. Чирков А.М., Чиркова С.К., Старцев В.Г. *Эмоциональный стресс у обезьян*. Ленинград: Наука; 1987. 164 с.
8. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Фридман Э.П. *Руководство по медицинской приматологии*. Москва: Медицина; 1987. 192 с.
9. Фридман Э.П. *Моя энциклопедия приматов*. Москва: Бослен; 2009. 352 с.
10. Орлов С.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А. и др. Низшие обезьяны как модельный объект изучения метаболического синдрома. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024; 23(2): 151–61. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-151-161>
21. Куксова М.И. *Кроветворная система обезьян в норме и патологии*. Москва: Медицина; 1972. 127 с.

References

1. Smirnov A.V., Gruzdeva O.V., Pomeshkin E.V., Bragin-Mal'tsev A.I. Dyslipidemia and risk of prostate cancer in patients with urologic diseases. *Fundamental'naja i klinicheskaja medicina. (Fundamental and Clinical Medicine)*. 2022; 7(1): 42–52. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-1-42-52> (in Russian)
2. Agnoli C., Grioni S., Sieri S. et al. Colorectal cancer risk and dyslipidemia: a case-cohort study nested in an Italian multicentre cohort. *Cancer Epidemiol.* 2014; 38(2): 144–51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2014.02.002>
3. Pérez-Ocampo J., Taborda N.A., Yassin L.M., Higuaita-Gutierrez L.F., Hernandez J.C. Exploring the Association Between Systemic Lupus Erythematosus and High-Density Lipoproteins: A Systematic Review and Meta-Analysis. *ACR Open Rheumatology*. 2024; 6 (10): 648–61. <https://doi.org/10.1002/acr2.11700>

4. Shelton K.A., Clarkson T.B., Kaplan J.R. Nonhuman Primate Models of Atherosclerosis. In: Abhee C.R., Mansfield K., eds. *Nonhuman Primates in Biomedical Research 2-nd ed.* 2012: 385–411. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381366-4.00008-0>
5. Miroshnikov M.V., Sultanova K.T., Kovaleva M.A., Makarova M.N. Variability of blood biochemical parameters and establishment of reference intervals in preclinical studies. Part 6: Macaca fascicularis. *Laboratornye zhivotnye dlja nauchnykh issledovanij*. 2022; (2): 14–25. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-02> (In Russian)
6. Starcev V.G. *Modeling of human neurogenic diseases in experiment on monkeys*. Moscow: Medicina; 1971. 208 s. (In Russian)
7. Chirkov A.M., Chirkova S.K., Starcev V.G. *Emotional stress in monkeys*. Leningrad: Nauka; 1987. 164 s. (In Russian)
8. Lapin B.A., Dzhikidze Je.K., Fridman Je.P. *Manual on medical primatology*. Moscow: Medicina; 1987. 192 s. (In Russian)
9. Fridman Je.P. *My encyclopedia of primates*. Moscow: Boslen; 2009. 352 s.
10. Orlov S.V., Uspenskij Ju.P., Fominyh Ju.A. et al. Monkeys excluding apes as a model for studies on metabolic syndrome. *Bulleten' sibirskoj mediciny. (Bulletin of Siberian Medicine)*. 2024; 23(2): 151–61. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-151-161> (In Russian)
11. Yu, D., Liu, J., Meng, C. et al. Pan-immune-inflammation value as a novel prognostic biomarker for digestive system cancers: a meta-analysis. *World J Surg Onc.* 2024; 22(1): 306. <https://doi.org/10.1186/s12957-024-03595-z>
12. VandeBerg J.L., Williams-Blangero S., Tardif S.D. eds. *The Baboon in Biomedical Research*. New York: Springer New York; 2009. 400 p.
13. Wang X., Wang B., Sun G. et al. Dysglycemia and Dyslipidemia Models in Nonhuman Primates: Part I. Model of Naturally Occurring Diabetes. *J Diabetes Metab.* 2015; S13: 010. <https://doi.org/10.4172/2155-6156.S13-010>
14. Gao J., Wand X., Song W. et al. Dysglycemia and Dyslipidemia Models in Nonhuman Primates: Part V. Diabetic Nephropathy and Effects of Angiotensin and II Receptor Antagonist Losartan. *J Diabetes Metab.* 2021; 12(1): 861. <https://www.iomcworld.com/open-access/dysglycemia-and-dyslipidemia-models-in-nonhuman-primates-part-v-diabetic-nephropathy-and-effects-of-angiotensin-8545-receptor-anta-61700.html>
15. Havel P.J. et al. Use and Importance of Nonhuman Primates in Metabolic Disease Research: Current State of the Field. *ILAR J.* 2017; 58(2): 251–68. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilx031>
16. Wang B., Sun G., Liu Y. et al. Dysglycemia and Dyslipidemia Models in Nonhuman Primates: Part II. Model of Naturally Occurring or Experimental Obesity. *J Diabetes Metab.* 2016; 7: 641. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6156.1000641>
17. Bremer A.A., Stanhope K.L., Graham J.L. et al. Fructose-Fed Rhesus Monkeys: A Nonhuman Primate Model of Insulin Resistance, Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes. *Clin Transl Sci.* 2011; 4(4): 243–52. <https://doi.org/10.1111/j.1752-8062.2011.00298.x>
18. Butler A.A., Price C.A., Graham J.L. et al. Fructose-induced hypertriglyceridemia in rhesus macaques is attenuated with fish oil or ApoC3 RNA interference. *J Lipid Res.* 2019; 60(4): 805–18. <https://doi.org/10.1194/jlr.M089508>
19. Marzetta C.A., Rudel L.L. A species comparison of low density lipoprotein heterogeneity in nonhuman primates fed atherogenic diets. *J. Lipid Res.* 1986; 27(7): 753–62. [https://www.jlr.org/article/S0022-2275\(20\)38799-X/pdf](https://www.jlr.org/article/S0022-2275(20)38799-X/pdf)
20. Rudel L.L., Shah R., Greene D.G. Study of the atherogenic dyslipoproteinemia induced by dietary cholesterol in rhesus monkeys (Macaca mulatta). *J. Lipid Res.* 1979; 20(1): 55–65. [https://www.jlr.org/article/S0022-2275\(20\)40651-0/pdf](https://www.jlr.org/article/S0022-2275(20)40651-0/pdf)
21. Kuksova M.I. *Hematopoietic system of monkeys in normal and pathology*. Moscow: Medicina; 1972. 127 s. (In Russian)
22. Takenaka A. et al. Hypercholesterolemia induced by spontaneous oligogenic mutations in rhesus macaques (Macaca mulatta). *J. of Med Primatol.* 2023; 52(4): 230–43. <https://doi.org/10.1111/jmp.12642>
23. Tarantal A.F., Noctor S.C., Hartigan-O'Connor D.J. Nonhuman Primates in Translational Research. *Annual Review Animal Biosciences.* 2022; 10: 441–68. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083813>

Сведения об авторах:

Джинджолия Валерий Гаринович, аспирант, мл. науч. сотр. лаб. биохимических исследований крови ГНУ «ИЭПит АНА», e-mail: dzhindzholiya.valeriy@gmail.com

Ахуба Лариса Отаровна, канд. биол. наук, доц., зав. лаб. биохимических исследований крови ГНУ «ИЭПит АНА», декан Факультета биологии и биомедицины Абхазского государственного университета. e-mail: lara_ahuba@mail.ru

Добаджян Нвард Вардановна, мл. науч. сотр. лаб. биохимических исследований крови ГНУ «ИЭПит АНА». e-mail: dobadzhyan@mail.ru

Миквабия Зураб Ясонович, доктор мед. наук, проф., директор ГНУ «ИЭПит АНА», e-mail: primat.ana@mail.ru

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-092.11

Давидович Н.В., Галиева А.С., Вайгачев И.В., Башилова Е.Н., Соловьева Н.В.

Роль MMP-8 и MMP-9 в патогенезе хронического пародонтита

ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрава РФ,
163000, Архангельск, Россия, пр. Троицкий, д.51

Введение. Основным патогенетическим аспектом развития и прогрессирования воспалительных заболеваний пародонта является дисбаланс микробиоты биотопов полости рта и воспалительная реакция, одним из неспецифических компонентов которой является активация матриксных металлопротеиназ. **Цель исследования** – установить роль матриксных металлопротеаз MMP-8 и MMP-9 в патогенезе хронического пародонтита.

Методика. Клиническим материалом послужило отделяемое зубодесневое (пародонтальное) кармана пациентов с хроническим пародонтитом (54 образца) и с интактным пародонтом (28 образцов). С помощью ИФА определяли содержание матриксных металлопротеаз MMP-8 и MMP-9. Маркеры пародонтопатогенных бактерий выделяли в ходе ПЦР в режиме реального времени. Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета программ для статистической обработки данных STATA v.14 с использованием непараметрических методов.

Результаты. В группе пациентов с хроническим пародонтитом уровни MMP-8 и MMP-9 были значительно выше, чем у лиц с интактным пародонтом (медиана – 8,52 [7,45; 9,5] нг/мл против 2,23 [0,843; 3,32], $p < 0,001$ и медиана 18,33 [16,32; 18,95] нг/мл против 3,3 [2,13; 4,28], $p < 0,001$ соответственно). У большинства (60,7%) обследованных контрольной группы пародонтопатогены не выделялись, в то время как у всех пациентов с хроническим пародонтитом была выделена пародонтопатогенная микрофлора. Наиболее часто встречались *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* – пародонтопатогенные бактерии I порядка, *T. denticola* – пародонтопатоген II порядка, а также их ассоциации. Количественное содержание обоих металлопротеаз MMP-8 и MMP-9 положительно коррелировало с выделением *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, а также ассоциаций пародонтопатогенов. У обследованных групп с интактным пародонтом значимых корреляций выявлено не было.

Заключение. Активность матриксных металлопротеаз MMP-8 и MMP-9 совместно с действием протеолитических ферментов пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola* может отражать синергидный эффект, направленный на деградацию экстрацеллюлярного матрикса и приводящий к разрушению тканей пародонта.

Ключевые слова: матриксные металлопротеазы; пародонтопатогенные бактерии; хронический пародонтит

Для цитирования: Давидович Н.В., Галиева А.С., Вайгачев И.В., Башилова Е.Н., Соловьева Н.В. Роль MMP-8 и MMP-9 в патогенезе хронического пародонтита. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 105–112.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.105-112

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Давидович Н.В., Соловьева Н.В.; сбор и обработка материала – Галиева А.С., Вайгачев И.В.; подготовка иллюстративного материала – Башилова Е.Н.; статистическая обработка материала – Галиева А.С., Вайгачев И.В.; написание текста – Давидович Н.В., Башилова Е.Н.; редактирование – Соловьева Н.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Давидович Наталья Валерьевна, e-mail: nvdavidovich@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке «Внутреннего конкурса грантов для молодых ученых по приоритетным направлениям развития ФГБОУ ВО СГМУ г. Архангельск» № 162 от 05.02.2021, проект «Мониторинг формирования антибиотикорезистентности микробных биотопов полости рта и оптимизация патогенетических подходов в лечении воспалительных заболеваний пародонта».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила 17.03.2025

Принята к печати 03.06.2025

Опубликована 27.03.2026

Davidovich N.V., Galieva A.S., Vaigachev I.V., Bashilova E.N., Solovieva N.V.

The role of MMP-8 and MMP-9 in the pathogenesis of chronic periodontitis

FSBEI HE Northern State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 51 Troitsky avenue, Arkhangelsk, 163000, Russia.

Introduction. The main pathogenetic aspect of the development and progression of inflammatory periodontal diseases is the imbalance of the microbiota of oral biotopes and the inflammatory response, one of the nonspecific components of which is the activation of matrix metalloproteinases. **The aim** of the study was to establish the role of matrix metalloproteases MMP-8 and MMP-9 in the pathogenesis of chronic periodontitis.

Methods. The clinical material was the discharge of the periodontal pocket of patients with chronic periodontitis (54 samples) and with an intact periodontium (28 samples). Using ELISA, the content of matrix metalloproteases MMP-8 and MMP-9 was determined. Markers of periodontopathogenic bacteria were isolated using real-time PCR. Statistical data processing was carried out using the software package for statistical data processing STATA v.14 using nonparametric methods.

Results. In the group of patients with chronic periodontitis, the levels of MMP-8 and MMP-9 were significantly higher than in individuals with intact periodontium (median 8.52 [7.45; 9.5] ng/ml versus 2.23 [0.843; 3.32], $p < 0.001$ and median 18.33 [16.32; 18.95] ng/ml versus 3.3 [2.13; 4.28], $p < 0.001$, respectively). In the majority (60.7%) of the examined control group, periodontopathogens were not isolated, while in all patients with chronic periodontitis, periodontopathogenic microflora was isolated. The most common were *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* – periodontopathogenic bacteria of the first order, *T. denticola* – periodontopathogen of the second order, as well as their associations. The quantitative content of both metalloproteases MMP-8 and MMP-9 positively correlated with the isolation of *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, as well as periodontopathogen associations. No significant correlations were found in the examined group with intact periodontium.

Conclusion. The activity of matrix metalloproteases MMP-8 and MMP-9 together with the action of proteolytic enzymes of periodontopathogens *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola* may reflect a synergistic effect aimed at the degradation of the extracellular matrix and leading to the destruction of periodontal tissues.

Keywords: matrix metalloproteases; periodontopathogenic bacteria; chronic periodontitis

For citation: Davidovich N.V., Galieva A.S., Vaigachev I.V., Bashilova E.N., Solovieva N.V. The role of MMP-8 and MMP-9 in the pathogenesis of chronic periodontitis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 105–112. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.105-112

Author's contribution: concept and design of the study – Davidovich N.V., Solovieva N.V.; collection and processing of material – Galieva A.S., Vaigachev I.V.; preparation of illustrative material – Bashilova E.N.; statistical processing of material – Galieva A.S., Vaigachev I.V.; writing of the text – Davidovich N.V., Bashilova E.N.; editing – Solovieva N.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

For correspondence: **Natalia V. Davidovich**, cand.med.sciences, ass. prof., Department of clinical biochemistry, microbiology and laboratory diagnostics; e-mail: nvdavidovich@gmail.com

Information about the authors:

Davidovich N.V., <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>

Galieva A.S., <https://orcid.org/0000-0002-7037-7730>

Vaigachev I.V., <https://orcid.org/0009-0006-9535-120X>

Bashilova E.N., <https://orcid.org/0000-0002-9247-6633>

Solovieva N.V., <https://orcid.org/0000-0002-0664-4224>

Financing. The work was carried out with the financial support of the «Internal grant competition for young scientists in priority areas of development of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education SSMU in Arkhangelsk» No. 162 dated 02/05/2021, the project "Monitoring the formation of antibiotic resistance of microbial biotopes of the oral cavity and optimization of pathogenetic approaches in the treatment of inflammatory periodontal diseases."

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

Received 17.03.2025

Accepted 03.06.2025

Published 27.03.2026

Введение

Актуальность. Основным патогенетическим аспектом развития и прогрессирования пародонтита является дисбаланс микробиоты биотопов полости рта и воспалительная реакция, неспецифические компоненты которой приводят к повреждению тканей. Патогенность микрофлоры пародонта определяется протеолитическими ферментами в клеточной стенке бактерий и эндотоксинами, которые непосредственно участвуют в разрушении тканей пародонта. Пародонтопатогенные бактерии первого порядка (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Tannerella forsythia*) считаются наиболее агрессивными патобионтами [1, 2]. Установлено, что протеолитические ферменты являются факторами вирулентности *P. gingivalis* [3]. Так, протеолитические ферменты *P. gingivalis* расщепляют фибриноген и разрушают или трансформируют цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерферон гамма (ИФН- γ), интерлейкин-6 (ИЛ-6) и интерлейкин-8 (ИЛ-8), а также расщепляют или инактивируют рецептор C5a фагоцитов, вызывают хемотаксис нейтрофилов, активируют протромбин, С-реактивный белок и нейтрофилы. Благодаря явлению хемотаксиса нейтрофилы появляются в инфицированной ткани, способствуя тканевой деструкции и нарушению иммунного гомеостаза посредством генерирования реактивных форм кислорода, включающих супероксиданион-радикал [1, 3].

Персистенция микробных представителей в полости рта индуцирует выработку широкого спектра макромолекул, среди которых ведущая роль в деградации соединительной ткани и альвеолярного отростка принадлежит группе протеолитических ферментов – матриксных металлопротеиназ (ММП). ММП (или матриксины) представляют собой важное семейство кальций-зависимых цинксо-держащих эндопептидаз, способных разрушать не только белки внеклеточного матрикса, но и нематриксные белки, включая цитокины [4]. Разрушение белков внеклеточного матрикса протеазами как микробного, так и клеточного происхождения является ключевой особенностью заболеваний пародонта. Предыдущие исследования показали, что протеазы, продуцируемые как микробными, так и клеточными источниками, могут способствовать каскаду активации ММП, приводя к разрушению тканей пародонта [5]. Более того, микробные протеазы стимулируют протеолитические активаторы латентных человеческих про-ММП, что может увеличить их секрецию резидентными клетками десны, вызывая деградацию внеклеточных матриксных белков, включая превалирующий гликопротеин внеклеточного матрикса – коллаген. Поскольку коллаген I

типа является основным компонентом внеклеточного матрикса пародонта, особое внимание уделяется роли коллагеназы, особенно ММП-8 и ММП-13, а также желатиназы, ММП-2 и ММП-9, в заболеваниях пародонта. Фактически, ММП-8 (или коллагеназа 2) упоминается как один из наиболее перспективных биомаркеров пародонтита в жидкостях полости рта [6]. Кроме того, было обнаружено, что десневая жидкость, представляющая собой фильтрат сывортки, расположенный в точном месте контакта бактериальной биопленки с тканями хозяина, является наиболее подходящим местом для поиска потенциальных компонентов воспалительной реакции [6, 7]. Однако исследования в области взаимосвязи матриксных металлопротеаз десневой жидкости с маркерными пародонтопатогенами немногочисленны, а данные, отражающие прогностическую значимость матриксинов в патогенезе прогрессирования хронического пародонтита разрознены. В связи с этим, **целью** нашего исследования было установить роль матриксных металлопротеаз ММП-8 и ММП-9 в патогенезе хронического пародонтита.

Методика

Объекты исследования. В анализ включены данные лабораторного обследования 82 пациентов мужского и женского пола в возрасте от 18 до 45 лет («молодой возраст» по критериям ВОЗ), проходящих лечение у врача-стоматолога в «ГАУЗ АО Северодвинская стоматологическая поликлиника», из которых 54 человека с установленным диагнозом «хронический пародонтит» (по МКБ-10 – K05.3) и 28 пациентов группы контроля с интактным пародонтом. По дизайну исследование – поперечное. Всеми пациентами было подписано информированное добровольное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, последний пересмотр Форталеа, Бразилия, октябрь 2013 г.). Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России (протокол № 8/11 от 28.11.2018).

Критериями включения в исследование являлись: письменное информированное согласие, возраст от 18 до 45 лет, установленный диагноз «хронический пародонтит», отсутствие приема антибактериальных препаратов в течение последних 6 месяцев, удовлетворительный уровень гигиены полости рта. Критерии невключения: отсутствие информированного согласия пациента, возраст до 18 лет и старше 45 лет, проведение ортодонтического лечения на момент исследования. Критериями исключения стали: другие воспалительные заболевания полости рта, сопутствующая соматическая пато-

логия в стадии декомпенсации, беременность и период лактации, прием антибактериальных препаратов в течение последних 6 месяцев.

Клиническим материалом послужила десневая жидкость, которая собиралась с помощью бумажного абсорбирующего штифта в ходе стоматологического обследования. Полученные пробы центрифугировали при 1500 об/мин в течение 20 минут. Аликвоты образцов замораживали и хранили при $t = -80^{\circ}\text{C}$ до проведения молекулярно-генетических и иммунологических исследований.

Лабораторные исследования. Содержание матриксных металлопротеаз MMP-8 и MMP-9 в десневой жидкости определяли с помощью иммуноферментного анализа в одномоментно размороженных пробах согласно инструкциям к наборам производителя Wuhan Fine Biotech Co., Ltd. (Китай). Оптическую плотность содержимого ячеек планшета измеряли и регистрировали на фотометре «Multiscan EX» («Thermo Fisher Scientific», США). Результаты рассчитывали в соответствии с прилагаемыми к наборам инструкциями по калибровочным кривым, построенным на основании измерения стандартов. Молекулярно-генетические методы включали определение маркерных пародонтопатогенов *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (пародонтопатогены I порядка), *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* (пародонтопатогены II порядка), грибы *Candida albicans* с помощью метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) в соответствии с инструкциями к набо-

рам производителя («ПародонтоСкрин», ООО «ДНК-Технология», Россия).

Методы анализа данных Статистическая обработка полученных результатов, оценка распределения показателей, сравнительный анализ выборок проведен с помощью пакета программ для статистической обработки данных STATA v.14 (College Station, TX: StataCorp LP., USA). Оценка нормальности распределения проведена с помощью критерия Шапиро-Уилка. Статистическая оценка для сравнения уровней MMP-8 и MMP-9 между двумя независимыми группами была выполнена с помощью непараметрического теста Манна-Уитни. Коэффициент корреляции Спирмена использовался для исследования внутригрупповых связей между уровнями отдельных параметров. Критический уровень значимости был принят как $p \leq 0,05$.

Результаты

В исследуемых группах нами были определены средние концентрации матриксных металлопротеаз. Так, в группе пациентов с хроническим пародонтитом уровень MMP-8 был значительно выше (медиана – 8,52 [7,45; 9,5] нг/мл против 2,23 [0,843; 3,32], $p < 0,001$). Аналогично, концентрация MMP-9 также была значительно выше у лиц с хроническим пародонтитом, чем у лиц с интактным пародонтом (медиана 18,33 [16,32; 18,95] нг/мл, против 3,3 [2,13; 4,28], $p < 0,001$) (рис.). При определении концентраций матриксных металлопротеаз в зависимости от глубины пародон-

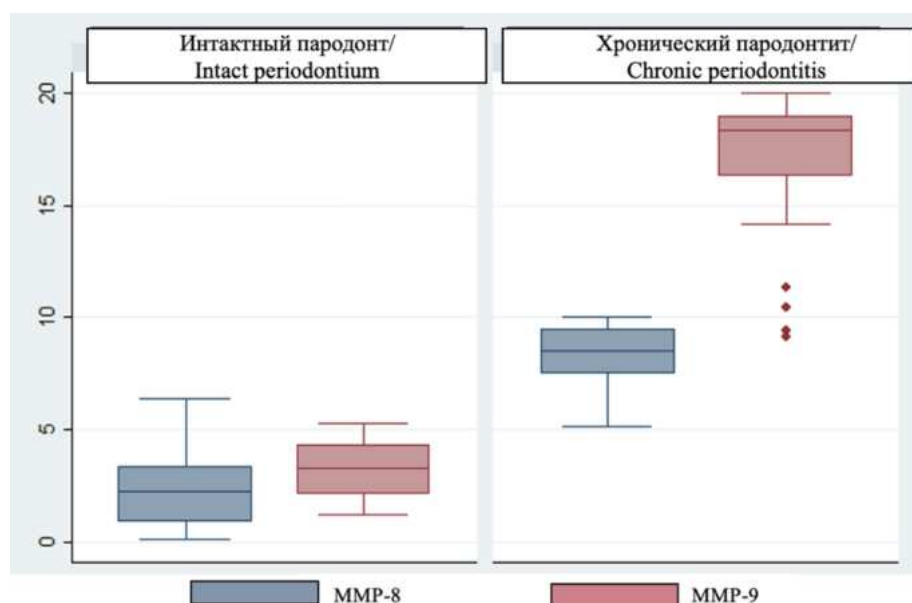


Рис. Концентрации уровней MMP-8 и MMP-9 (нг/мл) у лиц с хроническим пародонтитом и интактным пародонтом (Me [Q1; Q3]).

Fig. Concentrations of MMP-8 and MMP-9 levels (ng/ml) in individuals with chronic periodontitis and intact periodontitis (Me [Q1; Q3]).

тального кармана в группе пациентов с хроническим пародонтитом было выявлено, что средние концентрации уровней MMP-8 в десневой жидкости в глубоких карманах (глубина более или равна 6 мм) были в 1,4 раза выше, чем в неглубоких карманах (глубина 4 – 5 мм) ($p = 0,006$). Также как и уровень желатиназы MMP-9 был в 1,3 раза выше у пациентов с глубокими пародонтальными карманами ($p = 0,037$). Были установлены корреляции уровней MMP-8 и MMP-9 с глубиной пародонтального кармана: $r = 0,482$ ($p = 0,025$) и $r = 0,302$ ($p = 0,031$) соответственно.

Результаты анализа частоты встречаемости пародонтопатогенной микробиоты выявили значимые различия в определяемых патобионтах по группам обследованных. В группе пациентов с хроническим пародонтитом частота выделения пародонтопатогенов составила 100,0% (54 пациента), тогда как в группе с интактным пародонтом пародонтопатогены выделялись лишь у 11 человек (39,3%). У пациентов с хроническим пародонтитом наиболее часто встречались *P. gingivalis* (87,0%), *A. actinomycetemcomitans* (77,7%), *T. forsythia* (35,2%) – пародонтопатогенные бактерии I порядка, а также *T. denticola* (85,2%), *P. intermedia* (46,3%) и *C. albicans* (13,0%) – пародонтопатогены II порядка. Также были выявлены ассоциации пародонтопатогенов у 32 (59,3%) обследованных с хроническим пародонтитом. Наиболее часто встречались следующие ассоциации: *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* и *T. denticola* у 12 человек (37,5%), *P. gingivalis* и *T. denticola* у 9 человек (28,1%), *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* у 8 человек (25,0%). Тогда как в группе с интактным пародонтом ассоциации пародонтопатогенов отсутствовали, а по встречаемости преобладали пародонтопатогенные бактерии II порядка – *T. denticola* – 17,9% и *P. intermedia* – 10,7%. Также у двух обследованных определялись *A. actinomycetemcomitans*, у одного – грибы *C. albicans*.

Для более глубокого патогенетического анализа взаимосвязей между выявленными видами пародонтопатогенов и содержанием матриксных металлопротеаз десневой жидкости проведён корреляционный анализ полученных данных (табл.).

Так, наибольшее количество значимых корреляционных взаимосвязей было выявлено в группе пациентов с хроническим пародонтитом. Умеренно выраженные прямые корреляционные зависимости содержания MMP-8 установлены с определением следующих пародонтопатогенных бактерий: *P. gingivalis* ($r = 0,634$; $p = 0,002$), *A. actinomycetemcomitans* ($r = 0,531$; $p = 0,015$), *T. denticola* ($r = 0,618$; $p = 0,008$). Содержание MMP-9 в десневой жидкости коррелировало с выделением *P. gingivalis* ($r = 0,817$; $p < 0,001$) – корреляция сильной степени, *A. actinomycetemcomitans* ($r = 0,418$; $p = 0,006$), *T. denticola*

($r = 0,775$; $p = 0,03$), а также, в отличие от MMP-8, с *T. forsythia* ($r = 0,537$; $p = 0,002$). Количественное содержание обоих металлопротеаз MMP-8 и MMP-9 положительно коррелировало с выделением ассоциаций пародонтопатогенов ($r = 0,589$; $p = 0,002$ и $r = 0,683$; $p = 0,01$ соответственно). У обследованных группы с интактным пародонтом значимых корреляций выявлено не было.

Обсуждение

Неспецифический компонент воспалительного ответа считается основным фактором, влияющим на деструкцию тканей пародонта. Инфильтрация макрофагов и нейтрофилов в очаг инфекции должна приводить к повышению концентрации провоспалительных медиаторов [8, 9]. Поскольку матриксные металлопротеазы отвечают за деградацию всех белков внеклеточного матрикса, необходима точная информация об их количественном содержании и влиянии на степень выраженности воспалительного процесса. MMP-8 и MMP-9 участвуют в деградации коллагена I, III и IV типа, включая коллаген базальной мембраны, необходимые для поддержания целостности соединительной ткани пародонта [5]. Оценка уровней коллагеназ и желатиназ в десневой жидкости во время воспаления пародонта эффективно отражает степень патологического метаболизма пародонтального коллагена и может иметь диагностическое значение. Выявленные в нашем исследовании повышенные концентрации матриксных металлопротеаз MMP-8 и MMP-9 в десневой жидкости больных с хроническим пародонтитом, по сравнению с обследованными с интактным пародонтом, демонстрируют проявление повышенной активности иммунокомпетентных клеток и соотносятся с данными предыдущих исследований [10 – 12].

Глубина пародонтального кармана, свидетельствующая о длительной альтерации на фоне воспалительно-деструктивного процесса, также может иметь взаимосвязь с содержанием медиаторов воспаления, в том числе матриксных металлопротеаз. Данные проведенных ранее исследований демонстрируют наличие корреляций между провоспалительными цитокинами IL-1 β , IL-6 с глубиной пародонтального кармана [12]. В нашем исследовании выявлены значимые корреляции глубины пародонтального кармана с содержанием MMP-8 и MMP-9. Вероятно, данные матриксины играют роль в поддержании и прогрессировании воспалительного процесса и могут отражать степень деструкции тканей пародонта.

Однако в развитии неспецифического компонента воспалительной реакции и прогрессировании деструкции пародонта, ведущую роль играет микробный фактор: смещается динамическое равновесие биоразнообразия микробиоценоза десневой борозды, определяется по-

Таблица / Table

Корреляционная матрица матричных металлопротеаз и пародонтопатогенных бактерий десневой жидкости
Correlation matrix of matrix metalloproteinases and periodontopathogenic bacteria in gingival crevicular fluid

Показатели Indicators	MMP-8	MMP-9
Хронический пародонтит / Chronic periodontitis		
<i>P. gingivalis</i>	$r = 0,634$ ($p = 0,002$)	$r = 0,817$ ($p < 0,001$)
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	$r = 0,531$ ($p = 0,015$)	$r = 0,418$ ($p = 0,006$)
<i>T. forsythia</i>	$r = 0,482$ ($p = 0,52$)	$r = 0,537$ ($p = 0,002$)
<i>T. denticola</i>	$r = 0,618$ ($p = 0,008$)	$r = 0,775$ ($p = 0,03$)
<i>P. intermedia</i>	$r = 0,158$ ($p = 0,08$)	$r = 0,184$ ($p = 0,79$)
<i>C. albicans</i>	$r = 0,134$ ($p = 0,26$)	$r = 0,168$ ($p = 0,13$)
Ассоциации пародонтопатогенов / Associations of periodontopathogens	$r = 0,589$ ($p = 0,002$)	$r = 0,683$ ($p = 0,01$)
Контрольная группа (интактный пародонт) / Control group (intact periodontium)		
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	$r = 0,118$ ($p = 0,46$)	$r = 0,134$ ($p = 0,16$)
<i>T. denticola</i>	$r = 0,284$ ($p = 0,22$)	$r = 0,188$ ($p = 0,52$)
<i>P. intermedia</i>	$r = 0,224$ ($p = 0,62$)	$r = 0,218$ ($p = 0,48$)
<i>C. albicans</i>	$r = 0,212$ ($p = 0,83$)	$r = 0,118$ ($p = 0,06$)

Примечание. Жирным цветом выделены статистически значимые корреляции.

Note. Statistically significant correlations are highlighted in bold.

вышенное содержание пародонтопатогенных бактерий [13, 14]. У большинства (60,7%) обследованных контрольной группы пародонтопатогены не выделялись, в то время как у всех пациентов с хроническим пародонтитом была выделена пародонтопатогенная микрофлора. Наиболее часто встречались *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* – пародонтопатогенные бактерии I порядка, *T. denticola* – пародонтопатоген II порядка, а также их ассоциации. Патогенность выделенной из десневой жидкости микрофлоры определяется протеолитическими ферментами клеточной стенки бактерий и эндотоксинами, которые напрямую и косвенно участвуют в разрушении тканей пародонта [14].

Установлено, что протеолитические ферменты являются факторами вирулентности *P. gingivalis* и *T. denticola* [2, 3]. Так, протеолитические ферменты *P. gingivalis* расщепляют фибриноген и разрушают или трансформируют цитокины, такие как ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-6 и ИЛ-8, а также расщепляют или инактивируют рецептор C5a фаго-

цитов, вызывают хемотаксис нейтрофилов и активируют протромбин, С-реактивный белок и нейтрофилы. Также было выявлено, что *P. gingivalis* секретирует большое количество пептидил-аргинин дезаминазы, которая подавляет факторы врожденного иммунитета, включая фагоцитоз и активность антимикробных пептидов полости рта. Более того, *P. gingivalis* способен продуцировать широкий спектр гингипаинов, которые обладают потенциалом разрушать компоненты комплемента (C3, C5) и иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG) [3, 4]. Еще один пародонтопатоген I порядка *A. actinomycetemcomitans* способен продуцировать лейкотоксин А, который связывается с антигеном-1, ассоциированным с функцией лимфоцитов (LFA-1), и вызывает β -гемолиз эритроцитов. Пародонтопатоген II порядка *T. denticola* имеет множество факторов вирулентности, таких как продукция протеолитических ферментов (олигопептидаза, дентипаин, дентилизин и т.д.), оказывающих деструктивное действие на ткани пародонта [2 – 4].

Вероятно, помимо прямого разрушения тканей пародонта пародонтопатогенной микробиотой и ингибирования иммунновоспалительного ответа, другим механизмом патогенности является способность пародонтопатогенов проникать в ткани пародонта и, за счет своих протеолитических ферментов, активировать уровни продукции про-MMP, выделяемые в неактивной форме клетками пародонтальной связки. Взаимосвязи пародонтопатогенных бактерий с уровнями синтеза матриксных металлопротеаз, выявленные в нашем исследовании у пациентов с хроническим пародонтитом, могут отражать сдвиги в процессах репаративной регенерации слизистой оболочки ротовой полости и регуляции местного иммунитета в ответ на микробную инвазию. Прямые корреляции средней и высокой степени были установлены у пациентов с хроническим пародонтитом между содержанием уровней MMP-8 и MMP-9 с выделением *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, а также их ассоциаций, что может свидетельствовать о ведущей роли данных микроорганизмов и их токсинов в развитии воспаления, индукции апоптоза, подавлении дифференциации остеобластов и деструкции тканей пародонта.

Заключение

Таким образом, развитие и прогрессирование хронического пародонтита модулируется несколькими факторами, включающими взаимодействие пародонтопатогенных бактерий и их токсинов с клетками десневого эпителия, что приводит к усиленной продукции в очаге воспаления протеолитических ферментов, в том числе матриксных металлопротеаз MMP-8 и MMP-9. Матриксные ме-

таллопротеазы MMP-8 и MMP-9 могут воздействовать на пути передачи сигнала в клетке, на межклеточные взаимодействия, а также обладают способностью денатурировать основные компоненты соединительнотканного матрикса, такие как коллаген и эластин, способствуя дегградации пародонтальной ткани. С другой стороны, протеолитические ферменты клеточной стенки пародонтопатогенных бактерий и их эндотоксины вызывают нарушение гомеостаза тканей пародонта, ингибируют функции клеток пародонтальных связок, индуцируют секрецию макрофагами окиси азота, воспалительных медиаторов десневыми фибробластами, способствующими резорбции костей. Выявленные в нашем исследовании взаимосвязи маркерных пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola* с уровнями секреции MMP-8 и MMP-9 могут отражать сдвиги в процессах репаративной регенерации слизистой оболочки ротовой полости и регуляции местного иммунитета в ответ на микробную инвазию.

Вероятно, персистирующий воспалительный процесс, дегградация экстрацеллюлярного матрикса, а также активность остеокластов и резорбция кости, лежащие в основе прогрессирования хронического пародонтита, отражают синергидный эффект влияния матриксных металлопротеаз и протеолитических бактериальных ферментов на ткани пародонта.

Также матриксные металлопротеазы MMP-8 и MMP-9 могут являться ценными диагностическими инструментами в комплексной оценке состояния полости рта при воспалительных заболеваниях пародонта, отражая степень прогрессирования патологического процесса.

Литература

(п.п. 1 – 7, 10 – 12, см. References)

8. Шинкаренко Т.В., Румянцев В.А., Егорова Е.Н., Елисеева Т.И. Матриксные металлопротеиназы при заболеваниях пародонта. *Стоматология*. 2013; 92(2): 77–80.
9. Теблосева Л.М., Гуревич К.Г. Остеоиммунология и пародонтит. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014; 58(3): 67–72. <https://pfiet.ru/article/view/1020>
13. Давидович Н.В., Соловьёва Н.В., Галиева А.С., Лепёшкин С.Ю., Башилова Е.Н., Писарева С.Н. и др. Роль системы антимикробных пептидов в неспецифической защите полости рта при воспалительных заболеваниях пародонта. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(7): 422–7. <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-7-422-427>
14. Царёв В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии – основной фактор возникновения и развития пародонтита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; 94(5): 101–12. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-101-112>

References

1. Aronova E., Dmitrienko M., Ivanova A. et al. Express Diagnostics of Proteolytic Activity of Periodontopathogens—Methodological Approach. *Dent J (Basel)*. 2022; 10(11): 217 <https://doi.org/10.3390/dj10110217> PMID: 36421404; PMCID: PMC9689137.
2. Travis J., Potempa J. The Biphasic Virulence Activities of Gingipains: Activation and Inactivation of Host Proteins. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2003; 4(6): 443–50. <http://dx.doi.org/10.2174/1389203033487027>

3. Mezyk-Kopec R., Bzowska M., Potempa J. et al. Inactivation of Membrane Tumor Necrosis Factor Alpha by Gingipains from Porphyromonas gingivalis. *Infect. Immun.* 2005; 73(3): 1506–14. <https://doi.org/10.1128/iai.73.3.1506-1514.2005>
4. Zhang Z., Yang X., Zhang H. et al. The Role of Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer Glycosylation in Regulating Matrix Metalloproteinases in Periodontitis. *J. Periodontol Res.* 2018; 53(3): 391–402. <https://doi.org/10.1111/jre.12524>
5. Yakob M., Meurman J.H., Sorsa T., Soder B. Treponema Denticola Associates with Increased Levels of MMP-8 and MMP-9 in Gingival Crevicular Fluid. *Oral Dis.* 2013; 19(7): 694–701. <https://doi.org/10.1111/odi.12057>
6. Verstappen J., Von den Hoff J.W. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): Their Biological Functions and Involvement in Oral Disease. *J. Dent. Res.* 2006; 85(12): 1074–84. <https://doi.org/10.1177/154405910608501202>
7. Luchian I., Goriuc A., Sandu D., Covasa M. The Role of Matrix Metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in Periodontal and Peri-Implant Pathological Processes. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(3): 1806. <https://doi.org/10.3390/ijms23031806>
8. Shinkarenko T.V., Rumiantsev V.A., Egorova E.N., Eliseeva T.I. Matrix metalloproteinases in periodontitis. *Stomatologiya.* 2013; 92(2): 77 – 80. (In Russian)
9. Teblova L.M., Gurevich K.G. Osteoimmunology and Periodontitis. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. (Pathological physiology and experimental therapy).* 2014; 58(3): 67–72. <https://pfiet.ru/article/view/1020> (In Russian)
10. Lomba K.S., Beiler T.F., Sete M.R., Pires F.R., Figueredo C.M. Use of minimally invasive gingival biopsies in the study of inflammatory mediators expression and their correlation with gingival fluid in patients with chronic periodontitis. *Indian J Dent Res.* 2015; 26(2): 126 – 30. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.159134>
11. Leppilahti J.M., Sorsa T., Kallio M.A. et al. The utility of gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 response patterns in prediction of site-level clinical treatment outcome. *J Periodontol.* 2015; 86(6): 777–87. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.140421>
12. Nędzi-Góra M., Gorska R., Kostrzewa-Janicka J., Kowalski J. Concentration of MMP-8 and IL-1 β in gingival crevicular fluid in patients with chronic and aggressive periodontitis. *Central-European journal of immunology.* 2017; 42(4): 342 – 46. <https://doi.org/10.5114/ceji.2017.72824>
13. Davidovich N.V., Solovieva N.V., Galieva A.S., Lepeshkin S.Yu., Bashilova E.N., Pisareva S.N. et al. Role of antimicrobial peptides system in inflammatory periodontal diseases non-specific oral cavity protection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2021; 66(7): 422 – 7 <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-7-422-427> (in Russian)
14. Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V. Periodontopathogenic bacteria are the main factor in the occurrence and development of periodontitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. (Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology).* 2017; 94(5): 101 – 12. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-101-112> (in Russian)

Сведения об авторах:

Давидович Наталия Валерьевна, канд. мед. наук, доцент каф. клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск) Минздрава России; e-mail: nvdavidovich@gmail.com

Галиева Александра Сергеевна, канд. мед. наук, доцент каф. терапевтической стоматологии, ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск) Минздрава России; e-mail: alexgalieva@yandex.ru

Вайгачев Илья Владимирович, врач-ординатор ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ (г. Москва), e-mail: vaygachev.1999@mail.ru

Башилова Елена Николаевна, канд. мед. наук, доцент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии, ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск) Минздрава России; e-mail: ebashilova@mail.ru

Соловьева Наталия Владиславовна, доктор мед наук, доцент, зав. каф. патологической физиологии, ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск) Минздрава России; e-mail: patophiz@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-092.9

Александрова А.Д.^{1,2}, Антропова И.П.^{1,2}, Хацко С.Л.³

Влияние ингибирования P2Y₁₂ рецепторов на тромбоцитопозз и характеристики тромбоцитов крыс при моделировании травмы кости

¹Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, 620028, Екатеринбург, Россия, ул. Репина, д. 3

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, 620049, Екатеринбург, Россия, ул. Первомайская, д. 106

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени Первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620062, Екатеринбург, Россия, ул. Мира, д. 19

Введение. Травма костной ткани требует активного включения в процесс репаративной регенерации тромбоцитов. Рецепторы P2Y₁₂ являются важными регуляторами функции тромбоцитов, позволяющими быстро реагировать на повреждения. Клопидогрел, опосредованно блокирующий P2Y₁₂ рецепторы, широко используется в клинической практике, а также для изучения функционирования тромбоцитов и мегакариоцитов. **Цель** – изучить эффект блокады P2Y₁₂ рецепторов на развитие мегакариоцитов, параметры и функциональную активность тромбоцитов в условиях экспериментальной костной травмы.

Методика. Исследование выполнено на крысах-самках Wistar ($n = 40$), которых разделили на две группы. Опытным животным ежедневно внутрибрюшинно вводился клопидогрел в течение 7 суток до операции (моделирование травмы нижней челюсти) и до момента выведения из эксперимента (перед операцией, через 1, 3 и 7 суток после операции). Контрольным животным клопидогрел не вводился, травма моделировалась. Определяли тромбоцитарные показатели, активность агрегации тромбоцитов с АДФ, стадии развития клеток мегакариоцитарного роста.

Результаты. Необратимое ингибирование рецепторов P2Y₁₂ оказывало существенное влияние на развитие мегакариоцитов, параметры циркулирующих тромбоцитов как до, так и после травмы. Наблюдался сдвиг мегакариоцитов в сторону зрелых форм, а также увеличение количества циркулирующих тромбоцитов до операции и повышенное их потребление в послеоперационном периоде.

Заключение. Особенности развития мегакариоцитов и параметры тромбоцитов при блокировании P2Y₁₂ рецепторов в условиях травмы отражают ответ организма на функциональную недостаточность тромбоцитарного компонента крови, что нужно учитывать при хирургических вмешательствах и травме.

Ключевые слова: тромбоциты; тромбоцитопозз; мегакариоциты; P2Y₁₂ рецепторы; клопидогрел; травма кости; крысы

Для цитирования: Александрова А.Д., Антропова И.П., Хацко С.Л. Влияние ингибирования P2Y₁₂ рецепторов на тромбоцитопозз и характеристики тромбоцитов крыс при моделировании травмы кости. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 113–122.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.113-122

Участие авторов: идея исследования и дизайн эксперимента, обработка и интерпретация результатов, написание и редактирование текста – Антропова И.П., Александрова А.Д.; проведение экспериментов и сбор материала для исследования – Александрова А.Д., Хацко С.Л. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Антропова Ирина Петровна, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3, общий отдел, для ЦНИЛ, e-mail: aip.hemolab@mail.ru

Финансирование. Исследование проведено с использованием оборудования Института естественных наук и математики Уральского федерального университета и ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России в рамках государственного задания № 121030900298-9.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.02.2025

Принята к печати 06.06.2025

Опубликована 27.03.2026

Aleksandrova A.D.^{1,2}, Antropova I.P.^{1,2}, Khatsko S.L.³

Effect of P2Y₁₂ receptor inhibition on thrombopoiesis and platelets characteristics in rats bone injury modeling

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ural State Medical University" of Ministry of Public Health of the Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, Russian Federation, Repina str., 3

²Federal State Budgetary Institution of Science "Institute of Immunology and Physiology" of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620049, Ekaterinburg, Russia, st. Pervomaiskaya, 106

³Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin", 620062, Ekaterinburg, Russia, st. Mira, no. 19

Introduction. Bone tissue injury requires the active involvement of platelets in the reparative regeneration process. P2Y₁₂ receptors are important regulators of platelet function, enabling a rapid response to injury. The antiplatelet drug clopidogrel, which indirectly blocks P2Y₁₂ receptors, is widely used in clinical practice and for studying platelet and megakaryocyte function.

Objectives. To study the effect of P2Y₁₂ receptor blockade on the development of MK, parameters and functional activity of the platelets in experimental bone injury.

Methods. The study was performed on female Wistar rats ($n = 40$), divided into two groups. The experimental group was administered clopidogrel intraperitoneally daily for 7 days before surgery (lower jaw injury modeling) and until withdrawal from the experiment (immediately before surgery, 1, 3 and 7 days after surgery). Control animals were without clopidogrel administration, injury was modeled. Platelet indices, platelet aggregation activity with ADP and stages of megakaryocytic lineage cell development in bone marrow punctures were determined.

Results. Irreversible inhibition of P2Y₁₂ receptors had a significant effect on MK development and platelet parameters both before and after injury modeling. A shift in MC towards mature forms was observed, as well as increase in the circulating platelets count before surgery and its increased consumption in the postoperative period.

Conclusions. Changes in MC development and platelet-related parameters when blocking P2Y₁₂ receptors at bone trauma reflect the body's response to the functional insufficiency of the platelet blood component; this must be taken into account during surgical interventions and injuries.

Keywords: platelets; thrombocytopoiesis; megakaryocytes; P2Y₁₂ receptors; clopidogrel; bone injury; rats

For citation: Aleksandrova A.D., Antropova I.P., Khatsko S.L. Effect of P2Y₁₂ receptor inhibition on thrombopoiesis and platelets characteristics in rats bone injury modeling. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 113–122. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.113-122

For correspondence: Antropova Irina Petrovna, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ural State Medical University" of Ministry of Public Health of the Russian Federation, for a central research laboratory. Address: 620028, Yekaterinburg, Repina str., 3. E-mail: aip.hemolab@mail.ru

Author's contribution: research idea and experimental design, processing and interpretation of results, writing and editing text – Antropova I.P., Aleksandrova A.D.; conducting experiments and collecting material for research – Aleksandrova A.D., Khatsko S.L. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Information about the authors:

Aleksandrova A.D., <https://orcid.org/0000-0002-3600-8894>

Antropova I.P., <https://orcid.org/0000-0002-9957-2505>

Khatsko S.L., <https://orcid.org/0000-0001-5921-6680>

Financing. The study was carried out using equipment from the Institute of Natural Sciences and Mathematics of the Ural Federal University and the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of the USMU of the Ministry of Health of Russia within the framework of state assignment No. 121030900298-9.

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

Received 14.02.2025

Accepted 06.06.2025

Published 27.03.2026

Введение

Костная ткань является сложным органом, обеспечивающим механическую стабильность организма, защиту основных органов и способствующим поддержанию ионного баланса в организме. Травматическое повреждение нарушает функцию кости, что делает крайне важным быстрое и эффективное восстановление утраченной функциональности. Костная ткань обладает собственными регенеративными способностями, однако различные патологические состояния могут нарушить ее тщательно регулируемые процессы резорбции и формирования [1].

Травма костной ткани требует активного включения в процесс репаративной регенерации тромбоцитов. В настоящее время получены убедительные данные о том, что тромбоциты являются полифункциональными элементами системы крови, которые не только осуществляют гемостатическую функцию, но также активно участвуют в воспалении, иммунных и регенераторных процессах [2]. Тромбоциты первыми контактируют с травмированным участком, активируются и индуцируют процессы, направленные на восстановление поврежденных тканей, включая формирование первичной фибриновой репаративной матрицы, высвобождение из альфа-гранул широкого спектра факторов роста, цитокинов, молекул адгезии, способствующих привлечению, пролиферации и дифференциации участвующих в регенерации клеток [2]. Нарушения функции тромбоцитов могут быть опасными для жизни, особенно при травмах и хирургических вмешательствах.

Тонкий баланс состояния тромбоцитов контролируется рядом рецептор-опосредованных сигнальных путей. Рецепторы, связанные с G-белком (GPCR), являются чрезвычайно важными регуляторами функции тромбоцитов, позволяющими поддерживать гемостаз и быстро реагировать на повреждения [3]. Пуринергический Gi-связанный АДФ рецептор $P2Y_{12}$ играет важную роль при активации и агрегации тромбоцитов. Хотя АДФ считается слабым агонистом тромбоцитов, он принимает участие в усилении и стабилизации ответа тромбоцитов на многие другие агонисты рецепторов, включая тромбин и тромбоксан $A2$ [4]. Ингибирование $P2Y_{12}$ -рецепторов ослабляет агрегацию тромбоцитов, нарушает связывание фибриногена с рецепторами GPIIb/IIIa, снижает их прокоагулянтную активность. У пациентов с наследственными дефектами рецепторов $P2Y_{12}$ наблюдаются кровотечения легкой и умеренной степени [5]. Фармакологическая регуляция ответа $P2Y_{12}$ рецепторов, связанная с мощным антитромботическим действием антиагрегантных препаратов, позволяет предотвращать развитие тромбозов.

В то же время ингибирование АДФ рецепторов может быть потенциально опасным при неотложных хирургических вмешательствах и травме [6]. Антиагрегантный препарат клопидогрел, опосредованно блокирующий $P2Y_{12}$ рецепторы, не только широко используется в клинической практике, но также играет важную роль в изучении функционирования тромбоцитов и мегакариоцитов [7, 8].

Мегакариоциты (МК) костного мозга представляют собой крупные полиплоидные клетки, являющиеся предшественниками тромбоцитов и формирующие большинство их внутриклеточных систем, необходимых для дальнейшего полноценного функционирования. Кроме того, МК участвуют в поддержании нормального количества циркулирующих тромбоцитов в периферической крови [9]. В условиях, требующих активного производства тромбоцитов, МК способны многократно увеличивать их продукцию [10]. Развитие МК и продукция тромбоцитов являются сложными регулируемыми процессами, механизмы регуляции действуют на уровнях пролиферации, дифференцировки и высвобождения тромбоцитов. Рецепторы, локализованные на плазматической мембране МК, в частности $P2Y_{12}$, интегрируют сигналы окружающей среды и регулируют развитие МК [11].

Тиенопиридиновые метаболиты клопидогрела могут селективно и необратимо модифицировать рецепторы $P2Y_{12}$ в тромбоцитах и в МК и, следовательно, предотвращать связывание АДФ и дальнейшую активацию сигнальных путей клетки [12], что может оказать негативное влияние на репаративную регенерацию при повреждении костной ткани. **Целью** нашей работы стало изучение эффектов ингибирования $P2Y_{12}$ рецепторов на развитие мегакариоцитов, параметры и функциональную активность тромбоцитов в условиях экспериментальной костной травмы.

Методика

В качестве экспериментальных животных были выбраны половозрелые самки крыс линии Wistar весом 250–340 г ($n = 40$). Все эксперименты проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики» (приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.), Межгосударственными стандартами (ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными»), Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006). Исследования одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (протокол № 9 от 25 ноября 2022 года).

Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре 23–25 °С, цикле освещении 12 ч день/ночь и с доступом к еде и воде *ad libitum*. Животные были разделены на две группы: контрольную ($n = 20$) и опытную ($n = 20$). В контрольной группе 5 животных были интактными, они не подвергались никакому воздействию, остальным крысам ($n = 15$) моделировалось травма, но клопидогрел не вводился. Всем животным опытной группы вводился клопидогрел, из них 5 животных не подвергались хирургическому воздействию. Введение препарата осуществляли внутривентрально (в область апоневроза, отступив 1 см вниз от области пупочного сращения под углом 30–40° к брюшной стенке), ежедневно в течение недели до операции и после нее до завершения эксперимента. Раствор для инъекций в концентрации 15 мг/мл вводили в дозировке 30 мг/кг веса животного.

Костная травма выполнялась под общим ингаляционным эфирным наркозом, в условиях чистой операционной, при соблюдении правил антисептики и асептики. Крысам выбривали шерсть в области височно-нижнечелюстного сустава с левой стороны. Производили разрез кожи и жевательной мышцы в области угла нижней челюсти длиной 0,5 см и обнажали поверхность кости. Высверливали сквозное округлое отверстие сверлом диаметром 2 мм, после чего прикрывали дефект и ушивали рану. Выведение из эксперимента животных контрольной и опытной групп проводили непосредственно перед операцией (0 суток), через 1, 3 и 7 суток после операции ($n = 5$ на каждую временную точку). Кровь отбирали методом пункции сердца под общим ингаляционным эфирным наркозом, процедуру завершали эвтаназией 0,5% раствором новокаина внутрисердечно.

Тромбоцитарные параметры определяли с использованием гематологического анализатора «MEDONIC M 20». Агрегатометрию проводили по Борну на лазерном анализаторе Алат-2 «Биола», в качестве индуктора использовали АДФ в конечной концентрации 20 μ M.

Красный костный мозг отбирали после эвтаназии животных из не травмированной бедренной кости и изготавливали мазки. Мазок фиксировали красителем-фиксатором Май-Грюнвальда (0,30% раствор сухого красителя эозин метиленовый синий по Май-Грюнвальду в метаноле) в течение 3 минут, добавляли равное количество дистиллированной воды и продолжали окрашивание еще 1 минуту; докрашивали свежеприготовленным водным раствором краски Романовского в течение 12 минут [13]. При изучении мазков определяли (в % на 500 мегакариоцитов препарата) основные стадии развития клеток мегакариоцитарного роста: промегакариоциты, базо-

фильные мегакариоциты, полихроматофильные мегакариоциты, оксифильные мегакариоциты, инволютивные мегакариоциты (рис. 1).

Статистическую обработку проводили в программе «Statistica 10.0». Использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Статистически значимым принимался уровень $p < 0,05$. Данные представлены как медиана [интерквартильный размах].

Результаты

Основой оценки тромбоцитопоза является определение стадии развития клеток мегакариоцитарного роста в пунктатах костного мозга. Был проведен анализ морфологических особенностей клеток красного костного мозга на разных стадиях развития из бедренной кости крыс опытной и контрольной групп. Различия между группами по относительному уровню про-МК были обнаружены уже на дооперационном этапе: в опытной группе их было существенно меньше, чем в контрольной группе: 5,83 [5,77; 8,02]% и 11,71 [10,40; 11,83]% соответственно, $p = 0,008$. То есть после недели введения клопидогрела пул промегакариоцитов значительно снижался, а общий пул МК увеличивался относительно контроля (рис. 2). Аналогичные различия в проМК между опытной и контрольной группами сохранялись и в 1-е сутки после операции: 4,60 [4,49; 4,77]% и 9,40 [8,35; 10,00]% соответственно, $p = 0,032$. Однако к 3-м суткам у животных опытной группы происходило существенное возрастание количества про-МК, тогда как в контрольной группе данный показатель снижался: 9,11 [7,28; 10,41]% и 5,59 [3,53; 5,98]% соответственно, $p = 0,030$. К 7-м суткам различия между группами по уровню про-МК нивелировались.

Относительный уровень зрелых, но не способных к эффективному тромбоцитопозу, базофильных МК в опытной группе перед операцией был выше, чем в контрольной группе, хотя различия не достигали статистической значимости (рис. 3А). В 1-е сутки после операции отмечено значительно более выраженное падение базофильных МК в опытной группе по сравнению с контрольной (на 56,2% и 16,9% соответственно), что, по-видимому, объясняется ускорением перехода к более зрелым формам МК для более интенсивной продукции тромбоцитов в условиях костной травмы.

Относительное количество зрелых и наиболее активных полихроматофильных МК, в которых можно наблюдать отделение от цитоплазмы готовых пластинок, на протяжении всего эксперимента оставалось на достаточно высоком уровне в обеих группах (рис. 3В). До операции не выявлено существенных различий между группами. Однако спустя 1 сутки после операции существенно бо-

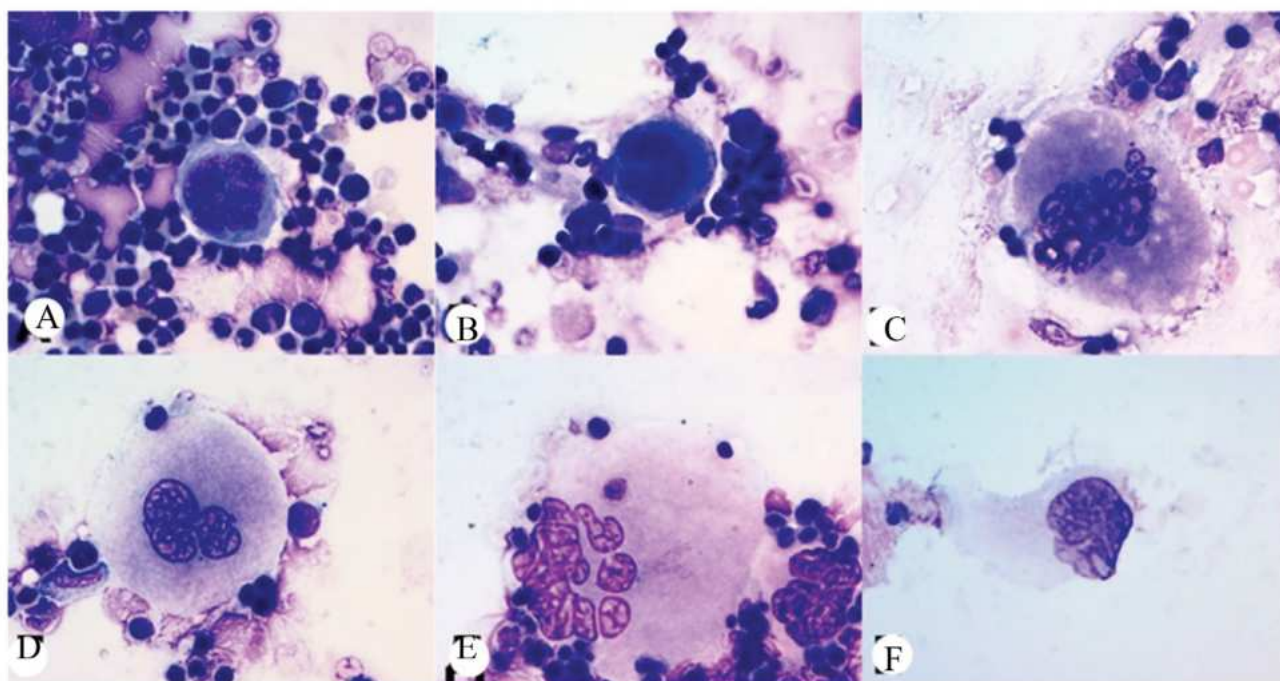


Рис. 1. Основные стадии мегакариоцитарного роста: А – промегакариоцит, В – базофильный мегакариоцит, С, D – полихроматофильный мегакариоцит, Е – оксифильный мегакариоцит, F – инволютивный мегакариоцит. Фиксация по Май-Грюнвальду, окрашивание по Романовскому-Гимзе, ув. x1000.

Fig. 1. The main stages of megakaryocytic growth are: A – promegakaryocyte, B – basophilic megakaryocyte, C, D – polychromatophilic megakaryocyte, E – oxyphilic megakaryocyte, F – involute megakaryocyte. May-Grunwald fixation, Romanovsky-Giemse staining, x1000.

более высокий относительный уровень полихроматофильных МК был обнаружен в опытной группе по сравнению с контролем: 52,73 [52,58; 53,60]% и 49,01 [46,98; 51,14]% соответственно, $p = 0,032$. Возможно, это объясняется необходимостью более активной продукции тромбоцитов для компенсации их функциональной недостаточности в раннем периоде после травмирующей операции. В 7-е сутки после операции статистически значимых различий между группами по уровню полихроматофильных МК выявлено не было.

Процентное содержание оксифильных МК до операции не имело существенных различий между группами (рис. 3С). Однако в раннем послеоперационном периоде в опытной группе уровень клеток данного типа был выше, чем в контрольной группе, к 3 суткам различия достигали статистической значимости: 15,18 [14,34; 19,01]% и 10,22 [5,41; 13,09]% соответственно, $p = 0,030$. Можно предположить, что на фоне снижения функциональной активности тромбоцитов травма ускоряет процесс отделения тромбоцитов от мегакариоцитов, поэтому после операции функционирующих, постепенно стареющих клеток становится больше.

Инволютивные формы мегакариоцитов образуются в результате вызревания мегакариоцитов с постепенным отторжением вещества цитоплазмы и ядра в процессе образования тромбоцитов. До операции и в раннем послеоперационном периоде определение относительного количества инволютивных форм МК не выявило существенных различий между изучаемыми группами (рис. 3D). Однако к 7-м суткам этот показатель имел тенденцию к большим значениям в опытной группе по сравнению с контролем: 14,78 [13,98; 15,66]% и 11,85 [10,16; 13,47]% соответственно, $p = 0,056$, что может свидетельствовать о более высокой скорости оборота тромбоцитов на фоне введения клопидогрела.

Дооперационное определение уровня тромбоцитов выявило существенное различие между группами (рис. 4А). У животных опытной группы количество циркулирующих тромбоцитов почти в 2 раза превышало соответствующий показатель контрольной группы: 984 [949; 1031] тыс/мкл и 582 [548; 606] тыс/мкл соответственно, $p = 0,016$. Данные различия можно объяснить компенсаторным повышением количества кровяных пластинок на фоне применения антиагреганта. Послеопе-

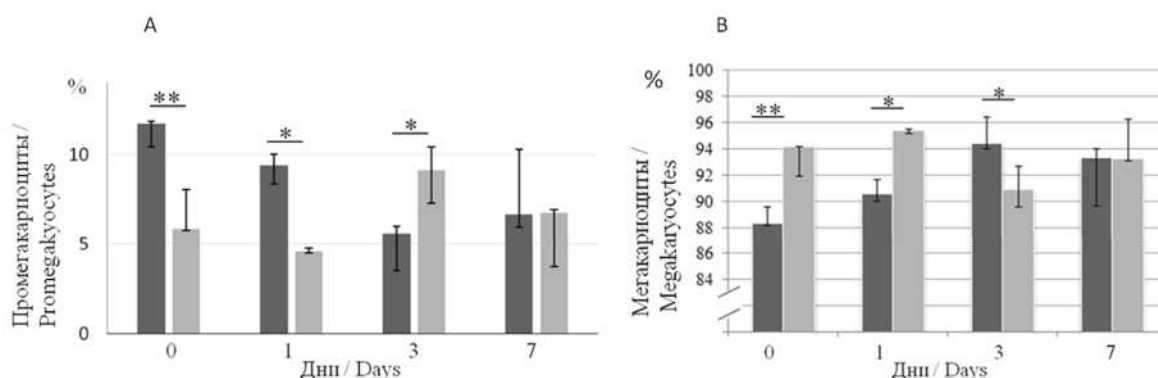


Рис. 2. Относительное количество промегакариоцитов (А) и мегакариоцитов (В) в опытной и контрольной группах до и после моделирования травмы кости. По оси абсцисс – срок относительно операции. Результаты представлены как медиана [интерквартильный интервал]; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

Fig. 2. The relative number of promegakaryocytes (A) and megakaryocytes (B) in the experimental and control groups before and after bone injury modeling. The abscissa axis shows the time period relative to the operation. The results are presented as the median [interquartile range]; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$.

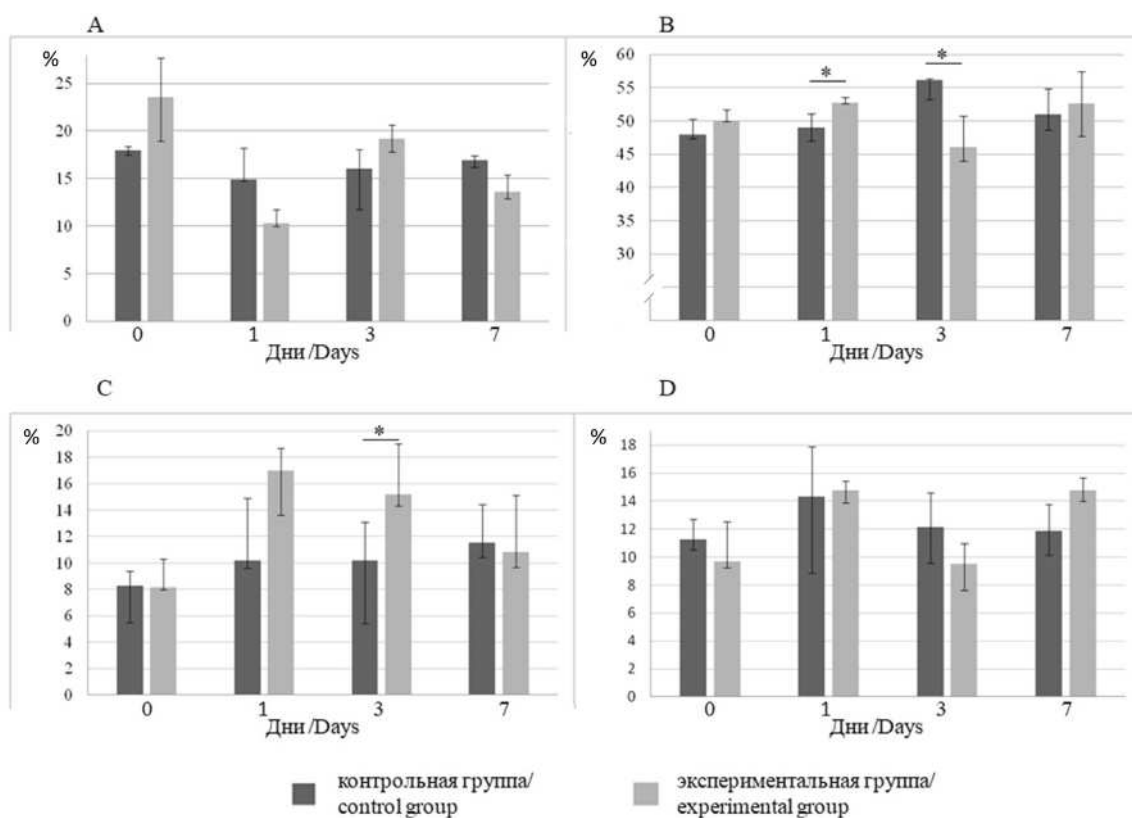


Рис. 3. Относительное количество базофильных мегакариоцитов (А), полихроматофильных мегакариоцитов (В), оксифильных мегакариоцитов (С), инволютивных мегакариоцитов (D) в опытной и контрольной группах до и после моделирования травмы кости. По оси абсцисс – срок относительно операции. Результаты представлены как медиана [интерквартильный интервал]; * – $p < 0,05$.

Fig. 3. The relative number of basophilic megakaryocytes (A), polychromatophilic megakaryocytes (B), oxyphilic megakaryocytes (C), and involute megakaryocytes (D) in the experimental and control groups before and after bone injury modeling. The abscissa axis shows the time period relative to the operation. The results are presented as the median [interquartile range]; * – $p < 0.05$.

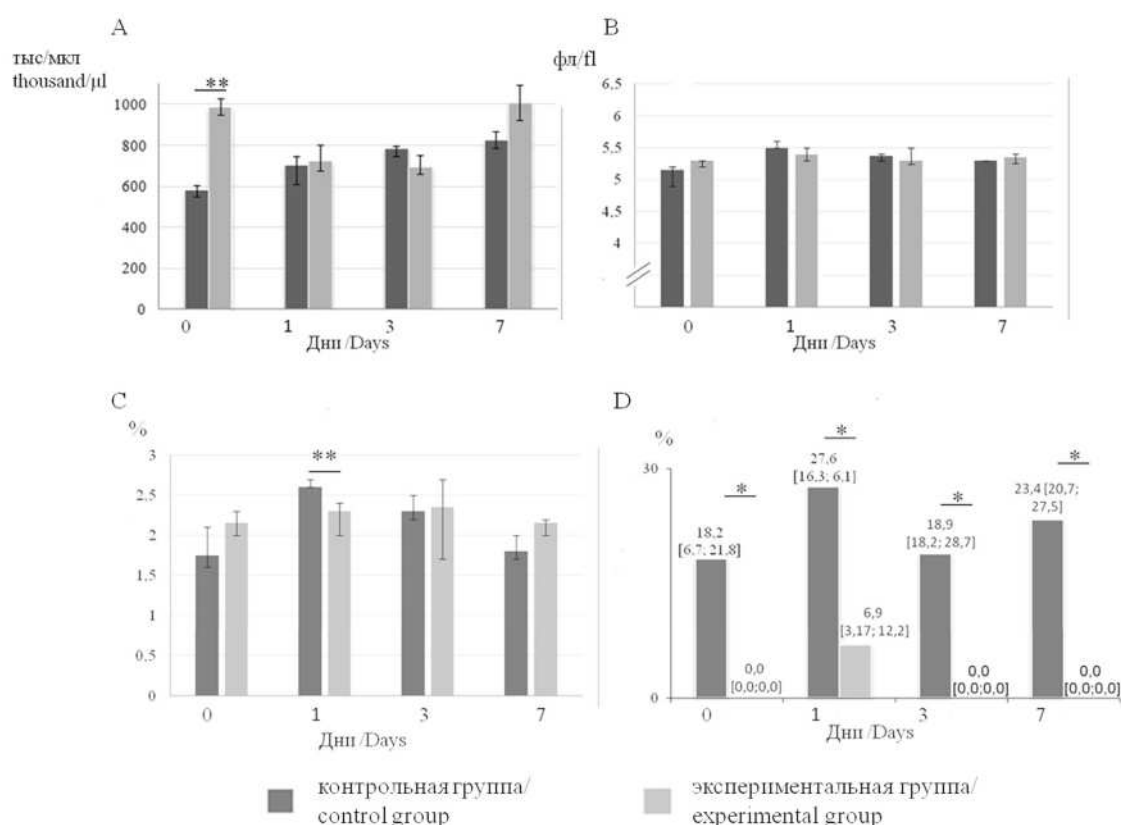


Рис. 4. Количество тромбоцитов (А), средний объем тромбоцитов (В), коэффициент крупных тромбоцитов (С), АДФ – индуцированная агрегация тромбоцитов (D) в опытной и контрольной группах до и после моделирования травмы кости. По оси абсцисс – срок относительно операции. Результаты представлены как медиана [интерквартильный интервал]; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$.

Fig. 4. Platelet count (A), average platelet volume (B), large platelet ratio (C), ADP – induced platelet aggregation (D) in the experimental and control groups before and after bone injury modeling. The abscissa axis shows the time period relative to the operation. The results are presented as the median [interquartile range]; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$.

рационального снижения уровня тромбоцитов в контрольной группе не наблюдалось, в отличие от опытной группы, где выявлено падение количества тромбоцитов в 1-е сутки после операции на 26,6% от исходного уровня, что можно объяснить необходимостью рекрутирования большего их количества для эффективного формирования сгустка при хирургическом вмешательстве. Отмечено, что количество тромбоцитов опытной и контрольной групп в 1-е сутки практически выравнивается, такое нивелирование уровней сохранялось до 3-х суток после операции. К 7-м суткам в обеих группах наблюдалось реактивное повышение уровня кровяных пластинок, при этом нарастание тромбоцитов в опытной группе шло более интенсивно.

Средний объем тромбоцитов (MPV), как и относительное содержание крупных тромбоцитов, до операции имел тенденцию к большим значениям у животных опытной группы (рис. 4B, C). Однако в 1-е сутки после операции количество крупных тромбоцитов в опытной группе

было ниже, чем в контрольной группе: 2,30 [2,00; 2,40]% и 2,60 [2,60; 2,70]% соответственно $p = 0,008$, что можно объяснить активным потреблением более крупных тромбоцитов в раннем послеоперационном периоде в условиях применения клопидогрела. С 3-х суток после операции существенных различий в объемных характеристиках тромбоцитов выявлено не было.

Анализ функциональной активности тромбоцитов показал, что агрегация значимо индуцировалась только у животных контрольной группы, как до операции, так и в послеоперационном периоде (рис. 4D). У животных опытной группы блокирование P2Y₁₂ рецепторов приводило практически к полному ингибированию АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Однако отмечено, что в 1-е сутки после операции у животных опытной группы наблюдалось умеренное повышение агрегационной активности, которое, тем не менее, было существенно ниже, чем в контрольной группе.

Обсуждение

Проблема эффективного лечения костной травмы имеет высокую актуальность и является предметом широкого круга экспериментальных и клинических исследований, в результате которых получены убедительные данные о важной роли тромбоцитов в репарации травматических повреждений. Активированные тромбоциты первыми контактируют с травмированным участком и индуцируют процессы, направленные на восстановление поврежденных тканей [2]. В активации тромбоцитов и амплификации их ответа на действие тромбина, коллагена, фактора фон Виллебранда, тромбоспандина A2 важную роль играют $P2Y_{12}$ -рецепторы. Активация этих рецепторов сопровождается также секрецией гранул, увеличением экспрессии Р-селектина, прокоагулянтными изменениями на поверхности плазмолеммы тромбоцитов [14]. Ингибирование $P2Y_{12}$ рецепторов может быть потенциально опасным при неотложных хирургических вмешательствах и травме, но данный вопрос является малоизученным.

Определяя влияние ингибирования рецепторов $P2Y_{12}$ на количество тромбоцитов, A. Balduini с соавторами провели анализ данных клинического исследования, в котором количество тромбоцитов регистрировалось до и после введения пациентам клопидогрела. В данном исследовании было показано, что активные метаболиты препарата не ингибировали образование протромбоцитов и не влияли на количество тромбоцитов в крови [15].

В настоящей работе мы проанализировали влияние блокирования рецепторов $P2Y_{12}$ на тромбоцитарные параметры. Введение в течение 7 дней экспериментальным животным клопидогрела приводит к практически полному ингибированию индуцируемой АДФ агрегационной активности тромбоцитов. В отличие от работы A. Balduini с соавторами, в нашем исследовании на фоне значительного снижения функциональной активности тромбоцитов существенно повышалось их количество в крови.

Циркулирующие тромбоциты неоднородны по размеру, уровню экспрессии поверхностных рецепторов и возрасту. Эта гетерогенность связана с различиями в мегакариocyтах, продуцирующих тромбоциты, и с воздействием изменений окружающей среды в течение жизни тромбоцитов [16]. Размер тромбоцитов является важным параметром, влияющим на их функциональную активность. Доказано, что с увеличением MPV увеличивается площадь контакта со стенкой сосуда, связывается больше фибриногена на поверхности, более высок уровень фосфорилирования белков после стимуляции тромбином, сильнее реакция на агонисты, то есть увеличивает-

ся гемостатический потенциал тромбоцита [17]. Согласно литературным данным, в норме существует обратная нелинейная зависимость между количеством тромбоцитов и MPV [18]. В нашем исследовании увеличение количества тромбоцитов при ингибировании $P2Y_{12}$ рецепторов не приводило к уменьшению MPV, наоборот, присутствовала тенденция к увеличению MPV и относительного уровня крупных тромбоцитов.

Травма костной ткани является мощным воздействием на организм, требующим мобилизации системы гемостаза, в частности её тромбоцитарного звена [19]. В 1-е сутки после операции в контрольной группе количество тромбоцитов в крови повышается на 20,8%, тогда как на фоне применения клопидогрела – снижается на 26,6%. Повышение уровня тромбоцитов в контрольной группе является следствием развития реактивного тромбоцитоза в ответ на травму [20]. В то же время снижение уровня циркулирующих тромбоцитов в опытной группе можно объяснить повышенной потребностью в рекрутировании кровяных пластинок в условиях их функциональной недостаточности. Нами было отмечено, что на фоне применения клопидогрела более интенсивно потреблялись крупные, наиболее функционально активные кровяные пластинки, поскольку количество крупных тромбоцитов в 1-е сутки после операции в опытной группе было существенно ниже по сравнению с контролем.

Мы обнаружили, что в 1-е сутки после операции на фоне ингибирования $P2Y_{12}$ рецепторов у животных наблюдается всплеск агрегационной активности. Данный феномен можно объяснить включением альтернативного пути активации на фоне мощной стимуляции тромбоцитов в условиях хирургической операции и травмы кости. Известно, что одним из вариантов путей стимуляции агрегационной активности тромбоцитов при блокировании $P2Y_{12}$ рецепторов может быть экспрессия аденозиновых рецепторов, которые также представляют собой подсемейство рецепторов, связанных с G-белком [21].

Мегакариоцит содержит все метаболические компоненты, присутствующие в тромбоцитах. Доказано, что зрелые МК экспрессируют рецепторы функциональной активации, аналогичные рецепторам тромбоцитов, включая рецепторы $P2Y_{12}$ [11, 15], поэтому МК могут иметь аналогичную тромбоцитам чувствительность к препаратам, в частности, к антиагреганту клопидогрелу [12, 22].

Развитие МК регулируется рецепторами, локализованными на плазматической мембране и интегрирующими сигналы окружающей среды [23]. Мегакариоциты имеют несколько каскадов передачи сигналов и способны реагировать на межклеточные взаимодействия, компоненты внеклеточного матрикса, поток, создаваемый

кровообращением в синусоидальном просвете, при этом могут происходить изменения в созревании, пролиферации и выработке тромбоцитов [24, 25]. Вместе с тем, нет данных о реактивных изменениях МК в условиях костной травмы при индуцированном клопидогрелом ингибировании P2Y₁₂ рецепторов.

В настоящем исследовании мы показали, что после недельного введения экспериментальным животным препарата клопидогрел существенно снижается относительное количество проМК. Сдвиг происходит от проМК в сторону более зрелых форм, что можно расценить как ускорение развития МК на фоне снижения функциональных возможностей производимых ими тромбоцитов.

В 1-е сутки после операции на фоне блокирования P2Y₁₂, сохраняется низкий уровень проМК, в то же время наблюдается значительно более высокий в сравнении с контрольной группой уровень зрелых и наиболее активных полихроматофильных МК. К 3-м послеоперационным суткам в опытной группе происходит двукратное повышение относительного количества проМК, с существенным превышением значений контроля. Известно, что развитие МК и продукция тромбоцитов являются сложными процессами, которые регулируются рядом факторов, включающих цитокины, хемокины, межклеточные взаимодействия. Механизмы регуляции мегакариопоэза

действуют на уровнях пролиферации, дифференцировки и высвобождения тромбоцитов, положительным регулятором, в частности, является IL6 [26], который синтезируется при повреждениях тканей и является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления [27]. Можно предположить, что нарастание пула проМК, стимулированное послеоперационным молекулярным спектром, особенно выражено в условиях ингибирования рецепторов P2Y₁₂ и снижения функциональной активности циркулирующих тромбоцитов. В то же время на фоне введения клопидогрела в послеоперационном периоде наблюдается повышение относительного уровня стареющих форм МК.

Заключение

Полученные в работе новые данные свидетельствуют о значительном влиянии необратимого ингибирования АДФ рецепторов P2Y₁₂ на тромбопоэз, количество и размер формирующихся тромбоцитов как до, так и после травматичного хирургического вмешательства. Сдвиг развития МК в сторону зрелых форм и существенное повышение количества циркулирующих тромбоцитов можно рассматривать в качестве ответа организма на наличие функциональной недостаточности тромбоцитарного компонента крови.

Литература

(п.п. 1; 3-12; 14-18; 21-27 см. References)

- Мазуров А.В. Физиология и патология тромбоцитов. М.: Литтерра; 2011.
- Сачилович Д.С. Миелограмма – процедура исследования и интерпретация. Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2019.
- Антропова И.П., Рейно Е.В., Юшков Б.Г. Клоттинговые тесты и молекулярные маркеры в оценке коагуляционных изменений на фоне антитромботической профилактики дабигатраном после крупных ортопедических операций. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(1): 25–30. <https://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-25-30>
- Михайлова З.Д., Черепанова В.В., Бабаев Р.Х., Клишкин П.Ф. Тромбоцитозы в практике терапевта. *Врач*. 2020; 31(3): 38–43. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-03-08>

References

- Bai L., Song P., Su J. Bioactive elements manipulate bone regeneration. *Biomater Transl.* 2023; 4(4): 248–69. <https://doi.org/10.12336/biomatertransl.2023.04.005>
- Mazurov A.V. *Physiology and pathology of platelets*. Moscow: Litterra; 2011 (in Russian).
- Fernández D.I., Kuijpers M.J.E., Heemskerk J.W.M. Platelet calcium signaling by G-protein coupled and ITAM-linked receptors regulating anoctamin-6 and procoagulant activity. *Platelets*. 2021; 32(7): 863–71. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1859103>
- Hechler B., Gachet C. P2 receptors and platelet function. *Purinergic Signal*. 2011; 7(3): 293–303. <https://doi.org/10.1007/s11302-011-9247-6>
- Cattaneo M. P2Y₁₂ receptors: structure and function. *J Thromb Haemost.* 2015; 13(Suppl 1): 10–16. <https://doi.org/10.1111/jth.12952>
- Mazzeffi M., Tanaka K.A., Gurbel P.A. et al. Platelet P2Y₁₂ Receptor Inhibition and Perioperative Patient Management. *Anesthesiology*. 2025; 142(1): 202–16. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000005148>
- Braun A., Anders H.J., Gudermann T., Mammadova-Bach E. Platelet-Cancer Interplay: Molecular Mechanisms and New Therapeutic Avenues. *Front Oncol* 2021; 11: 665534. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.665534>
- Parker W.A.E., Storey R.F. The role of platelet P2Y₁₂ receptors in inflammation. *Br J Pharmacol.* 2024; 181(4): 515–31. <https://doi.org/10.1111/bph.16256>
- Wang H., He J., Xu C. et al. Decoding Human Megakaryocyte Development. *Cell Stem Cell*. 2021; 28(3): 535–49. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.11.006>

10. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest.* 2005; 115(12): 3339–47. <https://doi.org/10.1172/JCI26674>
11. Gerhards C., Uhlig S., Etemad M. et al. Expression of ADP receptor P2Y₁₂, thromboxane A₂ receptor and C-type lectin-like receptor 2 in cord blood-derived megakaryopoiesis. *Platelets.* 2021; 32(5): 618–25. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1782868>
12. Cazenave J.P., Gachet C. Anti-platelet drugs: do they affect megakaryocytes? *Baillieres Clin Haematol.* 1997; 10(1): 163–80. [https://doi.org/10.1016/s0950-3536\(97\)80056-x](https://doi.org/10.1016/s0950-3536(97)80056-x)
13. Sachilovich D.S. Myelogram – research procedure and interpretation. Gomel: State Institution “Republican Scientific and Practical Center for Cardiology and Epidemiology of the Humanities”, 2019 (in Russian)
14. Murugappa S., Kunapuli S.P. The role of ADP receptors in platelet function. *Front Biosci.* 2006; 11(2): 1977–86. <https://doi.org/10.2741/1939>
15. Balduini A., Di Buduo C.A., Malara A. et al. Constitutively released adenosine diphosphate regulates proplatelet formation by human megakaryocytes. *Haematologica.* 2012; 97(11): 1657–65. <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.059212>
16. Veninga A., Baaten C.C.F.M.J., De Simone I. et al. Effects of Platelet Agonists and Priming on the Formation of Platelet Populations. *Thromb Haemost.* 2022; 122(5): 726–38. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1735972>
17. Handtke S., Thiele T. Large and small platelets-(When) do they differ? *J Thromb Haemost.* 2020; 18(6): 1256–67. <https://doi.org/10.1111/jth.14788>
18. Bessman J.D., Williams L.J., Gilmer P.R. Jr. Mean platelet volume. The inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and an artifact of other particles. *Am J Clin Pathol.* 1981; 76(3): 289–93. <https://doi.org/10.1093/ajcp/76.3.289>
19. Antropova I.P., Reino E.V., Yushkov B.G. Clotting tests and molecular markers in the assessment of coagulation changes during antithrombotic prophylaxis with dabigatran after major orthopedic surgeries. *Clinical laboratory diagnostics.* 2017; 62(1): 25–30. (in Russian). <https://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-25-30>
20. Michailova Z.D., Cherepanova B.B., Babaeva R.H., Klimkin P.F. Thrombocytosis in the practice of a therapist. *Vrach. (The Doctor).* 2020; 31(3): 38–43. (in Russian). <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-03-08>
21. Wolska N., Rozalski M. Blood Platelet Adenosine Receptors as Potential Targets for Anti-Platelet Therapy. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(21): 5475. <https://doi.org/10.3390/ijms20215475>
22. Myers R.A., Ortel T.L., Waldrop A. et al. Platelet RNA Biomarker of Ticagrelor-Responsive Genes Is Associated With Platelet Function and Cardiovascular Events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2024; 44(2): 423–34. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.123.319759>
23. Sun S., Wang W., Latchman Y., et al. Expression of plasma membrane receptor genes during megakaryocyte development. *Physiol Genomics.* 2013; 45(6): 217–27. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00056.2012>
24. Kawaguchi T., Hashimoto R., Nawa K., Yokota H. The human megakaryocytic cell line UT-7/TPO responds to platelet agonists with intracellular Ca²⁺ elevation and P-selectin expression. *Cell Biol Int.* 2011; 35(5): 537–43. <https://doi.org/10.1042/CBI20100636>
25. Di Buduo C.A., Miguel C.P., Balduini A. Inside-to-outside and back to the future of megakaryopoiesis. *Res Pract Thromb Haemost.* 2023; 7(4): 100197. <https://doi.org/10.1016/j.rpth.2023.100197>
26. Deutsch V.R., Tomer A. Megakaryocyte development and platelet production. *Br J Haematol.* 2006; 134(5): 453–66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06215.x>
27. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018; 10(8): a028456. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028456>

Сведения об авторах:

Александрова Анастасия Дмитриевна, ассистент ФГБОУ ВО Уральский медицинский университет Минздрава России; аспирант, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, e-mail: anastasia.nikanorova@yandex.ru

Антропова Ирина Петровна, ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБОУ ВО Уральский медицинский университет Минздрава России; ведущий научный сотрудник, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, e-mail: aip.hemolab@mail.ru

Хацко Сергей Леонидович, кандидат биологических наук, заведующий анатомо-физиологической экспериментальной лабораторией ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, e-mail: hardscore@mail.ru

© Коллектив авторов, 2026
УДК 615.917'2/9

Репина Э.Ф.¹, Каримов Д.Д.¹, Хуснутдинова Н.Ю.¹, Ахмадеев А.Р.¹, Гизатуллина А.А.¹, Якупова Т.Г.¹,
Хмель А.О.¹, Рябова Ю.В.¹, Каримов Д.О.^{1,2}

Патоморфологические изменения в печени экспериментальных животных и их коррекция при тиацетамид-индуцированном повреждении

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия, ул. Степана Кувыкина, д. 94

²ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко», 105064, Москва, Россия, ул. Воронцово Поле, д. 12, стр. 1

Введение. Хронические заболевания печени и осложнения, связанные с ними, приводят ежегодно более чем к двум миллионам смертей. Исследования на людях показали, что фиброз и даже цирроз печени могут быть обратимы. При наличии определенных успехов в области воздействия на процесс фиброгенеза, эффективность лечения фиброза и цирроза печени на сегодня невелика. Важным является поиск новых и эффективных способов коррекции фиброзных изменений в печени. **Цель исследования:** изучить патоморфологические изменения в печени экспериментальных животных и эффективность их коррекции при длительном воздействии тиацетамида.

Методика. Исследования проведены на 56 аутибредных конвенциональных крысах-самцах в течение 100 дней. Тиацетамид вводили внутривенно 2 раза в неделю в дозе 50 мг/кг м.т. Носителем и контрольным веществом служил физраствор. Коррекцию проводили за 1 час до токсиканта адеметионином и комплексным соединением оксиметилурацила с ацетилцистеином. На сроках 50 и 100 дней изучены морфологические показатели печени. Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 21.0 (IBM, США).

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что тиацетамид в дозе 50 мг/кг м.т. через 100 дней вызывает заметное повреждение печени у лабораторных животных, которое проявлялось в виде смешанного цирроза, гидropической дистрофии и некроза гепатоцитов. Анализ морфометрических показателей показал, что при воздействии тиацетамида на обоих сроках эксперимента площадь ядер гепатоцитов увеличивается, а площадь цитоплазмы – уменьшается, происходит увеличение ядерно-плазматического отношения. При профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином разрастания фиброзной ткани в печени и инфильтрация ее лейкоцитами визуализировались в меньшей степени, что нашло подтверждение в морфометрических результатах.

Заключение. Тиацетамид при длительном введении в дозе 50 мг/кг м.т. вызывает гепатотоксическое действие, проявляющееся в патологических изменениях в ткани печени. Профилактическое введение комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином оказывает некоторое гепатопротекторное и антифиброзное действие.

Ключевые слова: тиацетамид; крысы; длительное воздействие; печень; морфология; фиброз; коррекция

Для цитирования: Репина Э.Ф., Каримов Д.Д., Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р., Гизатуллина А.А., Якупова Т.Г., Хмель А.О., Рябова Ю.В., Каримов Д.О. Патоморфологические изменения в печени экспериментальных животных и их коррекция при тиацетамид-индуцированном повреждении. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 123–133.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.123-133

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, написание текста – Репина Э.Ф.; концепция и дизайн исследования, редактирование – Каримов Д.О., Рябова Ю.В.; сбор и обработка материала – Каримов Д.Д., Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р., Гизатуллина А.А., Якупова Т.Г.; подготовка иллюстративного материала – Хмель А.О. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Репина Эльвира Фаридовна, e-mail: e.f.repina@bk.ru

Финансирование. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания по отраслевой научно-исследовательской программе Роспотребнадзора «Научное обоснование национальной системы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия, управления рисками здоровью и повышения качества жизни населения России» на 2021–2025 гг. п. 6.1.8, № гос. регистрации 121062100058-8.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.04.2025

Принята к печати 05.08.2025

Опубликована 27.03.2026

Repina E.F.¹, Karimov D.D.¹, Khusnutdinova N.Yu.¹, Akhmadeev A.R.¹, Gizatullina A.A.¹, Yakupova T.G.¹, Khmel A.O.¹, Ryabova Yu.V.¹, Karimov D.O.^{1,2}

Pathomorphological changes in the liver of experimental animals and their correction in thioacetamide-induced damage

¹Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, 94, Kuvykina st., Ufa, 450106, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

²The Semashko National Research Institute of Public Health, 12 Vorontsovo Pole st., Bld. 1, Moscow, 105064, Russian Federation

Introduction. Chronic liver diseases and their complications cause to more than two million deaths per one year. Fibrosis and even liver cirrhosis can be reversible, as shown in human studies. Fibrosis and cirrhosis treatment success is currently standing low despite certain successes in the field of influencing the process of fibrogenesis. Finding new and effective ways to correct fibrotic changes in the liver is important task today. **The aim of study:** Pathomorphological changes research in the liver of experimental animals and the treatment success of long-term exposure to thioacetamide.

Methods. The studies were conducted using 56 outbred conventional male rats for 100 days. Thioacetamide was made on saline and was administered intraperitoneally 2 times per week in dose of 50 mg/kg b.w. Saline served as control substance too. Correction had been performed 1 hour before the toxicant administration using ademetionine and a complex compound of oxymethyluracil with acetylcysteine. At the stages of 50 and 100 days, the morphological indices of the liver were studied. Statistical analysis was performed by using the SPSS Statistics 21.0 software (IBM, USA).

Results. As a result of the studies, was established that thioacetamide in dose of 50 mg/kg b.w. after 100 days causes noticeable damage to liver in laboratory animals, which had been manifested itself as mixed cirrhosis, hydropic dystrophy and necrosis of hepatocytes. Analysis of morphometric indices showed that the area of the nuclei of hepatocytes increases, and the area of the cytoplasm decreases. There is increasing in the nuclear-plasmic ratio at both stages of thioacetamide administration. The growth of fibrous tissue in the liver and its infiltration with leukocytes were visualized to a lesser extent after preventive administration of the complex compound of oxymethyluracil with acetylcysteine.

Conclusion. Thioacetamide administration for a long time in dose of 50 mg/kg b.w., caused a hepatotoxic effect, manifested in pathological changes in the liver tissue. Preventive treatment using the complex compound of oxymethyluracil with acetylcysteine had some hepatoprotective and antifibrotic effect.

Keywords: thioacetamide; rats; long-term exposure; liver; morphology; fibrosis; correction

For citation: Repina E.F., Karimov D.D., Khusnutdinova N.Yu., Akhmadeev A.R., Gizatullina A.A., Yakupova T.G., Khmel A.O., Ryabova Yu.V., Karimov D.O. Pathomorphological changes in the liver of experimental animals and their correction in thioacetamide-induced damage. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 123–133. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.123-133

Authors' contribution: the concept and design of the study, writing the text – Repina E.F.; the concept and design of the study, editing the text – Karimov D.O., Ryabova Yu.V.; collection and processing of material – Karimov D.D., Khusnutdinova N.Yu., Akhmadeev A.R., Gizatullina A.A., Yakupova T.G.; preparation of illustrative material – Khmel A.O. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Elvira F. Repina*, Cand. Sc. (Medicine), Senior researcher, Toxicology laboratory, Department of Toxicology and Genetics with the Experimental Clinic of Laboratory Animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, e-mail: e.f.repina@bk.ru

Information about the authors:

Repina E.F., <https://orcid.org/0000-0001-8798-0846>

Karimov D.D., <https://orcid.org/0000-0002-1962-2323>

Khusnutdinova N.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-5596-8180>

Gizatullina A.A., <https://orcid.org/0000-0002-7321-0864>

Yakupova T.G., <https://orcid.org/0000-0002-1236-8246>

Ryabova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479>

Karimov D.O., <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>

Financing. The work was carried out as part of the state assignment for the industry research program of Rospotrebnadzor "Scientific substantiation of the national system for ensuring sanitary and epidemiological welfare, health risk management and improving the quality of life of the Russian population" for 2021–2025. p. 6.1.8, state. No. registration 121062100058-8.

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

Received 02.04.2025

Accepted 05.08.2025

Published 27.03.2026

Введение

В настоящее время более 2 миллиардов человек в мире страдают различными, в том числе и неинфекционными, заболеваниями печени [1–3]. Во многом это обусловлено тем, что большинство химических веществ, воздействующих на организм, являются гепатотоксикантами [4, 5]. Хронические заболевания печени и осложнения, связанные с ними, приводят ежегодно более чем к двум миллионам смертей. В странах с доходом ниже среднего одной из основных причин смерти является цирроз печени [6, 7]. Около 45% всех смертей в западных странах связывают также с фиброзом печени [8].

Тиоацетамид (далее – ТАА) является искусственно созданным веществом, которое получают путем нагревания ацетата аммония и сульфида алюминия [6, 7]. Токсичные свойства тиоацетамида известны давно. Так, еще в 1987 году он был внесен в перечень веществ, возможно канцерогенных для человека (категория 2B) [8]. ТАА является модельным токсикантом для воспроизведения в эксперименте острых и хронических поражений печени [9]. Имеются данные, что ТАА вызывает у лабораторных животных дозозависимый характер повреждения печени, близкий к проявлению фиброзных и цирротических изменений в печени у человека [10]. Исследования на людях показали, что фиброз и даже цирроз могут быть обратимы, особенно если основное заболевание искоренено. Важным является установление неинвазивных способов оценки стадии и прогрессирования фиброза для выработки тактики эффективной антифиброзной терапии [11] и поиск эффективных способов коррекции возникших нарушений здоровья [12–14]. Однако, при наличии определенных успехов в области воздействия на процесс фиброгенеза [15, 16], эффективность лечения фиброза и цирроза печени на сегодня невелика. По мнению некоторых авторов, механизм повреждения печени ТАА достаточно сложный и пока далек от полного понимания [17–19].

Цель исследования: изучить патоморфологические изменения в печени экспериментальных животных и эффективность их коррекции при длительном воздействии тиоацетамида.

Методика

Исследования проведены на 56 аутбредных конвенциональных крысах-самцах возрастом 10–12 недель на начало работы и начальным весом 170–190 г. Крыс содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом режиме и температуре 21–26°C. Животные были распределены по 14 особей в 4 группы: I группа слу-

жила отрицательным контролем, животным вводили внутрижелудочно (в/ж) эквивалентный объем физраствора; II группа – положительный контроль (введение раствора ТАА в разовой дозе 50 мг/кг м.т. [20] внутривентриально 2 раза в неделю); III группа – ТАА в той же дозе + в/ж Адemetионин («Самеликс», производитель ООО Фирма «Фермент», Россия) в разовой дозе, рекомендованной производителем, - 25 мг/кг м.т. за 1 час до ТАА; IV группа – ТАА в той же дозе + в/ж препарат МГ-10 (комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с ацетилцистеином) в разовой дозе 500 мг/кг м.т. за 1 час до ТАА. Доза соединения МГ-10 была выбрана как самая эффективная по его антигипоксическим свойствам [21]. Выбор адemetионина в качестве препарата сравнения обусловлен его гепатопротекторными, в том числе антифиброзирующими, свойствами [22]. В качестве контрольного вещества и носителя использовали физиологический раствор.

Условия проведения и вывода животных из эксперимента осуществляли с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Патоморфологические исследования были проведены через 50 и через 100 дней от начала эксперимента после эвтаназии с помощью углекислого газа и последующей декапитации по 7 животных из каждой группы на обоих сроках. Оценен внешний вид печени, определены коэффициенты ее относительной массы. Ткани печени для гистологического исследования были фиксированы в 10% нейтрально забуференном формалине, затем их подвергали стандартной гистологической проводке. Из залитой парафином ткани на ротационном микротоме «Leica RM 2125 RTS» («Leica Biosystems», Германия) готовили срезы толщиной 5–7 микрон. Препараты окрашивали гематоксилином-эозином и помещали в среду для закаливания препаратов Limonen mounting medium, затем визуализировали с помощью имиджинговой системы Celena X («Logos Biosystems», Южная Корея) с увеличением $\times 200$. Морфометрический анализ паренхимы печени крыс проводили с помощью открытого программного обеспечения QuPath-0.5.1. По полям зрения осуществляли расчет площади ядер и цитоплазмы на 50 клеток, ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) и площади разрастания соединительной ткани. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 21.0 (IBM, США). В качестве критерия нормальности распределения признаков в изучаемых группах использовали критерий Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении данных для оценки значимости различий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и апосте-

приорные критерии Тьюки и Тамхейна. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Через 50 дней эксперимента при визуальном осмотре печени крыс контрольной группы, проведенном на этапе препарирования, определялась ее типичная анатомическая форма и размеры. Поверхность печени была гладкая, блестящая, темно-красного цвета, консистенция – плотная, эластичная. При осмотре печени крыс экспериментальных групп были замечены отклонения от анатомической нормы разной степени. Печень имела неравномерный цвет от красного до темно-коричневого; ее консистенция была более плотной, чем у крыс группы отрицательного контроля. На поверхностях и на срезах органа были видны неравномерные мелкозернистые узлы диаметром до 3 мм.

Сравнение весовых коэффициентов печени показало, что через 50 дней они находились практически на одном уровне ($p = 0,095$) в первых трех группах (рис. 1, А).

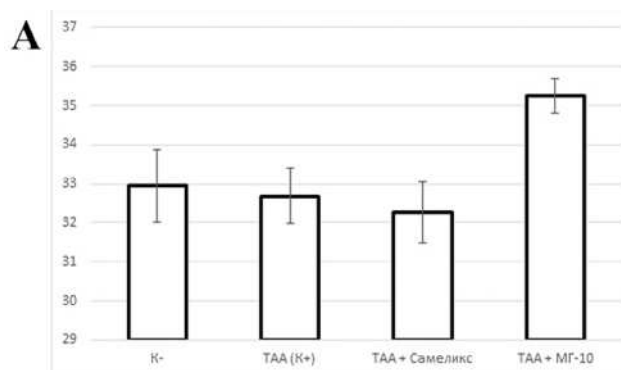


Рис. 1. Весовые коэффициенты относительной массы печени крыс: А – через 50 дней эксперимента; В – через 100 дней эксперимента.

Fig. 1. Weight coefficients of the relative mass of rat liver: A – after 50 days of the experiment; B – after 100 days of the experiment.

В группе отрицательного контроля он составил $32,94 \pm 0,93$ мг/г, в группе положительного контроля – $32,68 \pm 0,71$ мг/г, в третьей группе – $32,27 \pm 0,78$ мг/г. Исключение составил усредненный показатель в 4 группе ($35,26 \pm 0,44$ мг/г), где он статистически значимо ($p = 0,008$) был выше, чем во второй и третьей группах.

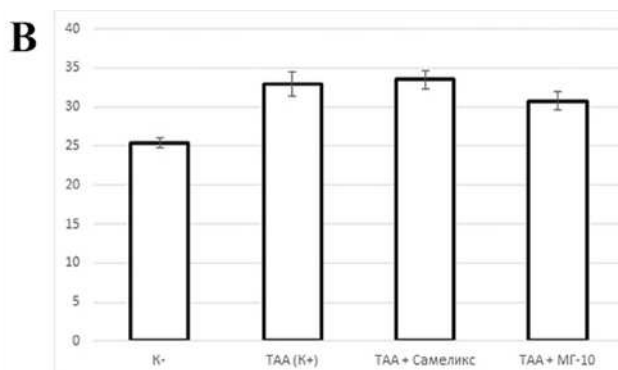
При внешнем осмотре печени крыс через 100 дней в группе отрицательного контроля не было выявлено каких-либо патологических изменений. Печень крыс группы положительного контроля имела неравномерную пеструю окраску. Узелковые разрастания были более выраженными, чем на сроке 50 дней. Изменения печени

крыс, подвергшихся воздействию ТАА на фоне и без коррекции, имели разную степень выраженности.

Среднее значение весового коэффициента относительной массы печени более сильно различалось между группами, чем на сроке 50 дней. Максимальные значения показателя наблюдались во второй ($32,93 \pm 1,64$ мг/г) и третьей ($33,47 \pm 1,14$ мг/г) группах, полученные различия были статистически значимыми ($p < 0,001$). Наименьший уровень показателя печени был зарегистрирован в группе К-, составив $25,38 \pm 0,56$ мг/г (рис. 1. В).

В группе ТАА + МГ-10 средний коэффициент веса печени составил $30,75 \pm 1,17$ мг/г, что также статистически значимо выше по сравнению с группой К- ($p < 0,001$). Вместе с тем, необходимо отметить, что в группе ТАА + МГ-10 показатель был ниже, чем во 2 и 3 группах.

Исследование гистологических срезов печени крыс I группы через 50 дней эксперимента показало, что структура паренхимы органа соответствовала норме. Наблюдалось балочно-радиальное расположение гепатоцитов, минимальное количество соединительной ткани, а также четкие границы порталных трактов и желчных про-



токов. Гепатоциты радиально расходились от центральной вены (рис. 2А).

В печени крыс II группы в середине эксперимента наблюдались структурные изменения в виде нарушения расположения гепатоцитов. В паренхиме печени встречались ложные дольки различной величины. Печеночные балки были практически неразличимы. Участки паренхимы были разделены широкими полями разрастания соединительной ткани, в которых определялись сближенные триады и лимфогистиоцитарные инфильтраты (рис. 2В). В ложных дольках наблюдалось отсутствие балочного строения. Встречались измененные гепатоциты разного размера, с двумя и более ядрами. Также были обнаруже-

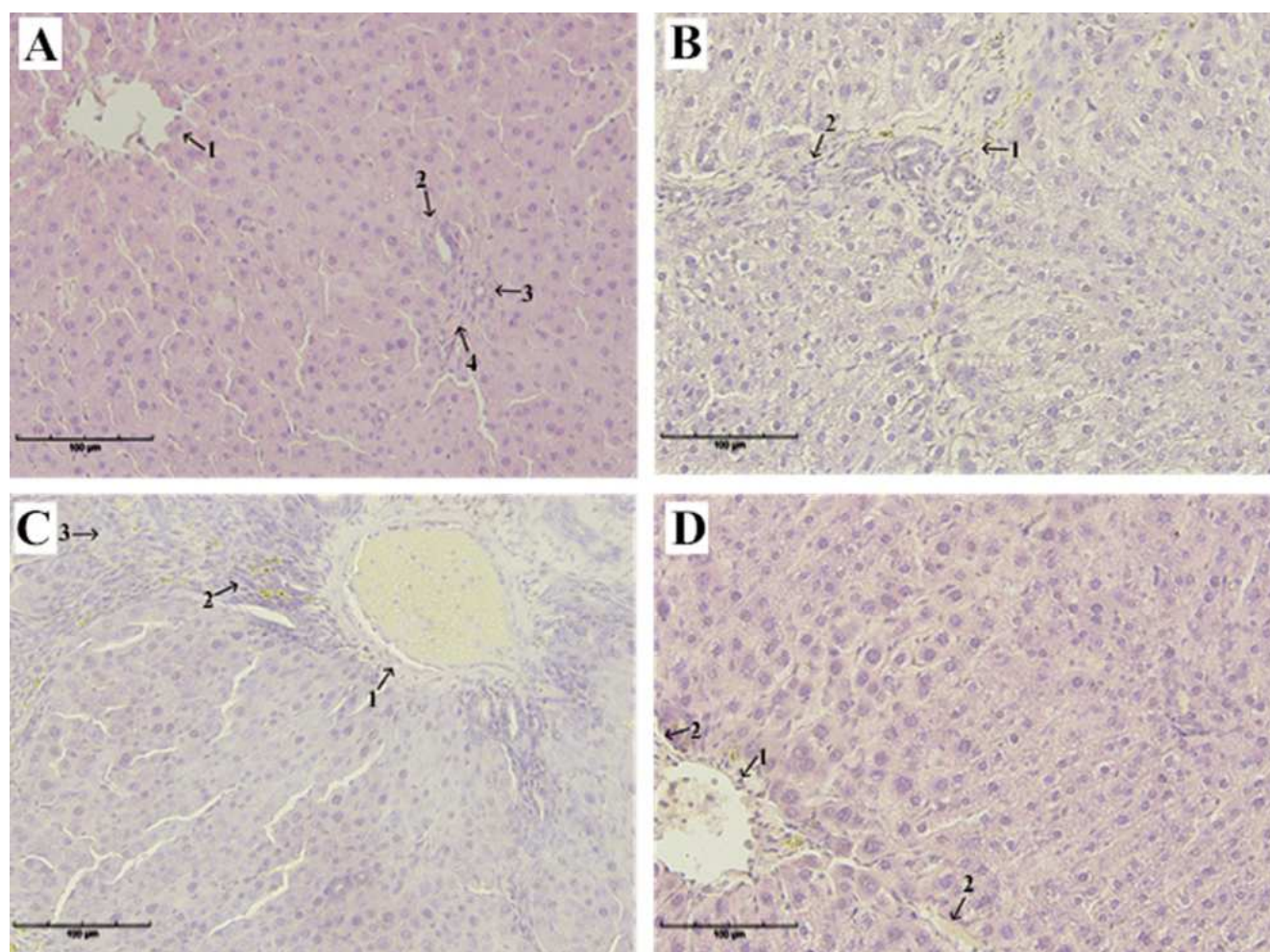


Рис. 2. А – Печень крысы I группы через 50 дней эксперимента. Трабекулы гепатоцитов расположены радиально вокруг центральных вен (1). Желчный проток (2), междольковая вена (3) и артерия (4) находятся в составе печеночной триады. Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200. В – Печень крысы II группы через 50 дней эксперимента. Участки разрастания фиброзной ткани (1) и лимфогистиоцитарные инфильтраты (2). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200. С – Печень крысы III группы через 50 дней эксперимента. Сильное кровенаполнение междольковой вены (1), густая инфильтрация ткани лимфогистиоцитарными клетками (2) и разрастание соединительной ткани (3). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200. D – Печень крысы IV группы через 50 дней эксперимента. Центральная вена печени (1) и соединительнотканые тяжи (2). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200.

Fig. 2. A – Liver of the rat of group I after 50 days of the experiment. Trabeculae of hepatocytes are located radially around the central veins (1). The bile duct (2), interlobular vein (3) and artery (4) are part of the hepatic triad. Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200. B – Liver of the rat of group II after 50 days of the experiment. Areas of fibrous tissue proliferation (1) and lymphohistiocytic infiltrates (2). Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200. C – Liver of the rat of group III after 50 days of the experiment. Strong blood filling of the interlobular vein (1), dense tissue infiltration with lymphohistiocytic cells (2) and proliferation of connective tissue (3). Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200. D – Liver of a rat from group IV after 50 days of the experiment. Central vein of the liver (1) and connective tissue strands (2). Hematoxylin and eosin staining. Magnification: X200.

ны гепатоциты с явлениями кариорексиса и кариолизиса, характерные для некроза клеток. Выявлены изменения, свидетельствующие о гидропической дистрофии гепатоцитов: в поле зрения встречались клетки, резко увеличенные в размере, в ядрах которых определялся пикноз.

В структуре печени крыс III группы на этом сроке исследования были выявлены нарушения в строении пе-

ченочных балок. Наблюдалось разрастание междольковой соединительной ткани и инфильтрация густо расположенными лимфогистиоцитарными клетками. Дольки печени были неодинаковой величины, границы гепатоцитов были трудно различимы (**рис. 2 С**).

На гистологических препаратах печени крыс IV группы центральная вена имела слабое кровенаполнение, на-

блюдались тонкие тяжи соединительной ткани, соединяющие центрлобулярные участки с портальными полями. Границы гепатоцитов были плохо различимы (**рис. 2D**). При детальном осмотре портальных трактов печени визуализировались умеренно наполненные междольковые вены с небольшим количеством лейкоцитов в просвете, в желчном протоке отсутствовало содержимое. Рядом с «триадой» располагался участок, инфильтрированный лимфогистиоцитарными клетками. Радиально-балочная структура органа была нарушена, однако границы между гепатоцитами были более различимы, чем в других экспериментальных группах. Явления кариорексиса и кариолизиса сохранялись.

Через 100 дней эксперимента структура паренхимы печени крыс I группы соответствовала норме: наблюдалось балочно-радиальное расположение гепатоцитов, небольшое количество соединительной ткани и четко выраженные границы портальных трактов и желчных протоков (**рис. 3A**). Не было обнаружено нарушений в реологии крови, дефектов ткани, кровоизлияний, воспалительных инфильтратов или очагов разрастания атипичной ткани.

Во II группе крыс на этом сроке эксперимента в печени были обнаружены структурные изменения, выражавшиеся в нарушении порядка расположения гепатоцитов. Выявлялись ложные дольки различного размера, разделенные соединительнотканнми разрастаниями (**рис. 3B**). В ложных дольках границы между клетками были трудноразличимы. Измененные гепатоциты были разного размера, с двумя или более ядрами. Также встречались гепатоциты с признаками кариопикноза и кариолизиса, что свидетельствует о развитии некротических процессов в клетках.

На фоне профилактического введения адеметионина (III группа крыс) через 100 дней были обнаружены изменения в строении печеночных балок. В местах повреждения печеночной паренхимы наблюдалось разрастание фиброзной ткани, границы гепатоцитов были трудноразличимы. Междольковая соединительная ткань была утолщена и густо инфильтрирована клетками лимфогистиоцитарного типа (**рис. 3C**).

Через 100 дней эксперимента в гистологических препаратах печени крыс IV группы центральная вена имела слабое кровенаполнение, наблюдались более тонкие тяжи соединительной ткани, соединяющие центрлобулярные участки с портальными полями. Границы гепатоцитов местами были слаборазличимы, однако балочное расположение гепатоцитов визуализировалось лучше по сравнению с предыдущими группами (**рис. 3D**).

В группе, получавшей ТАА на фоне адеметионина, дегенеративные процессы печени были визуально более выражены, чем в группе, где применялся препарат МГ-10. При профилактическом введении препарата МГ-10 разрастания фиброзной ткани и инфильтрация лейкоцитами визуализировались в меньшей степени, границы клеток были более выражены, хотя балочная структура и была нарушена.

В **таблице 1** приведены данные морфометрических исследований через 50 дней эксперимента. Приведенные данные свидетельствуют, что при воздействии ТАА через 50 дней эксперимента площадь ядер гепатоцитов статистически значимо увеличивается, а площадь цитоплазмы – уменьшается. Соответственно, происходит увеличение ядерно-плазматического отношения (ЯЦО), отражающего функциональное состояние клетки.

Между экспериментальными группами крыс, получавших ТАА, не установлено статистически значимых различий. Следовательно, корректирующие препараты не оказывают значимого влияния на данные показатели.

К концу эксперимента (**табл. 2**) наблюдалась аналогичная картина, за исключением площади цитоплазмы в четвертой группе, где данный показатель меньше отличался от группы отрицательного контроля.

Более заметное влияние корректирующих препаратов было установлено по площади разрастания соединительной ткани (μm^2) в ткани печени под воздействием ТАА. И если на сроке 50 дней различия между группами коррекции и группой положительного контроля не достигли статистической значимости (**рис. 4A**), то к концу эксперимента различия по данному показателю оказались более существенными и статистически значимыми (**рис. 4B**).

Обсуждение

Роль печени в процессе метаболизма в организме очень значима. Любые серьезные ее повреждения могут представлять даже потенциальную опасность для жизни. Проведенные исследования показали, что ТАА в невысокой дозе (50 мг/кг м.т.) через 100 дней вызывает заметное повреждение печени у лабораторных животных, которое проявлялось в виде смешанного (постнекротического и атрофического) цирроза, гидропического дистрофии и некроза гепатоцитов, дезорганизации строения долек соединительнотканнми тяжами, узлового разрастания паренхимы. Патологические изменения в ткани печени имели тенденцию к хронизации: наблюдалось разрастание соединительнотканнми тяжей в зрелой форме с большим количеством фибробластов и коллагеновых волокон, меньшим – лимфоидных и плазматических клеток.

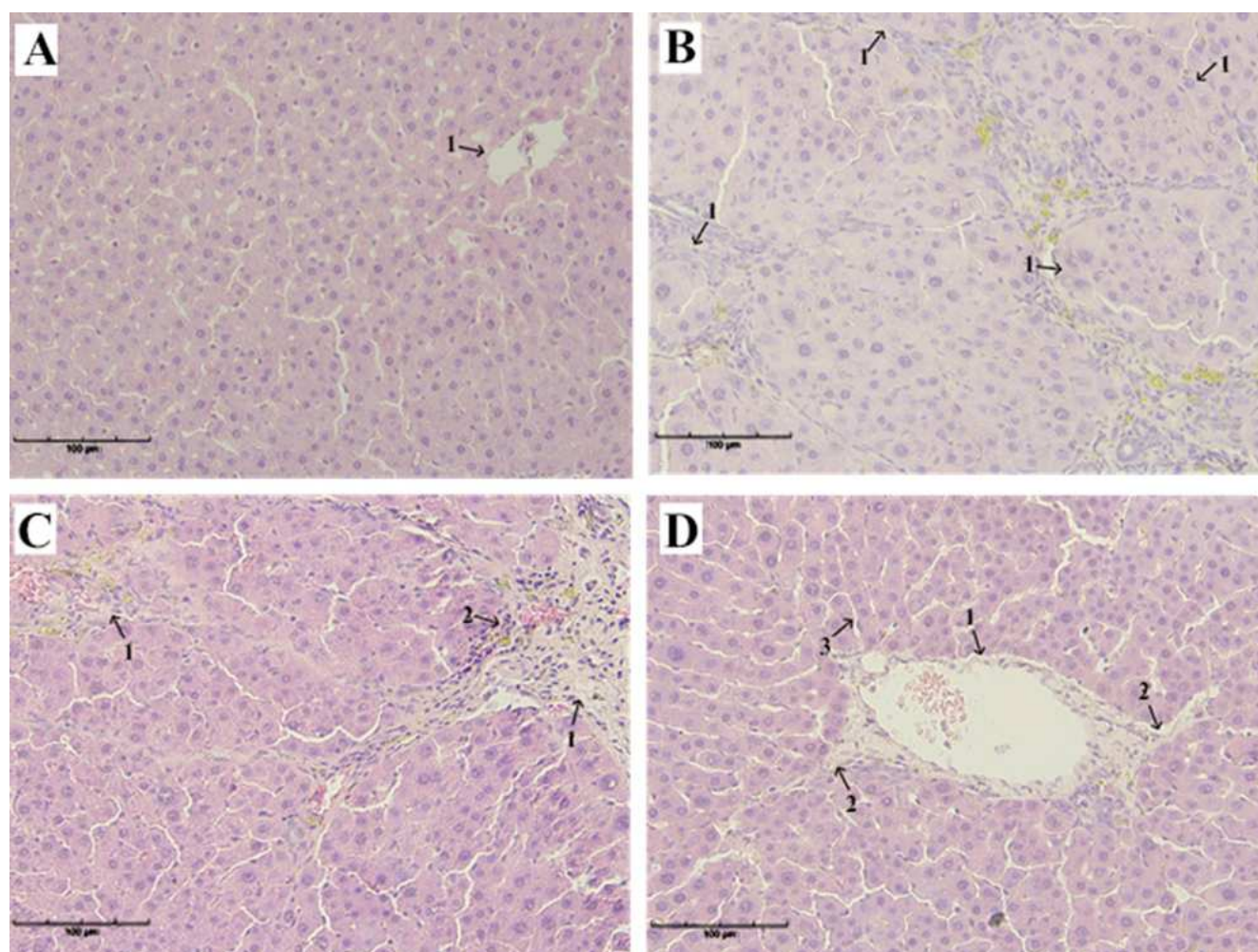


Рис. 3. А – Печень крысы I группы через 100 дней эксперимента. Трабекулы гепатоцитов расположены радиально вокруг центральных вен (1). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200. В – Печень крысы II группы через 100 дней эксперимента. Ложные дольки в паренхиме печени (1). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200. С – Печень крысы III группы через 100 дней эксперимента. Разрастание соединительной ткани (1) с инфильтрацией лимфогистиоцитарными клетками (2). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200. D – Печень крысы IV группы через 100 дней эксперимента. Центральная вена (1) с отходящими от нее тонкими тяжами соединительной ткани (2) и сохранившие балочное расположение гепатоциты (3). Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X200.

Fig. 3. A – Liver of the rat of group I after 100 days of the experiment. Trabeculae of hepatocytes are located radially around the central veins (1). Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200. B – Liver of the rat of group II after 100 days of the experiment. False lobules in the liver parenchyma (1). Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200. C – Liver of the rat of group III after 100 days of the experiment. Proliferation of connective tissue (1) with infiltration by lymphohistiocytic cells (2). Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200. D – Liver of the rat of group IV after 100 days of the experiment. Central vein (1) with thin strands of connective tissue extending from it (2) and hepatocytes that have retained the beam arrangement (3). Hematoxylin and eosin staining. Magnification X200.

Изучение весового коэффициента относительной массы печени показало, что в конечной точке эксперимента он значительно повысился по сравнению с контролем. Некоторые авторы указывают, что при цирротическом поражении печени ее размеры могут быть увеличенными, нормальными или уменьшенными [23]. Вероятно, сроки 50 и 100 дней для формирования фиброзных изменений являются ранними. На поздних сроках фиброз-

ного процесса печень, как правило, уменьшается в размерах [24].

Морфометрические исследования подтвердили прогрессирование патологических процессов в печени к концу эксперимента. Увеличилось ЯЦО, что может быть связано с компенсаторными процессами в клетке, такими как активация синтеза ДНК и РНК в ответ на повреждение, что приводит к увеличению размера ядра [25]. Кроме то-

Таблица 1 / Table 1

Морфометрические показатели печени крыс через 50 дней эксперимента
Morphometric indices of rat liver after 50 days of the experiment

Группы Groups	Площадь ядра гепатоцита, μm^2 / Hepatocyte nuclear area, μm^2	Площадь цитоплазмы, μm^2 / Cytoplasm area, μm^2	Ядерно-цитоплазматическое отношение, % / Nuclear-cytoplasmic ratio, %
К-	31,51 $\pm$ 0,86	246,69 $\pm$ 6,28	13,00
К+	36,35 $\pm$ 1,28*	217,21 $\pm$ 6,74*	16,00
ТАА+Адеметионин TAA + Ademetionine	42,13 $\pm$ 1,42*	217,08 $\pm$ 8,00*	19,00
ТАА+МГ-10 TAA+MG-10	44,52 $\pm$ 1,72*	229,58 $\pm$ 7,17*	19,00

Примечание. * статистически значимые различия с группой отрицательного контроля.

Note. * statistically significant differences with the negative control group.

Таблица 2 / Table 2

Морфометрические показатели печени крыс через 100 дней эксперимента
Morphometric indices of rat liver after 100 days of the experiment

Группы / Groups	Площадь ядра гепатоцита, μm^2 / Hepatocyte nuclear area, μm^2	Площадь цитоплазмы, μm^2 / Cytoplasm area, μm^2	Ядерно-цитоплазматическое отношение, % / Nuclear-cytoplasmic ratio, %
К-	29,15 $\pm$ 0,55	179,75 $\pm$ 3,22	16,00
К+	43,03 $\pm$ 1,73*	215,84 $\pm$ 7,84*	20,00
ТАА+Адеметионин TAA + Ademetionine	41,61 $\pm$ 2,28*	227,14 $\pm$ 9,60*	18,00
ТАА+МГ-10 TAA+MG-10	41,05 $\pm$ 2,29*	198,13 $\pm$ 9,05	20,00

Примечание. * статистически значимые различия с группой отрицательного контроля.

Note. * statistically significant differences with the negative control group.

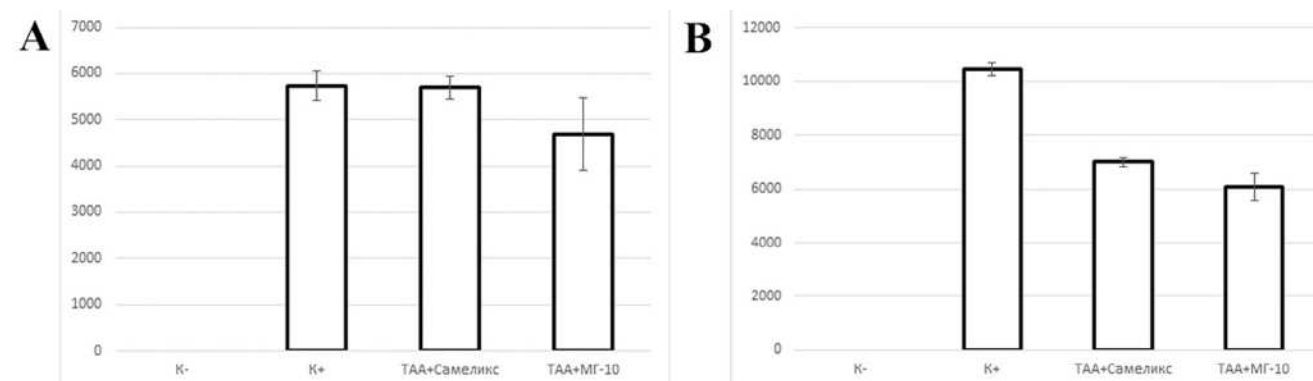


Рис. 4. Площадь разрастания соединительной ткани (μm^2) в печени крыс: А – через 50 дней эксперимента; В – через 100 дней эксперимента.

Fig. 4. The area of connective tissue proliferation (μm^2) in the liver of rats: А – after 50 days of the experiment; В – after 100 days of the experiment.

го, установлен значимый рост площади разрастания соединительной ткани.

При введении крысам ТАА защитное действие на печень по морфологическим показателям, по сравнению с адеметионином, больше выражено у препарата МГ-10. В патогенезе гепатотоксических изменений, индуцированных ТАА, существенную роль, по-видимому, играет гипоксия. Хроническое токсическое поражение печени нередко сопровождается снижением снабжения тканей кислородом и нарушением окислительного фосфорилирования, что усиливает гибель гепатоцитов и препятствует их регенерации, поскольку для восстановления клеточных структур требуется адекватный уровень оксигенации. Кроме того, формирование фиброзных изменений при гепатотоксическом воздействии зачастую связано с ухудшением кровоснабжения, которое дополнительно усугубляет дефицит кислорода и стимулирует избыточное разрастание соединительной ткани. Препарат МГ-10, обладающий выраженными антигипоксическими свойствами [21], вероятно, способствует более активному поддержанию аэробного метаболизма в гепатоцитах даже в условиях токсического стресса, что может замедлять прогрессирование фиброзных процессов. При этом серосодержащая природа обоих корректирующих препаратов (адеметионина и МГ-10) способствует синтезу глутатиона, повышающего устойчивость клеток к свободнорадикальному повреждению, возникающему

при гипоксии. Следует предположить, что при ТАА-индуцированном повреждении печени наибольший защитный эффект проявляется при сочетании препаратов с антигипоксическими и антиоксидантными свойствами.

Ограничения исследования заключаются в том, что они носили предварительный поисковый характер. Для более полной оценки гепатопротекторного действия и антифиброзной активности нового комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином необходимо продолжить исследования, сопоставляя полученные результаты с другими показателями токсического действия ТАА.

Заключение

Тиацетамид при длительном введении в дозе 50 мг/кг м.т. вызывает гепатотоксическое действие, проявляющееся в патологических изменениях в ткани печени. Профилактическое введение комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином оказывает некоторое гепатопротекторное и антифиброзное действие.

Благодарность. Авторы выражают благодарность кандидату химических наук, старшему научному сотруднику лаборатории фармакофорных циклических систем «Уфимского Института химии УФИЦ РАН» Гимадиевой Альфии Раисовне за синтез комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином и оказание содействия в проведении исследований.

Литература

(п.п. 6–8; 10–12; 15; 17–20; 23; 24 см. References)

- Остапенко Ю.Н., Литвинов Н.Н., Рожков П.Г. и др. Проблемы стандартизации стационарной медицинской помощи в клинической токсикологии. *Анестезиология и реаниматология*. 2008; 6: 11–5.
- Онищенко Г.Г. Актуальные вопросы химической и биологической безопасности. Современные проблемы гигиенической науки и медицины труда: Сборник Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Уфа, 2010: 17–9.
- Рыжов В.М., Шаповалова В.П., Рудоманова И.В. и др. Гепатобилиарная система у работающих с гепатотропными химическими веществами. *Медицина труда и промышленная экология*. 2004; 8: 41–4.
- Вышкаталюк А.Б., Семенов В.Э., Зобов В.В. и др. Синтез и первичная оценка гепатопротекторных свойств новых производных пиримидинового ряда. *Биоорганическая химия*. 2017; 43(5): 572–80. <https://doi.org/10.7868/S0132342317040170> EDN: ZFQYQX
- Кудояров Э.Р., Галимова Р.Р., Бакиров А.Б. Условия труда и токсическое повреждение печени в нефтехимическом производстве (обзор литературы). *Медицина труда и экология человека*. 2023; 2: 6–19. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2023-10201> EDN: DXFAQL
- Новгородская Я.И., Островская О.Б., Кравчук Р.И. и др. Способ моделирования экспериментального тиацетамидного поражения печени у крыс. *Гепатология и гастроэнтерология*. 2020; 4(1): 90–5. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-1-90-95> EDN: ZWHCJQ
- Кондратович И.А., Андреев В.П., Кравчук Р.И. и др. Влияние ретинола на развитие тиацетамид-индуцированного фиброза у крыс. *Вестник ВГМУ*. 2021; 20(6): 23–34. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2021.6.23> EDN: MBODGU
- Дергачева Д.И., Кляйн О.И., Мариничев А.А. и др. Гепатопротекторное действие полифенолов при экспериментальной токсической патологии печени, вызванной тиацетамидом. *Вестник РГМУ*. 2019; 6: 6–82. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2019.075>
- Могилевец Э. В., Гарелик П. В., Батвинков Н. И. Методы стимуляции регенерации при циррозе печени. *Новости хирургии*. 2013; 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/metody-stimulyatsii-regeneratsii-pri-tsirroze-pecheni> (дата обращения: 11.03.2026).
- Репина Э.Ф., Бакиров А.Б., Гимадиева А.Р., Каримов Д.О., Кудояров Э.Р., Тимашева. Г.В. и др. Оценка антигипоксических свойств комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином на модели гистотоксической гипоксии. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(9): 1098–02. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-9-1098-1102>

22. Яковенко Э.П., Яковенко А.В., Иванов А.Н., Агафонова Н.А., Прянишникова А.С., Каграманова А.В. Патогенетические подходы к лечению хронических заболеваний печени с внутрипеченочным холестазом. *Фарматека*. 2009; 8(182): 26–32.
25. Ващекин Е.П., Минченко В.Н., Костюковский П.В., Родина И.В. Морфофункциональное состояние печени и почек быч-

ков при скормливании им зерна узколистного люпина. *Вестник ФГОУ ВПО Брянская ГСХА*. 2008; 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfofunktsionalnoe-sostoyanie-pecheni-i-pochek-bychkov-pri-skarmlivanii-im-zerna-uzkolistnogo-lyupina> (дата обращения: 11.03.2025).

References

1. Ostapenko Yu.N., Litvinov N.N., Rozhkov P.G., et al. Problems of standardization of inpatient medical care in clinical toxicology. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2008; 6: 11–5. (In Russian)
2. Onishchenko G.G. Current issues of chemical and biological safety. [Sovremennye problemy gigienicheskoy nauki i meditsiny truda: Sbornik Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem]. Ufa, 2010: 17–9. (In Russian)
3. Ryzhov V.M., Shapovalova V.P., Rudomanova I.V. et al. Hepatobiliary system in workers with hepatotropic chemicals. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2004; 8: 41–4. (In Russian)
4. Vyshkatalyuk A.B., Semenov V.E., Zobov V.V. et al. Synthesis and initial evaluation of hepatoprotective properties of new pyrimidine derivatives. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2017; 43(5): 572–80. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0132342317040170> EDN: ZFQYQX
5. Kudoyarov E.R., Galimova R.R., Bakirov A.B. Features of the impact of harmful chemicals on the hepatobiliary system of workers in petrochemical production (literature review). *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2023; 2: 6–19. (in Russian). <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2023-10201> EDN: DXFAQL
6. Rowe I.A. Lessons from epidemiology: the burden of liver disease. *Dig Dis*. 2017; 35: 304–9. <https://doi.org/10.1159/000456580> EDN: YFCBVN
7. Mokdad A.A., Lopez A.D., Shahraz S., Lozano R., Mokdad A.H., Stanaway J., et al. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med*. 2014; 12: 145. <https://doi.org/10.1186/s12916-014-0145-y> EDN: USAMGN
8. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*. 2008; 214: 199–210. <https://doi.org/10.1002/path.2277>
9. Novogrodskaya YA.I., Ostrovskaya O.B., Kravchuk R.I., Doroshenko E.M., Gulyaj I.E., Aleshchik A.Yu. et al. Method for modeling experimental thioacetamide liver damage in rats. *Gepatologiya i gastroenterologiya*. 2020; 4(1): 90–5. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-1-90-95> EDN: ZWHCJQ
10. Al-Bader A., Mathew T.C., Abul H. et al. Cholangiocarcinoma and liver cirrhosis in relation to changes due to thioacetamide. *Mol Cell Biochem*. 2000; 208(1–2): 1–9. <https://doi.org/10.1023/A:1007082515548>
11. Friedman S.L. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2004; 1: 98–105. <https://doi.org/10.1038/ncpgasthep0055>
12. Ali S., Ansari K.A., Jafry M.A. et al. Nardostachys jatamansi protects against liver damage induced by thioacetamide in rats. *J Ethnopharmacol*. 2000; 71(3): 359–63. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00153-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00153-1)
13. Kondratovich I.A., Andreev V.P., Kravchuk R.I. et al. The effect of retinol on the development of thioacetamide-induced fibrosis in rats. *Vestnik VGMU*. 2021; 20(6): 23–34. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2021.6.23> EDN: MBODGU
14. Dergacheva D.I., Klyajin O.I., Marinichev A.A. et al. Hepatoprotective effect of polyphenols in experimental toxic liver pathology caused by thioacetamide. *Vestnik RGMU*. 2019; 6: 76–82. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2019.075>
15. Schuppan D. Liver fibrosis: Common mechanisms and antifibrotic therapies. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol*. 2015; 39(Suppl 1): S51–9. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2015.05.005>
16. Mogilevets E.V., Garelik P.V., Batvinkov N.I. Methods of stimulating regeneration in liver cirrhosis. *Novosti hirurgii*. 2013; URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/metody-stimulyatsii-regeneratsii-pri-tsirroze-pecheni> (date accessed: 11.03.2026). EDN: QBNCLV
17. Wallace M.C., Hamesch K., Lunova M., Kim Y., Weiskirchen R., Strnad P., et al. Standard operating procedures in experimental liver research: thio-acetamide model in mice and rats. *Lab. Anim*. 2015; 49(1): 21–9. <https://doi.org/10.1177/0023677215573040>
18. Yanguas S.C., Cogliati B., Willebrords J., Maes M., Colle I., van den Bossche B., et al. Experimental Models of Liver Fibrosis. *Arch. Toxicol*. 2016; 90(5): 1025–48. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1543-4> EDN: LEGPLT
19. Ravichandra A., Schwabe R.F. Mouse Models of Liver Fibrosis. *Methods Mol. Biol*. 2021; 2299: 339–56. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1382-5_23
20. Munoz Torres E., Paz Bouza J.I., López Bravo A. et al. Experimental thioacetamide-induced cirrhosis of the liver. *Histol. Histo-pathol*. 1991; 6(1): 95–100.
21. Repina E.F., Bakirov A.B., Gimadieva A.R. et al. The assessment of the antihypoxic properties of the complex compound of oxymethyluracil with acetylcysteine in the model of histotoxic hypoxia. *Gigiena i sanitariya*. 2022; 101(9): 1098–102. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-9-1098-1102> EDN: ZKHVYC
22. Yakovenko E.P., Yakovenko A.V., Ivanov A.N., Agafonova N.A., Pryanishnikova A.S., Kagramanova A.V. Pathogenetic approaches to the treatment of chronic liver diseases with intrahepatic cholestasis. *Far-mateka*. 2009; 8(182): 26–32.
23. Plauth M., Schütz E.T. Cachexia in liver cirrhosis. *International journal of cardiology*. 2002; 85(1): 83–7. [https://doi.org/10.1016/S0167-5273\(02\)00236-X](https://doi.org/10.1016/S0167-5273(02)00236-X) PMID: 12163212
24. Wang Z., Jeffrey G.P., Huang Y., De Boer B., Garas G., Wallace M., Adams L.A. Liver fibrosis quantified by image morphometry predicts clinical outcomes in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology International*. 2023; 17(5): 1162–9. <https://doi.org/10.1007/s12072-023-10564-3> EDN: WWINXS
25. Vashchekin E.P., Minchenko V.N., Kostyukovskij P.V., Rodina I.V. Morphofunctional state of the liver and kidneys of bulls when fed with grains of narrow-leaved lupine. *Vestnik FGOU VPO Bryanskaya GSKHA*. 2008; 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfofunktsionalnoe-sostoyanie-pecheni-i-pochek-bychkov-pri-skarmlivanii-im-zerna-uzkolistnogo-lyupina> (data obrashcheniya: 11.03.2025).

Сведения об авторах:

Репина Эльвира Фаридовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: e.f.repina@bk.ru

Каримов Денис Дмитриевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: lich-tsar@mail.ru

Хуснутдинова Надежда Юрьевна, науч. сотр. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: h-n-yu@yandex.ru

Ахмадеев Айдар Ринатович, мл. науч. сотр. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: dgaar87@gmail.com

Гизатуллина Алина Анваровна, мл. науч. сотр. лаб. генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: alinagisa@yandex.ru

Якупова Татьяна Георгиевна, мл. науч. сотр. лаб. генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: karriden@gmail.com

Хмель Александра Олеговна, мл. науч. сотр. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: khmel.al01@gmail.com

Рябова Юлия Владимировна, канд. мед. наук, зав. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Каримов Денис Олегович, канд. мед. наук, зав. отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»; вед. науч. сотр. отдела исследований общественного здоровья ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко», e-mail: karimovdo@gmail.com

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616.43

Будаева М.В., Мелерзанов А.В., Марусич Е.И.

Геропротекторный и антиоксидантный эффект подсластителя на основе аминокислот на модели *C. elegans*

Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), 141701, Московская область, Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9

Введение. Глобальный рост метаболических заболеваний требует разработки безопасных заменителей сахара, которые приносят пользу для здоровья помимо простого снижения калорийности. Диета с высоким содержанием сахара является известным фактором риска развития патофизиологических состояний, таких как инсулинорезистентность и ожирение.

Целью данного исследования была оценка патофизиологического воздействия нового подсластителя, состоящего из сладких протеиногенных аминокислот и пребиотика, на продолжительность жизни и устойчивость к окислительному стрессу на модели нематод.

Методы. Нематоды *C. elegans* N2 дикого типа культивировали в стандартной жидкой среде в 96-луночных планшетах и подвергали воздействию нового подсластителя в различных концентрациях, а также сахарозы, стевии и метформина в качестве контролей. Продолжительность жизни и устойчивость к окислительному стрессу, вызванному паракватом (5 мМ), контролировали с помощью подсчета выживаемости нематод.

Результаты. Новый подсластитель в концентрации 0,1 мг/мл значительно увеличил медианную продолжительность жизни *C. elegans* на 41% (с 17 до 24 дней). К 26-му дню выживаемость в группе, получавшей подсластитель, составила 65,9%, по сравнению только с 37,2% в группе, получавшей сахарозу. В условиях окислительного стресса подсластитель в дозе 1 мг/ мл продемонстрировал самую высокую выживаемость (85,7%), превысив показатели контроля, стевии, сахарозы и метформина.

Заключение. Разработанный подсластитель проявляет значительный геропротекторный и антиоксидантный эффект на *C. elegans*, превосходя традиционные подсластители и соперничая по эффективности с метформином. Его преимущества, вероятно, объясняются биологическим эффектом композиции, спроектированной на принципах синергизма компонентов при активации сигнальных путей, являющихся неотъемлемой частью старения и метаболической патофизиологии.

Ключевые слова: заменитель сахара; продолжительность жизни; окислительный стресс; *C. elegans*; патофизиологическая модель

Для цитирования: Будаева М.В., Мелерзанов А.В., Марусич Е.И. Геропротекторный и антиоксидантный эффект подсластителя на основе аминокислот на модели *C. elegans*. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 134–143.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.134-143

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Будаева М.В., сбор, анализ данных и статистическая обработка – Будаева М.В., написание текста – Будаева М.В., методология и финансирование исследования, редактирование статьи – Марусич Е.И.; редактирование – Мелерзанов А.В. Утверждение окончательной версии статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы (Будаева М.В., Мелерзанов А.В., Марусич Е.И.)

Для корреспонденции: Будаева М.В., аспирантка Московского физико-технического института (Национальный исследовательский университет), e-mail: budaeva.mv@phystech.edu, **Марусич Е.И.**, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник Московского физико-технического института (Национальный исследовательский университет), e-mail: marusich.ei@mipt.ru

Финансирование: Разработка 3D-биоинженерных платформ для подбора индивидуальной терапии и ранней диагностики социально значимых заболеваний (FSMG-2026-0018).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Получено 18.11.2025

Принято 13.02.2026

Опубликована 27.03.2026

Budaeva M.V., Melerzanov A.V., Marusich E.I.**Geroprotective and Anti-Oxidant Effects of an Amino Acid-Based Sweetener in *C. elegans* model**

Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), 9 Institutsky Pereulok, Dolgoprudny 141701, Moscow Region

Background. The global increase in metabolic diseases demands the development of safe sugar substitutes that provide health benefits beyond mere calorie reduction. Diets high in sugar are a known risk factor for pathophysiological conditions such as insulin resistance and obesity.

Aim. This study aimed to evaluate the pathophysiological effects of a novel sweetener, formulated with sweet proteinogenic amino acids and a prebiotic, on the lifespan and oxidative stress resistance in the nematodes model organism.

Methods. Wild-type *C. elegans* N2 nematodes were cultivated in a standard liquid medium within 96-well plates and exposed to a range of concentrations of the novel sweetener, sucrose, stevia, and metformin. Lifespan and resistance to paraquat-induced oxidative stress (5 mM) were monitored via survival counts.

Results. The novel sweetener at a concentration of 0.1 mg/mL significantly increased the median lifespan of *C. elegans* by 41% (from 17 to 24 days). By day 26, survival in the sweetener group was 65.9%, compared to only 37.2% in the sucrose group. Under oxidative stress, the sweetener at 1 mg/ml demonstrated the highest survival rate (85.7%), exceeding that of the control, stevia, sucrose, and metformin.

Conclusion. The developed sweetener exhibits significant geroprotective and antioxidant effect in *C. elegans*, outperforming common sweeteners and rivalling the efficacy of metformin. Its benefits are likely attributable to the synergistic action of its components on pathways integral to aging and metabolic pathophysiology.

Keywords: sugar substitute; lifespan, oxidative stress, *C. elegans*, pathophysiological model

For citation: Budaeva M.V., Melerzanov A.V., Marusich E. I Geroprotective and Anti-Oxidant Effects of an Amino Acid-Based Sweetener in *C. elegans* model. Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'nayaterapiya. (*Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal*). 2026; 70(1): 134–143. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.134-143

Author's contribution: conceptualization and design of the study – Budaeva M.V.; data collection, analysis and statistical processing – Budaeva M.V.; writing the text – Budaeva M.V.; methodology and funding of the study, editing of the article – Marusich E.I., editing – Melerzanov A.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors (Budaeva M.V., Melerzanov A.V., Marusich E.I.)

For correspondence: **Budaeva M.V.**, PhD student, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), e-mail: budaeva.mv@phystech.edu, **Marusich E.I.**, PhD in Molecular Biology, Associate Professor, Leading scientist, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), e-mail: marusich.ei@mipt.ru

Information about the authors:

Budaeva M.V. <https://orcid.org/0009-0003-3565-4354>

Melerzanov A.V. <https://orcid.org/0000-0002-4749-5851>

Marusich E.I. <https://orcid.org/0000-0003-1943-6245>

Funding. Development of 3D bioengineering platforms for the selection of patient-specific therapy and early diagnosis of socially significant diseases (FSMG -2026-0018).

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

Received 18.11.2025

Accepted 13.02.2026

Published 27.03.2026

Введение

Растущая распространенность ожирения, сахарного диабета 2 типа и метаболического синдрома представляет собой серьезную актуальную проблему для современного здравоохранения [1, 2]. Чрезмерное потребление сахарозы является ключевым фактором развития метаболических нарушений [3], инициирующим каскад патологических

изменений в инсулиновой сигнализации [4], развитие дислипидемии и оксидативного стресса. Хотя искусственные подсластители предлагают низкокалорийную альтернативу, сохраняются опасения по поводу их долгосрочной безопасности, нежелательного послевкусия и ограниченной области применения [5]. Кроме того, недавние исследования показывают, что некоторые подсластители, такие как эритрит, могут представлять новые риски, включая

изменения в составе кишечной микробиоты и повышенную склонность к протромботическим явлениям [6]. Эти данные подчеркивают необходимость разработки нового поколения подсластителей, которые обладают не только нейтральным действием, но и оказывают положительный физиологический эффект, активно модулируя метаболические пути.

Новый подсластитель, представленный в данном исследовании, основан на принципиально иной композиции, разработанной для синергического действия. Его основные компоненты включают:

1. Сладкие протеиногенные аминокислоты (L-аланин, глицин): в отличие от многих искусственных подсластителей, эти соединения являются естественными метаболитами. Авторы предполагают, что они не просто обладают сладким вкусом, но также могут модулировать сигнальные пути восприятия питательных веществ, такие как mTOR (мишень рапамицина у млекопитающих (англ. mammalian target of rapamycin)), которые играют ключевую роль в старении и метаболизме [7]. Включение в состав подсластителя L-триптофана в микроколичествах обусловлено его ролью как прекурсора серотонина и его способностью модифицировать вкусовое восприятие. Согласно данным [7], хотя значительный избыток аминокислот может влиять на метаболические пути старения, физиологически обоснованные следовые дозировки необходимы для поддержания нейроэндокринного баланса. В данной рецептуре триптофан используется в концентрации, которая не вносит существенного вклада в общую суточную нутритивную нагрузку, но позволяет достичь синергизма с другими компонентами.
2. Пребиотическая клетчатка (инулин): Этот компонент воздействует на ключевой патофизиологический механизм – дисбиоз кишечника, который тесно связан с ожирением и резистентностью к инсулину. Посредством бактериальной ферментации инулин способствует выработке короткоцепочечных жирных кислот (например, ацетата, пропионата, бутирата), которые проявляют противовоспалительную активность и повышают чувствительность тканей к инсулину [8].
3. Ксилит: Этот натуральный полиол, входящий в состав препарата, обладает низким гликемическим индексом и признанными противокариозными свойствами [9]. Важно учитывать современные дискуссии о безопасности сахароспиртов. Если протромботический потенциал эритрита к настоящему времени получил существенное под-

тверждение [6], то в отношении ксилита аналогичные данные начали появляться лишь недавно [10]. В то время как масштабные клинические исследования продолжаются, ксилит остается ценным компонентом благодаря своим органолептическим свойствам. В составе разработанного нами подсластителя концентрация ксилита оптимизирована, что позволяет сбалансировать вкус продукта при учете актуальных рекомендаций по потреблению многоатомных спиртов. Его умеренная сладость, сравнимая с сахарозой, и приятный охлаждающий эффект значительно улучшают органолептические характеристики конечного продукта.

Модельная система нематод *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) использовалась для оценки биологических эффектов разработанной подслащивающей композиции. *C. elegans* является мощной системой для скрининга геропротекторов и метаболических модуляторов благодаря своему короткому жизненному циклу, а также наличию ключевых сигнальных путей, таких как инсулин/IGF-1-подобная сигнализация (IIS – insulin/IGF-1-like signaling), (IGF-1 – Insulin-like growth factor 1 инсулиноподобный фактор роста 1). Данный путь регулирует продолжительность жизни и устойчивость к стрессу. Более того, ключевые молекулярные механизмы накопления липидов у нематод функционально сопоставимы с процессами липидного обмена у млекопитающих [11]. Таким образом, положительные результаты в этой модели дают значительное обоснование для прогнозирования эффективности терапевтических стратегий в более сложных организмах.

В данном исследовании изучено влияние новой разработанной рецептуры подсластителя на продолжительность жизни и устойчивость к окислительному стрессу у *C. elegans*. Была протестирована гипотеза биологического эффекта композиции, спроектированной на принципах синергизма компонентов, на геропротекторную и антиоксидантную активность. Эффективность разработанного подсластителя сравнивалась с сахарозой, стевией и противодиабетическим препаратом метформином. Целью данного исследования была оценка патофизиологического воздействия нового подсластителя, состоящего из сладких протеиногенных аминокислот и пребиотика, на продолжительность жизни и устойчивость к окислительному стрессу на модели *Caenorhabditis elegans*.

Методика

Штаммы нематод и их культивация. Нематоды дикого типа *Caenorhabditis elegans* штамм дикий тип N2 (Bristol) были получены из *Caenorhabditis* Genetics Center (CGC, Университет Миннесоты, США), культивировались

при температуре 20°C на чашках Петри. Средой выращивания нематод был NGM agar (NGM – nematode growth medium, среда выращивания нематод) с бактериальной культурой *Escherichia coli* (*E.coli* OP50) в качестве источника пищи, согласно стандартным протоколам [12]. Синхронизированные по возрасту популяции были получены путем обработки гипохлоритом взрослых особей с последующим выделением яиц и высиживанием в буфере M9 в течение ночи.

Тестируемые соединения и дизайн экспериментов. Состав композиции нового подсластителя включал: сладкие протеиногенные аминокислоты (L-аланин, глицин), триптофан, ксилит и инулин со степенью чистоты не менее 98,5% (ООО «Холдинг 100ин», Россия); высокоочищенный экстракт стевии (ребаудиозид А, 98%, ТМ «Я Стевия», Россия). В качестве положительного контроля использовали метформин гидрохлорид (Pharmaceutical Secondary Standard; Sigma-Aldrich, США). В качестве отрицательного контроля использовали сахарозу со степенью чистоты не менее 99% (ООО «ДИАЗМ», Россия). Следующие соединения и концентрации были протестированы в сравнении с отрицательным контролем (в среде S с *E. coli* OP50):

- Новый подсластитель: 0,05, 0,1, 0,5, 1,0 мг/мл
- Сахароза: 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 10,0 мг / мл
- Стевия (Ребаудиозид А): 0,05, 0,1, 0,5, 1,0 мг/мл
- Метформин: 0,1, 1,0, 10,0 мкМ

Диапазон концентраций был определен исходя из методических рекомендаций [13], а затем скорректирован с учетом молекулярных масс и относительной сладости исследуемых компонентов для обеспечения условий, сопоставимых с тестированием традиционных подсластителей. Указанные дозировки были адаптированы с учетом относительной сладости и физико-химических свойств исследуемых компонентов, чтобы обеспечить сопоставимость условий эксперимента с существующими моделями оценки метаболического отклика [14]. Концентрации метформина (0,1 – 10 мкМ) были выбраны с целью изучения горметического отклика биологической модели. В отличие от супрафизиологических доз (мМ-диапазон), данные микромолярные концентрации являются физиологически релевантными и позволяют оценить метаболическую модуляцию без индукции токсического стресса [15]. Синхронизированных личинок L4 переносили в 96-луночные планшеты, содержащие 200 мкл жидкой S-среды с соответствующими тестируемыми соединениями и пищевыми бактериями.

Анализ продолжительности жизни. Анализ продолжительности жизни проводили в жидкой культуре с использованием общепринятых методов [16]. Выжи-

ваемость контролировали каждые 48 – 72 часа. Черви считались мертвыми, когда не реагировали на мягкую тактильную стимуляцию проволокой. Эксперименты включали пять повторов на каждую группу тестируемых соединений, примерно по 30 нематод в каждой ячейке 96-луночного планшета. Полученные данные представлены в виде кривых выживаемости Каплана-Мейера, статистическую значимость определяли с помощью логарифмического рангового критерия (log-rank test).

Анализ устойчивости к окислительному стрессу. Устойчивость к окислительному стрессу оценивали у взрослых 7-дневных нематод в соответствии с установленными протоколами [17]. Червей подвергали воздействию 5 мМ параквата (метилвиологена) в жидкой культуре, и выживаемость оценивали каждые 12 – 24 часа с использованием тех же критериев, что и для анализа продолжительности жизни. Каждое условие было протестировано в пяти независимых повторениях.

Статистический анализ. Все эксперименты проводились в пяти независимых повторах. Данные представлены в виде среднего $\pm$ SEM (стандартная ошибка среднего). Данные о выживаемости анализировали с помощью кривых Каплана-Мейера с логарифмическим рангом. Статистически значимым считалось значение $p < 0,05$. Все статистические анализы проводились с использованием GraphPad Prism 9.0.

Результаты

Новый подсластитель продлевает продолжительность жизни *C. elegans*.

Анализ выживаемости, проведенный с использованием кривых Каплана-Мейера со стандартным отклонением от пяти повторов (среднее число нематод составляло 30 особей на группу), выявил значительный, зависящий от концентрации, геропротекторный эффект нового подсластителя ($p < 0,05$, Log-rank test) (**Рис. 1А**). Наибольшая продолжительность жизни наблюдалась в диапазоне концентраций 0,1-1,0 мг/мл. При оптимальной концентрации 0,1 мг/мл средняя продолжительность жизни нематод, потреблявших разработанный композиционный подсластитель, достигла 24 дня, что представляет собой увеличение на 41% по сравнению с контрольной группой (17-й день; Таблица 1).

Преимущество при выживании, обеспечиваемое добавлением композиционного подсластителя в дозе 0,1 мг / мл, было очевидным на протяжении всего эксперимента. К 18-му дню выживаемость в этой группе была на 16,8% выше, чем как в контрольной, так и в группе, получавшей метформин (10 мкМ). Разница стала еще бо-

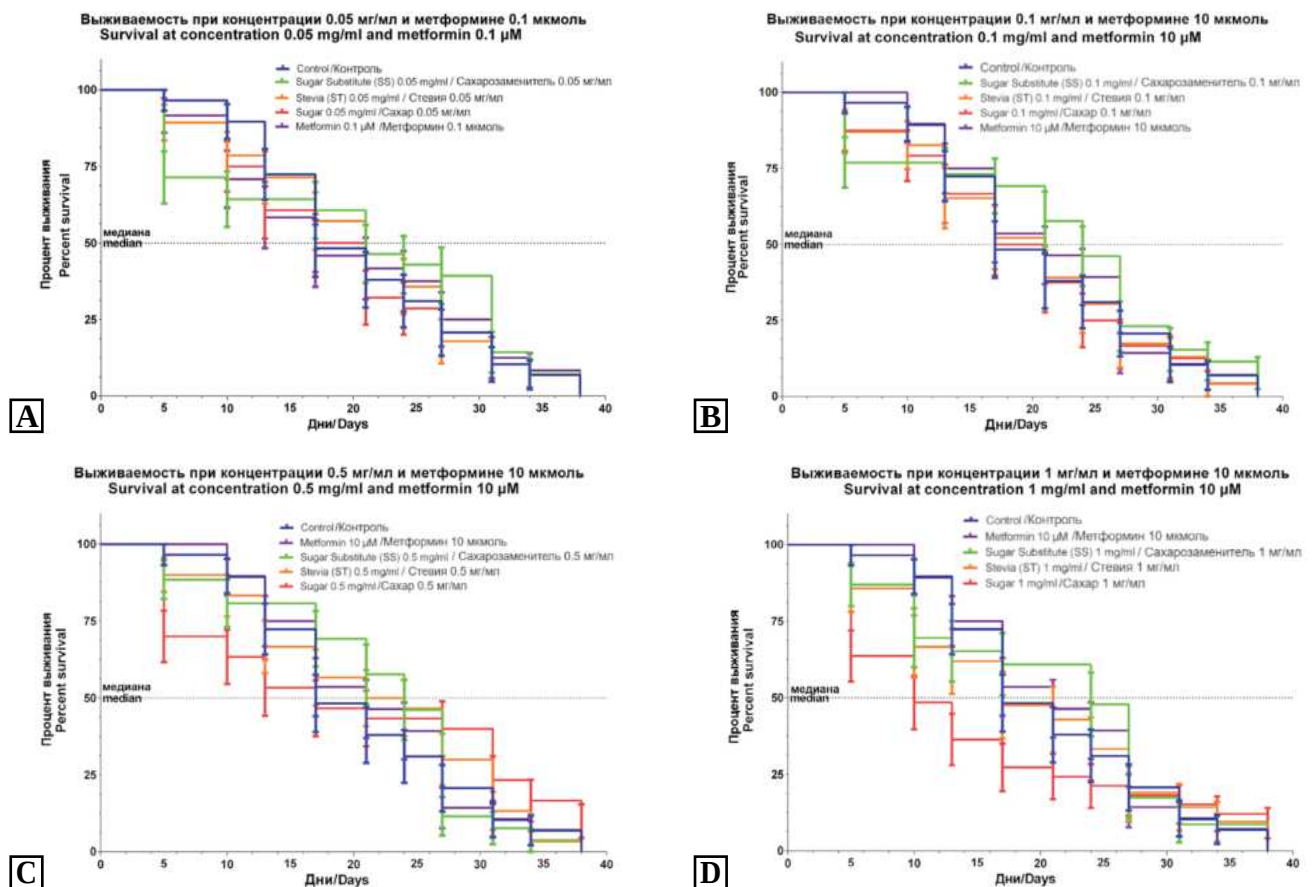


Рис. 1. Результаты эксперимента по продолжительности жизни нематод при определенной концентрации подсластителей (разработанный заменитель сахара, стевия, сахароза)

A: 0,05 мг/мл и метформин в концентрации 0.1 мкм.

B: 0,1 мг/мл и метформин в концентрации 10 мкм.

C: 0,5 мг/мл и метформин в концентрации 10 мкм.

D: 1 мг/мл и метформин в концентрации 10 мкм.

Статистическая значимость для всех опытных групп $p < 0,05$ (Log-rank test)

Fig. 1. Results of the nematodes lifespan experiment at a concentration of sweeteners (developed Sugar Substitute, Stevia, Sucrose)

A: 0.05 mg/ml and metformin at a concentration of 0.1 μ M.

B: 0.1 mg/ml and metformin at a concentration of 10 μ M.

C: 0.5 mg/ml and metformin at a concentration of 10 μ M.

D: 1 mg/ml and metformin at a concentration of 10 μ M.

Statistical significance for all experimental groups $p < 0.05$ (Log-rank test)

лее заметной на 26-й день: 65,9% червей выжили в группе, получавшей композиционный подсластитель, по сравнению только с 37,2% в группе, получавшей сахарозу, что продемонстрировало увеличение жизнеспособности на 28,7% (**рис. 1B**).

Сравнительный анализ подтвердил, что новый подсластитель в оптимальной концентрации (0,1 мг/мл) превосходит как сахарозу, так и стевию по своей геропротекторной эффективности и сопоставим или превосходит препарат сравнения – метформин.

Разработанный подсластитель повышает устойчивость к окислительному стрессу

В условиях окислительного стресса, вызванного паракватом (5 мМ), новый подсластитель не проявлял токсичности и вместо этого оказывал антиоксидантный эффект (**рис.2**). Медиана выживаемости нематод во всех экспериментальных группах была равна или превышала таковую в контрольной группе (13 дней; **табл. 2**).

Наибольшая устойчивость к окислительному стрессу наблюдалась при концентрации подсластителя 1 мг/мл.

Таблица 1 / Table 1

Медиана выживаемости нематод в присутствии тестируемых соединений

Median survival of nematodes in the presence of the tested compounds

Тестируемые соединения Tested compounds	Медиана выживаемости Median survival
Контроль Control	17
Разработанный подсластитель (SS) 0,05 мг/мл Developed sweetener (SS) 0.05 mg/mL	21
Разработанный подсластитель (SS) 0,1 мг/мл Developed sweetener (SS) 0.1 mg/mL	24
Разработанный подсластитель (SS) 0,5 мг/мл Developed sweetener (SS) 0.5 mg/mL	24
Разработанный подсластитель (SS) 1 мг/мл Developed sweetener (SS) 1 mg/mL	24
Стевия (ST) 0,05 мг/мл Stevia (ST) 0.05 mg/mL	21
Стевия (ST) 0,1 мг/мл Stevia (ST) 0.1 mg/mL	21
Стевия (ST) 0,5 мг/мл Stevia (ST) 0.5 mg/mL	22,5
Стевия (ST) 1 мг/мл Stevia (ST) 1 mg/mL	17
Сахароза 0,05 мг/мл Sucrose 0.05 mg/mL	19
Сахароза 0,1 мг/мл Sucrose 0.1 mg/mL	19
Сахароза 0,5 мг/мл Sucrose 0.5 mg/mL	17
Сахароза 1 мг/мл Sucrose 1 mg/mL	10
Метформин 0,1 мкм Metformin 0.1 µM	17
Метформин 1 мкм Metformin 1 µM	19
Метформин 10 мкм Metformin 10 µM	21

На 12-й день эксперимента 85,7% популяции в группе, потреблявшей композиционный подсластитель, оставались живыми. Это было значительно выше, чем в других группах: на 16,1% выше, чем в группе без добавления тестируемых соединений, на 14,1% выше, чем в группе со стевией, на 59,5% выше, чем в группе с сахарозой, и на 16,0% выше, чем в группе с метформином ($p < 0,05$, Log-rank test).

Полученные данные указывают не только на отсутствие окислительных свойств, но и на значительную способность разработанного композиционного подсластителя повышать устойчивость организма к окислительному повреждению.

Обсуждение

Основной целью данного исследования была оценка геропротекторного и антиоксидантного потенциала нового композиционного подсластителя с использованием модели *C. elegans*. Наши результаты убедительно демонстрируют, что разработанная композиция не только безопасна, но и превосходит обычные вещества, такие как сахароза и стевия, по своим полезным эффектам, сопоставляя или даже превосходя эффективность эталонного препарата метформина в некоторых аспектах.

Полученные нами результаты согласуются с данными других исследователей, изучавших влияние подсластителей и метаболитических корректоров на модель *C. elegans*. Так, выявленное нами антиоксидантное действие разработанного состава сопоставимо с эффектами ребаудиозид А (стевиин), который повышает устойчивость к окислительному стрессу и увеличивает продолжительность жизни нематод [18]. Напротив, негативное влияние избытка сахарозы на метаболитические показатели в нашем эксперименте подтверждает ранее описанные закономерности задержки развития и нарушения липидного обмена при избытке сахаров в рационе [19]. Использование метформина в качестве положительного контроля продемонстрировало эффективность, сопоставимую с результатами недавних исследований [15], что подтверждает адекватность выбранной экспериментальной модели.

Сравнительная геропротекторная активность и возможные механизмы

Значительное увеличение продолжительности жизни нематод, вызванное нашим подсластителем, позволяет предположить о возможности рассмотреть его как потенциальное геропротекторное соединение. Его эффективность в оптимальной концентрации (0,1 мг/мл) была сопоставима с метформином, геропротектором и противодиабетическим препаратом [20]. В механизм действия метформина вовлечены консервативный сенсор энергии,

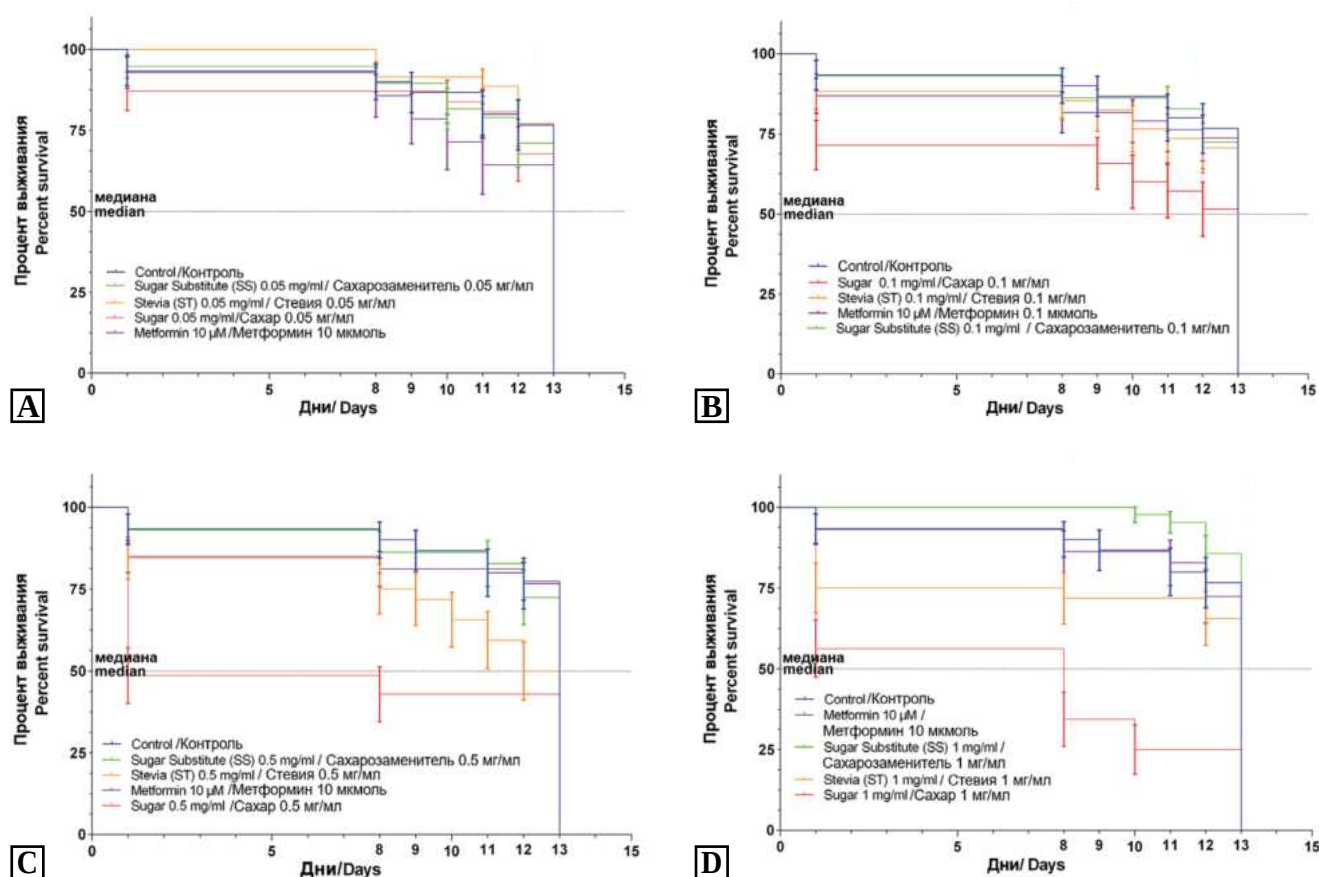


Рис. 2. Результаты эксперимента по выживанию нематод в условиях окислительного стресса (разработанный композиционный подсластитель, стевия, сахароза) в концентрациях:

- A: 0,05 мг/мл и метформин в концентрации 0,1 мкм.
 B: 0,01 мг/мл и метформин в концентрации 10 мкм.
 C: 0,5 мг/мл и метформин в концентрации 10 мкм
 D: 1 мг/мл и метформин в концентрации 10 мкм.

Fig. 2. The results of an experiment on survival under oxidative stress of nematodes at a concentration of sweeteners sweeteners (developed Sugar Substitute, Stevia, Sucrose):

- A: 0.05 mg/ml and metformin at a concentration of 0.1 μ M.
 B: 0.01 mg/ml and metformin at a concentration of 10 μ M.
 C: 0.5 mg/ml and metformin at a concentration of 10 μ M
 D: 1 mg/ml and metformin at a concentration of 10 μ M.

активируемая аденозинмонофосфатом (AMP – adenosine monophosphat) протеинкиназа (AMPK-аденозинмонофосфат-киназа), и последующая активация транскрипционного фактора DAF-16/FOXO (Forkhead box O-типа), что является фундаментальным путем регуляции долголетия [15]. В данной работе были использованы концентрации препарата в диапазоне 0,1 – 10 мкМ, что, в отличие от супрафизиологических мМ-доз, соответствует терапевтическому уровню метформина в плазме крови человека (5 – 30 мкМ) [21]. Выбор микромолярного диапазона позволяет изучать специфические эффекты препара-

та, реализуемые через механизмы митогормезиса [14], избегая при этом неспецифической токсичности, часто наблюдаемой при экстремально высоких концентрациях. Об успешном переносе этих результатов на млекопитающих свидетельствует способность метформина значительно увеличивать среднюю продолжительность жизни мышей среднего возраста на 5,83%, одновременно улучшая продолжительность жизни и чувствительность к инсулину [22]. У людей метформин не только служит в качестве терапии первой линии при сахарном диабете 2 типа, но также демонстрирует способность снижать смертность

Таблица 2 / Table 2

Медиана выживаемости нематод в условиях окислительного стресса в присутствии тестируемых соединений

Median survival of nematodes under oxidative stress in the presence of the tested compounds

Протестированные соединения Tested compounds	Медиана выживаемости Median survival
Контроль Control	13
Разработанный подсластитель (SS) 0,05 мг/мл Developed sweetener (SS) 0.05 mg/mL	13
Разработанный подсластитель (SS) 0,1 мг/мл Developed sweetener (SS) 0.1 mg/mL	13
Разработанный подсластитель (SS) 0,5 мг/мл Developed sweetener (SS) 0.5 mg/mL	13
Разработанный подсластитель (SS) 1 мг/мл Developed sweetener (SS) 1 mg/mL	13
Стевия (ST) 0,05 мг/мл Stevia (ST) 0.05 mg/mL	13
Стевия (ST) 0,1 мг/мл Stevia (ST) 0.1 mg/mL	13
Стевия (ST) 0,5 мг/мл Stevia (ST) 0.5 mg/mL	13
Стевия (ST) 1 мг/мл Stevia (ST) 1 mg/mL	13
Сахароза 0,05 мг/мл Sucrose 0.05 mg/mL	13
Сахароза 0,1 мг/мл Sucrose 0.1 mg/mL	13
Сахароза 0,5 мг/мл Sucrose 0.5 mg/mL	1
Сахароза 1 мг/мл Sucrose 1 mg/mL	8
Метформин 0,1 Metformin 0.1 µM	13
Метформин 1 мкм Metformin 1 µM	13
Метформин 10 мкм Metformin 10 µM	13
Сахароза 10 мг/мл Sucrose 10 mg/ml	4,5

от всех причин и частоту возрастных заболеваний, особенно сердечно-сосудистых патологий [23].

Примечательно, что разработанная нами композиция значительно превосходит стевию по геропротекторной активности. Хотя гликозиды стевiola продемонстрировали определенные положительные метаболические эффекты в предыдущих исследованиях [24], согласно нашим данным, их потенциал увеличения продолжительности жизни уступает разработанному композиционному подсластителю. Эта превосходная эффективность может быть объяснена синергетическим взаимодействием между аминокислотами и пребиотическим компонентом в нашей рецептуре подсластителя.

Продемонстрировано негативное воздействие чрезмерного потребления сахарозы, наблюдаемое в нашем исследовании по самым низким показателям выживаемости групп, получавших сахарозу. Эпидемиологические и клинические данные связывают высокое потребление сахара с развитием метаболического синдрома, ожирения, сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний [3]. Ключевой патофизиологический механизм включает нерегулируемый метаболизм фруктозы в печени, приводящий к липогенезу de novo, накоплению липидов в печени, дислипидемии, резистентности к инсулину и повышению уровня мочевой кислоты [3]. Избыточное потребление сахарозы провоцирует хроническое системное воспаление низкой интенсивности, которое является ключевым драйвером возраст-зависимых патологий и сокращения продолжительности жизни (концепция inflammaging – старения через воспаление) [25]. Наши результаты согласуются с установленными провоспалительными свойствами сахарозы, обеспечивая убедительное обоснование для разработки более безопасных функциональных альтернатив.

Механизмы, лежащие в основе повышенной устойчивости к окислительному стрессу

Наиболее выраженные результаты были получены в результате анализа окислительного стресса, вызванного паракватом, где наш подсластитель продемонстрировал превосходные защитные эффекты по сравнению со всеми контрольными группами, включая метформин. Это указывает на мощную антиоксидантную способность, превосходящую таковую у установленного эталонного соединения. Окислительный стресс играет ключевую роль в процессах старения и патогенезе многочисленных возрастных заболеваний [26]. Способность нашего соединения значительно повышать выживаемость в этих условиях предполагает потенциальную модуляцию консервативных путей клеточного ответа на стресс, таких как сигнальный каскад Nrf2 (фактор 2, связанный с ядерным фактором эритроида 2).

Противовоспалительные и антиоксидантные свойства некоторых компонентов стевии описаны в литературе [24]. В данном исследовании разработанный композиционный сахарозаменитель оказал количественно более сильный эффект, чем стевия. Предполагается, что введение аминокислот в состав сахарозаменителей может способствовать их биологической активности. В литературе описано, что аминокислоты могут выступать прекурсорами антиоксидантных систем (например, глутамин как предшественник глутатиона [27]) или метаболизироваться до сигнальных молекул, таких как оксид азота [28]. Используемый в нашей работе подход к аминокислотному обогащению опирается на данные принципы модуляции метаболического отклика. Аминокислота глицин является прямым предшественником синтеза глутатиона и продемонстрировала способность снижать окислительный стресс за счет усиления регуляции ключевых антиоксидантных белков, таких как Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 – Ядерный фактор эритроидного происхождения 2, связанный с фактором 2) и HO-1 (Heme Oxygenase-1 – Гем-оксигеназа-1) [29, 30]. Экспериментальные исследования также показывают, что L-аланин может обеспечивать защиту клеток от оксидативного повреждения, индуцируя экспрессию белков антиоксидантной защиты, включая гемоксигеназу-1 и ферритин [31].

Биологическое значение и дальнейшее применение

Использование зарекомендовавшей себя модели *C. elegans* обеспечивает надежную платформу для предварительного скрининга. Сохранение ключевых метаболических путей – особенно инсулиноподобного сигнального пути, подобного IGF-1, – между нематодами и млекопитающими позволяет предположить о возможном экстраполяции полученных результатов на более сложные организмы [32]. Данное исследование согласуется с глобальными тенденциями в области здравоохранения, поскольку Всемирная организация здравоохранения признает растущую долю пожилых людей во всем мире и важность увеличения продолжительности здоровой жизни [33].

Учитывая растущий спрос на функциональные продукты питания, которые приносят пользу для здоровья, разработанный композиционный подсластитель представляет значительный практический интерес. Его положительное влияние на продолжительность жизни и устойчивость к оксидативному стрессу соответствует новым тенденциям в науке о питании, направленным на выявление соединений, способствующих здоровому старению. Будущие исследования должны быть сосредоточены на выяснении точных молекулярных механизмов действия в системах млекопитающих и выявлении потенциальных применений в питании человека и профилактике возрастных заболеваний.

Заключение

Таким образом, данное исследование предоставляет убедительные доказательства того, что новый композиционный подсластитель обладает значительной геропротекторной и антиоксидантной активностью, превосходя существующие альтернативы по нескольким ключевым параметрам. Его сопоставимая с метформином эффективность в увеличении продолжительности жизни в сочетании с защитой от оксидативного стресса подчеркивает его потенциал как многообещающего функционального ингредиента. Представленные результаты являются базовым этапом комплексного исследования биологических свойств разработанного подсластителя. Установленная эффективность в отношении продолжительности жизни и стрессоустойчивости *C. elegans* послужила основанием для дальнейших испытаний. Следующие этапы работы включают детальное изучение влияния состава на метаболизм липидов, а также оценку кардиотоксичности на моделях млекопитающих, что позволит полностью верифицировать свойства продукта для его внедрения в индустрию функционального питания. Необходимы дальнейшие исследования на моделях млекопитающих, чтобы полностью прояснить его молекулярные механизмы и трансляционный потенциал для здоровья и долголетия человека.

Литература / References

1. World Health Organization. Obesity and Overweight. 2025. Fact Sheet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Freeman, A. M., Acevedo, L. A., & Pennings, N. Insulin Resistance. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. 2023
3. Stanhope K.L. Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 2016; 53(1): 52 – 67. <https://doi.org/10.3109/10408363.2015.1084990>
4. Saltiel A.R.. Insulin signaling in health and disease. *The Journal of clinical investigation*. 2021; 131(1): e142241. <https://doi.org/10.1172/JCI142241>
5. Kossiva, L., Kakleas, K., Christodouli, F., Soldatou, A., Karanasios, S., & Karavanaki, K. Chronic Use of Artificial Sweeteners: Pros and Cons. *Nutrients*. 2024; 16(18): 3162. <https://doi.org/10.3390/nu16183162>
6. Witkowski, M., Nemet, I., Alamri, H. et al. The artificial sweetener erythritol and cardiovascular event risk. *Nature Medicine*. 2023; 29: 710 – 18. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02223-9>
7. Lushchak O, Strilbytska OM, Yurkevych I, Vaiserman AM, Storey KB. Implications of amino acid sensing and dietary protein to the aging process. *Exp Gerontol*. 2019; 115: 69 – 78. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.11.021>

8. Ismawati, Saryono, Mukhyarjon, Romus I, Putri VD, Yanti S, Dyna F, Adesti NI. Effect of inulin from dahlia tubers (*Dahlia variabilis*) extract on insulin severity and insulin expression in diabetic rats. *Biomedicine (Taipei)*. 2024; 14(3): 31 – 9. <https://doi.org/10.37796/2211-8039.1460>
9. Rice T, Zannini E, K Arendt E, Coffey A. A review of polyols – biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020; 60(12): 2034 – 51. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1625859>
10. Witkowski, M., Nemet, I., Li, X. S., Wilcox, J., Ferrell, M., Alamri, H., Gupta, N., Wang, Z., Tang, W. H. W., & Hazen, S.L. Xylitol is prothrombotic and associated with cardiovascular risk. *European heart journal*. 2024; 45(27): 2439 – 52. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehae244>
11. Altintas O., Park S., Lee S.J. The role of insulin/IGF-1 signaling in the longevity of model invertebrates, *C. elegans* and *D. melanogaster*. *BMB Rep*. 2016; 49(2): 81 – 92. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2016.49.2.261>
12. Stiemagel, T. Maintenance of *C. elegans*, *WormBook*, ed. *The C. elegans Research Community*. 2006; 1 – 11. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.101.1>
13. Zhang M., Yang X., Xu W. et al. Evaluation of the effects of three sulfa sweeteners on the lifespan and intestinal fat deposition in *C. elegans*. *Food Res Int*. 2019; 122: 66 – 76. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.028>
14. De Haes W., Frooninckx L., Van Assche R. et al. Metformin promotes lifespan through mitohormesis via the peroxiredoxin PRDX-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014; 111(24): E2501 – 09. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321776111>
15. Berk Ş., Cetin A., Özdemir Ö.Ü. et al. The combination of metformin and high glucose increased longevity of *Caenorhabditis elegans* a DAF-16/FOXO-independent manner: cancer/diabetic model via *C. elegans*. *Front. Endocrinol*. 2024; 15: 1435098. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1435098>
16. Solis G.M., Petrascheck M. Measuring *Caenorhabditis elegans* life span in 96 well microtiter plates. *J Vis Exp*. 2011; (49): 2496. <https://doi.org/10.3791/2496>
17. Senchuk, M. M., Dues, D. J., & Van Raamsdonk, J.M. Measuring Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans*: Paraquat and Juglone Sensitivity Assays. *Bio-protocol*. 2017; 7(1): e2086. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2086>
18. Li P., Wang Z., Lam S.M. et al. Rebaudioside A Enhances Resistance to Oxidative Stress and Extends Lifespan and Healthspan in *Caenorhabditis elegans*. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2021; 10(2): 262. <https://doi.org/10.3390/antiox10020262>
19. Wang X., Zhang L., Zhang L. et al. Effects of excess sugars and lipids on the growth and development of *Caenorhabditis elegans*. *Genes & nutrition*. 2020; 15: 1. <https://doi.org/10.1186/s12263-020-0659-1>
20. Hu D., Xie F., Xiao Y. et al. Metformin: A Potential Candidate for Targeting Aging Mechanisms. *Aging and disease*. 2021; 12(2): 480 – 93. <https://doi.org/10.14336/AD.2020.0702>
21. Dutta S., Shah R.B., Singhal, S. et al. Metformin: A Review of Potential Mechanism and Therapeutic Utility Beyond Diabetes. *Drug design, development and therapy*. 2023; 17: 1907 – 32. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S409373>
22. Martin-Montalvo A., Mercken E.M., Mitchell S.J. et al. Metformin improves healthspan and lifespan in mice. *Nat Commun*. 2013; 4: 2192. <https://doi.org/10.1038/ncomms3192>
23. Tsiroinos G.I., Tsolaki V., Zakynthinos G.E. et al. Metformin's Overall Effectiveness and Combined Action with Lifestyle Interventions in Preventing Type-2 Diabetes Mellitus in High-Risk Metformin-Naïve Patients: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of Published RCTs. *Journal of Clinical Medicine*. 2025; 14(14): 4947. <https://doi.org/10.3390/jcm14144947>
24. Wang A., Hu H., Yuan Y. et al. Structure, Properties, and Biomedical Activity of Natural Sweeteners Steviolosides: An Update. *Food Sci Nutr*. 2025; 13(2): e70002. <https://doi.org/10.1002/fsn3.70002>
25. Franceschi, C., & Campisi, J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 69 Suppl 1. 2014; S4 – 9. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu057>
26. Liguori I., Russo G., Curcio F. et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018; 13: 757 – 72. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
27. Guoyao W., Joanne R.L., Nancy D.T. et al. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. 2004; 134(3): 489 – 92. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489>
28. Guoyao W., Cynthia J.M. Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr*. 2000; 130(11): 2626 – 9. <https://doi.org/10.1093/jn/130.11.2626>
29. Ullah R., Jo M.H., Riaz M. et al. Glycine, the smallest amino acid, confers neuroprotection against d-galactose-induced neurodegeneration and memory impairment by regulating c-Jun N-terminal kinase in the mouse brain. *J Neuroinflammation*. 2020; 17: 303. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01989-w>
30. Razak M.A., Begum P.S., Viswanath B. et al. Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017; 1716701. <https://doi.org/10.1155/2017/1716701>
31. Grosser N., Oberle S., Berndt G., Erdmann K. et al. Antioxidant action of L-alanine: heme oxygenase-1 and ferritin as possible mediators. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 314(2): 351 – 5. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.12.089>
32. Fontana L., Partridge L., Longo V.D. Extending healthy life span – from yeast to humans. *Science*. 2010; 328(5976): 321 – 6. <https://doi.org/10.1126/science.1172539>
33. World Health Organization. Ageing and Health. 2025 Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>

Информация об авторах:

Будаева Мария Вячеславовна, аспирантка физтех-школы биологической и медицинской физики МФТИ

Мелерзанов Александр Викторович, канд. мед. наук, доцент, заместитель директора института «Биофизики будущего» ФГАОУ ВО МФТИ

Марусич Елена Ивановна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, доцент, Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-092.9

Елистратова И.В.^{1,2}, Полякова М.В.¹, Волкова Е.Н.¹, Морозов С.Г.¹

Оценка патологических изменений у мышей при моделировании atopического дерматита

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

²ФГКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации», 143914, Балашиха Московской области, микрорайон Никольско-Архангельский Вишняковское шоссе, владение 101

Целью работы было моделирование atopического дерматита (АД) человека с использованием динитрохлорбензола (ДНХБ), а также его сочетания с овальбумином (ОВА). у мышей линии BALB/c. Полученная модель по клиническим и гистологическим признакам имела соответствие с АД человека средней тяжести. При исследовании кожи мышей в острой фазе заболевания было показано наличие сухости и эрозии кожи, а в хронической фазе было утолщения эпидермиса, отёк и воспаление дермы, инфильтрация кожи тучными клетками. Применение ОВА совместно с ДНХБ вызывало изменение кожи мышей, которые более соответствовали изменениям кожи человека при АД, чем воздействие только ДНХБ. Исследование кератиноцитов кожи мышей в острой и хронической стадиях эксперимента позволило установить повышение уровня экспрессии белков теплового шока по сравнению с показателями клеток в контрольной группе мышей.

Ключевые слова: модель atopического дерматита; кожа; кератиноциты; белки теплового шока

Для цитирования: Елистратова И.В., Полякова М.В., Волкова Е.Н., Морозов С.Г. Оценка патологических изменений у мышей при моделировании atopического дерматита. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 144–152.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.144-152

Участие авторов: концепция – Елистратова И.В., Морозов С.Г.; дизайн исследования – Волкова Е.Н., Морозов С.Г.; работа с животными – Елистратова И.В., Полякова М.В.; сбор и обработка материала – Елистратова И.В.; написание текста, редактирование – Волкова Е.Н. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Морозов Сергей Георгиевич, e-mail: biopharm@list.ru

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания № FGFU-2025-0003.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.09.2025

Принята к печати 17.11.2025

Опубликована 27.03.2026

Elistratova I.V.^{1,2}, Polyakova M.V.¹, Volkova E.N.¹, Morozov S.G.¹

Assessment of pathological changes in mice in a model of atopic dermatitis

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

²Federal State Institution of Higher Education "Main Military Clinical Hospital of the National Guard of the Russian Federation". 143914, Balashikha, Moscow region, Nikolsko-Arkhangelsky Vishnyakovskoe highway microdistrict, possession 101

The aim of this study was to simulate human atopic dermatitis (AD) using dinitrochlorobenzene (DNCB), as well as its combination with ovalbumin (OvA). The resulting model was clinically and histologically similar to moderate human AD. Examination of mouse skin during the acute phase of the disease revealed the dryness and erosion, while the chronic phase revealed the epidermal thickening, dermal edema and inflammation, as well as the mast cell infiltration. The OvA exposure in a combination with DNCB revealed the changes in mouse skin which were more consistent with changes in human skin in AD than exposure to DNCB alone. Mouse skin keratinocytes examination during the acute and chronic stages of the experimental AD revealed the increased heat shock proteins expressions compared to its levels in the control group of mice.

Keywords: model of atopic dermatitis; skin; keratinocytes; heat shock proteins

For citation: Elistratova I.V., Polyakova M.V., Volkova E.N., Morozov S.G. Assessment of pathological changes in mice in a model of atopic dermatitis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 144–152. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.144-152

Author's contribution: concept – Elistratova I.V., Morozov S.G.; research design – Volkova E.N., Morozov S.G.; animal work – Elistratova I.V., Polyakova M.V.; data collection and processing – Elistratova I.V.; text writing and editing – Volkova E.N. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

For correspondence: Morozov S.G. biopharm@list.ru

Information about the authors:

Elistratova I.V., <https://orcid.org/0000-0002-0393-4947>

Morozov S.G., <https://orcid.org/0000-0001-5822-5729>

Financing. This review was supported by the state assignment No FGFU-2025-0003.

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

Received 22.09.2025

Accepted 17.11.2025

Published 27.03.2026

Введение

Атопический дерматит (АД) – это хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кожи, в основе патогенеза которого лежит ряд нарушений – генетических, иммунных, нейроэндокринных, стрессовых и т.д. [1]. Особенности поражения кожи зависят от тяжести течения АД, его клинических характеристик, острой или хронической стадии. Модельные системы АД на животных (мышях, крысах, собаках и др.), в коже которых происходят изменения, похожие на события в коже человека при АД, позволяют более глубоко исследовать патофизиологические механизмы этого заболевания. В частности, модели на животных позволили прояснить механизм системной сенсибилизации к аллергенам при дефектах барьерной функции кожи, когда продуцируемые эпителиальными клетками цитокины приводят к возникновению и поддержанию аллергического воспаления и атопического марша [2].

Модели АД на мышах имеют преимущество в том, что в эксперимент можно взять большое количество линейных животных с известным генотипом и фенотипом, в том числе, мышей линий BALB/c, NC/Nga, C57Bl/6, Swiss и т.д. В настоящее время используют более 20 моделей АД у мышей и более 40 индукторов АД. Чаще работают с мышами линии BALB/c из-за более выраженной кожной реакции на введение стимуляторов АД по сравнению с мышами других линий. Каждая из мышинных моделей имеет свои преимущества и недостатки и отражает те или иные особенности течения АД человека [3, 4]. Но ни одна из моделей АД на мышах не воспроизводит достоверно патогенез АД человека, достигается не более 37% соответствия АД человека, что связано с анатомическими различиями кожи мышей и человека: особенностями кератиноцитов, строением дермы и локальным иммунным ответом кожи мышей и человека [3]. Некоторые индукторы, используемые в мышинных моделях, вы-

зывают поверхностный дерматит и некроз, которые обычно не регистрируются при АД у человека. Особенности каждой из моделей позволяют решать те или иные задачи по изучению патогенеза АД.

Модельные системы АД на мышах можно разделить на индуцируемые и спонтанные, последние развиваются у некоторых линий генетически детерминированных мышей (NC/Nga и мыши с шелушащимся хвостом), а также у трансгенных и нокаутных мышей. В индуцируемых моделях АД используют или специальную диету (например, дефицит ряда полиненасыщенных жирных кислот и крахмалов, что вызывает симптомы АД у голых мышей [5]), или местное применение стимуляторов, повреждающих кожные покровы (аллергены, антигены, гаптены, бактерии и их метаболиты, цитокины, химические вещества) [3]. Чаще всего используют 2,4-динитрохлорбензол (2,4-dinitrochlorobenzene, ДНХБ), оксазолон (oxazolone), кальципотриол (calcipotriol), экстракт антигена клеща *Dermatophagoides farina* из пыли, пищевые аллергены (овальбумин, ОвА), интерлейкины (IL31, IL23). ДНХБ, оксазолон, экстракт клеща и ОвА вызывают эпидермальную гиперплазию, зуд, воспаление 2-го типа, тогда как введение цитокинов (IL23) вызывает акантоз, утолщение эпидермиса, воспаление 1-го типа [3].

Воспроизводимость модели ДНХБ не постоянная, в статьях даются разные концентрации, объёмы и частота нанесения ДНХБ на кожу мышей, нет точного описания фенотипов АД, указаний на стадию АД и т.д. Также следует учитывать, что у человека на острой стадии АД поражения кожи сопровождаются эритемой, серозным экссудатом и мокнутием, а при хроническом течении АД проявления эритемы уменьшаются, появляется лихенизация и шелушащиеся бляшки. АД человека может сопровождаться как высоким уровнем сывороточного IgE, так и нормальными значениями IgE, но при этом всегда имеются нарушения в регуляции взаимодействия иммунных клеток и сдвиги в иммунном статусе [6].

В модельной системе с использованием ДНХБ оценка соответствия АД человека проводится по утолщению эпидермиса и дермы кожи спины мышей, инфильтрации тучных клеток в коже, по повышению уровня IgE и гистамина в плазме и экспрессии цитокинов, секретируемых Т-хелперами первого и второго порядка (Th1, Th2), изменению барьерных белков кожи, экспрессии генов, связанных с воспалением [7].

Для изучения зуда оптимальной модельной системой является использование урушиола (urushiol), при которой утолщение эпидермиса и агрегация воспалительных клеток в коже, а также расчесывающее поведение мышей более стабильно по сравнению с действием ДНХБ или оксазолонa [8].

Роль эозинофилов и тучных клеток в развитии гиперкератоза и фиброза дермы при обострении АД исследовали на инбредных мышах линии Yama с генетической эозинофилией, которым ДНХБ наносили на ушную раковину, в результате был индуцирован АД с тяжелым фиброзом дермы и с более выраженной инфильтрацией эозинофилов и экспрессией IL-4 по сравнению с мышами Balb/c и NC/Nga [9].

В данной работе были поставлены несколько **целей**:

- 1) создать модель АД на мышах линии BALB/c, которая соответствовала бы АД средней тяжести у человека,
- 2) уточнить клинические, гистологические и биохимические изменения у мышей при данной модели,
- 3) измерить уровни экспрессии белков теплового шока в клетках кожи мышей в острой и хронической стадиях экспериментального АД.

Методика

Реактивы. В работе использовали динитрохлорбензол (Chloro-2,4-dinitrobenzene, ДНХБ, Sigma-Aldrich, № 237329), овальбумин (ОвА, Sigma-Aldrich, № A2512), ацетон (Sigma-Aldrich, № O1514). Смесь ацетона и оливкового масла (Borges 100%, Испания) в отношении 3:1 использовали как растворители для ДНХБ. Для гистологии использовали гематоксилин и эозин и толуидиновый синий (все Sigma-Aldrich Co.).

Животные. Работа проведена в ФГБНУ «НИИОПП» на мышах линии BALB/c – самцах ($n = 100$), в начале эксперимента в возрасте 8 недель и весом 21 ± 1 г. Содержание лабораторных животных и эксперименты проводили в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в эксперименте, и требованиями Директивы Совета ЕС «О сбли-

жении законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (86/609/ЕЕС), национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», а также в соответствии с решением Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП» (протокол №2 от 04.04.2023 г. и №4 от 05.08.2025 г.). Все мыши получали стандартный гранулированный корм для мышей, содержались по одному животному в клетке (во избежание возможных повреждений кожи при контакте с другим животным) при постоянной температуре воздуха $+23$ °C, влажности воздуха 45% и 12-часовом цикле освещения. Все мыши проходили акклиматизацию к данным лабораторным условиям в течение недели.

Экспериментальные модели atopического дерматита. Дизайн данного эксперимента является авторской модификацией дизайна работы [10], в которой данная схема показала хорошие результаты моделирования АД средней тяжести у людей. Шерсть на холке мышей аккуратно, не повреждая эпидермиса, срезали ножницами с закруглёнными краями на площади 1 кв. см, через 24 часа проверяли, чтобы было полное отсутствие ссадин или повреждений, после этого отбирали по 20 мышей в каждую группу.

Группа I – интактный контроль (без стрижки шерсти).

Группа II – контроль физ. раствора: мышам в выстриженную кожу втирали 100 мкл физиологического раствора в 1-й, 4-й, 8-й дни и далее каждые 3 дня в течение 3-х недель.

Группа III – контроль растворителей: мышам в выстриженную кожу втирали 100 мкл смеси ацетона и оливкового масла (3:1) в 1-й, 4-й, 8-й дни и далее каждые 3 дня в течение 3-х недель.

Группа IV – ДНХБ: выстриженную кожу мышей обрабатывали 1% раствором ДНХБ в объёме 100 мкл в 1-й и 4-й день эксперимента, затем, начиная с 8 дня, каждые 3 дня в течение последующих 3-х недель в кожу втирали 100 мкл 0,5% раствора ДНХБ.

Группа V – ДНХБ + ОвА: на участок выстриженной кожи в 1-й день наносили 100 мкл 1% раствора ДНХБ, в 3-й день – 100 мкл раствора ОвА, в 5-й день – 100 мкл 0,5% раствора ДНХБ и на 7 день – 50 мкл ОвА. Затем каждые 3 дня чередовали втирание 100 мкл 0,5% раствора ДНХБ и 50 мкл ОвА. Применение ОвА обусловлено тем, что его комбинация с ДНХБ точнее отражает состояние кожи человека при АД по сравнению с моделью, вызванной одним ДНХБ [10].

На 14-й день от начала эксперимента по 10 мышей из каждой группы из 20 животных забивали путём цервикальной транслокации для оценки реакции острой фазы АД. Для оценки хронической фазы АД животных забивали на 28-й день. Были проанализированы образцы крови, кожи спины, селезенки, регионарных лимфатических узлов, тимуса, печени, а также перитонеальный экссудат.

Гистологическое исследование кожи мышей. После цервикальной транслокации мышей на 14-й и 28-й дни эксперимента ткань кожи спины разрезали на кусочки и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, затем заключали в парафиновый блок, который нарезали на серийные срезы толщиной 5 мкм, депарфинировали ксилолом и подвергали гидратации. Предметные стекла со срезами окрашивали гематоксилином и эозином для оценки толщины эпидермиса, для оценки инфильтрации тканей тучными клетками и эозинофилами срезы окрашивали толуидиновым синим. После окрашивания срезы подвергали дегидратации. Окрашенные стёкла анализировали под микроскопом Olympus (Япония) при 400-кратном увеличении, каждое стекло было разделено на 5 секций для наблюдения, была рассчитана средняя толщина эпидермиса и дермы.

Иммуноферментный анализ (ИФА) проводили стандартным твердофазным методом [11]. Кровь отбирали из орбитального синуса при забое мышей на 14-й или 28-й дни эксперимента. Сыворотку получали центрифугированием с ускорением 5000g в течение 10 минут. IgE измеряли с помощью коммерческого набора «Mouse IgE ELISA Kit» (Mybiosource, San Diego, CA, USA) по протоколу фирмы. Цитокины измеряли с помощью набора для ИФА для мышей (BD Biosciences, San Diego, CA, USA). Сыворотку разводили физ.раствором 1:20, оптическую плотность измеряли при 450 нм с помощью ИФА-ридера (микропланшетный абсорбционный спектрофотометр; Bio-Rad Lab., Inc., Hercules, CA, USA). Образцы анализировали трижды, количество IgE и цитокинов рассчитывали на основе стандартных кривых.

Проточная цитометрия. Окраска клеток проводилась моноклональными антителами к белкам теплового шока (HSP), напрямую меченными флуоресцентными красителями (BD Biosciences, San Diego, CA, USA). Экспрессия HSP измерялась на проточном цитометре FACSCalibur по программе SimulSet.

Статистическую обработку результатов проводили по программе ANOVA, для анализа групп с малой выборкой использовали метод непараметрического анализа Нью-мена-Кейлса, при котором статистически значимые различия между группами даны как $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Гистологическое исследование кожи мышей при моделировании АД

Оценивали толщину дермы и эпидермиса, наличие дефектов в эпидермисе, сухость кожи, эритему, эрозии и экзематозные поражения кожи, воспаление, отёк. В группе ДНХБ в острой фазе модели АД (на 14-й день от начала эксперимента) показаны гиперплазия и достоверное утолщение эпидермиса и дермы кожи спины по сравнению с интактным контролем ($P < 0,05$). В группе ДНХБ + ОвА показатели несколько выше по сравнению с группой только ДНХБ (табл. 1).

У людей в острой фазе АД имеется отёк дермы, отек эпидермиса (спонгиоз) вазодилатация, гиперкератоз, инфильтрация воспалительными клетками и увеличение толщины эпидермиса и дермы. Окрашивание гематоксилином и эозином срезов кожи мышей в группах ДНХБ и ДНХБ + ОвА выявило гиперплазию, гиперкератоз и спонгиоз в обеих группах, эпидермальная гиперплазия была достоверно выше ($P < 0,05$) в этих группах по сравнению с тремя контрольными группами. Таким образом, изменения в коже мышей в группах ДНХБ и ДНХБ + ОвА указывают на развитие изменений, характерных для изменений кожи человека при АД, что подтверждает создание модели АД на мышах.

Далее мы проанализировали гистологические изменения при переходе от острой к хронической стадии АД с применением ДНХБ и с ДНХБ + ОвА. Показано, что в стадии хронического воспаления (на 28-й день от начала эксперимента) толщина эпидермиса и дермы увеличилась во всех группах мышей при сохранении тенденции к более выраженной гиперплазии в группах ДНХБ и ДНХБ + ОвА (табл. 1).

У человека при накоплении в коже тучных клеток и их контакте с антигенами происходит дегрануляция с выходом гистамина, серотонина и других цитокинов, что приводит к аллергической реакции, развитию дерматита и зуда [12]. У людей в острой фазе АД обычно регистрируется накопление в дерме тучных клеток, эозинофилов и Т-лимфоцитов, преобладают цитокины, секретируемые Th2-хелперами, повышена концентрация IL4, IL6, IL33, TNF- α , TSLP. Чтобы оценить соответствие модельной системы АД на мышах мы определили накопление клеток иммунной системы в дерме кожи подопытных мышей. Анализ срезов кожи спины мышей, окрашенных толуидиновым синим, позволил установить, что в группах мышей с ДНХБ и ДНХБ + ОвА (по сравнению с контрольными группами) достоверно ($P < 0,05$) повышена концентрация тучных клеток и эозинофилов в дерме кожи (в единицах на 1 мм²) (табл. 2).

Таблица 1 / Table 1

Изменения кожи у мышей в модельной системе atopического дерматита человека**Skin changes in mice in a mouse model of human atopic dermatitis**

Показатели / Indicators	Группы животных / Groups of animals				
	контроль интакт- ный/ untreated control (n = 10)	контроль физ. раствора / physical solution control (n = 10)	контроль раство- рителей* / solvent control* (n=10)	ДНХБ** / DNCB** (n = 10)	ДНХБ+ОвА*** / DNCB+ OvA *** (n = 10)
14-й день / day 14					
Толщина эпидермиса, мкм / Thickness of the epidermis, microns	13,9 ± 1,3	12,8 ± 1,7	14,3 ± 1,7	102 ± 7 #Δ	119 ± 6 #Δ
Толщина дермы, мкм / Thickness of the dermis, microns	209 ± 5	213 ± 6	227 ± 6	903 ± 49 #Δ	934 ± 51 #Δ
28-й день / day 28					
Толщина эпидермиса, мкм / Thickness of the epidermis, microns	14,1 ± 1,2	12,9 ± 1,4	14,8 ± 1,5	118 ± 8 #Δ	133 ± 9 #Δ
Толщина дермы, мкм / Thickness of the dermis, microns	217 ± 6	221 ± 5	231 ± 8	931 ± 53 #Δ	959 ± 47 #Δ

Примечание. * контроль растворителей – ацетон на оливковом масле 3:1; ** ДНХБ – 2,4-динитрозлорбензол; *** ОвА – овалбумин; #P < 0,05 по отношению к интактному контролю; ΔP < 0,05 по отношению к контролю растворителей.

Note. * solvent control – acetone in olive oil 3:1; ** DNCB – 2,4-dinitrozlorobenzene; *** OvA – ovalbumin; # P < 0.05 relative to intact control; ΔP < 0.05 with respect to solvent control.

Таблица 2 / Table 2

Изменения клеток в дерме кожи мышей в модельной системе atopического дерматита**Changes of cells in the dermis of the skin of mice in the model system of atopic dermatitis**

Клетки (ед./мм²)¥ / Cells (units/mm²)	Группы животных / Groups of animals				
	контроль интактный / untreated control (n = 10)	контроль физ. раствора / physical solution control (n = 10)	контроль раство- рителей* / solvent control* (n=10)	ДНХБ** / DNCB** (n = 10)	ДНХБ+ОвА*** / DNCB+ OvA *** (n=10)
14-й день / day 14					
Тучные клетки / Mast cells	11,3 ± 0,7	10,9 ± 0,7	13,0 ± 0,6	31,4 ± 2,2#Δ	34,9 ± 1,8#Δ
Эозинофилы / Eosinophils	13,3 ± 0,5	12,8 ± 0,5	14,8 ± 1,1	36,8 ± 3,1#Δ	40,6 ± 2,1#Δ
28-й день / day 28					
Тучные клетки / Mast cells	10,9 ± 0,6	11,0 ± 0,7	13,5 ± 0,5	35,9 ± 2,7#Δ	39,2 ± 2,5#Δ
Эозинофилы / Eosinophils	13,4 ± 0,8	13,2 ± 0,7	15,3 ± 0,7	41,5 ± 3,0#Δ	45,3 ± 2,6#Δ

Примечание. ¥ число клеток иммунной системы в поле зрения на срезах кожи мышей; * контроль растворителей – ацетон на оливковом масле 3:1; ** ДНХБ – 2,4-динитрозлорбензол; *** ОвА – овалбумин; # P < 0,05 по отношению к интактному контролю; Δ P < 0,05 по отношению к контролю растворителей.

Note. ¥ the number of immune system cells in the field of view on mouse skin slices; * solvent control – acetone in olive oil 3:1; ** DNCB – 2,4-dinitrozlorobenzene; *** OvA – ovalbumin; # P < 0.05 relative to intact control; Δp < 0.05 with respect to solvent control.

На 14-й день эксперимента инфильтрация тучных клеток и эозинофилов в дерму кожи мышей, получавших ДНХБ или ДНХБ + ОвА, была значительно выше по сравнению с контрольными группами ($P < 0,05$). На 28-й день эксперимента концентрация тучных клеток и эозинофилов была более выражена, чем на 14-й день. Мыши, получавшие ДНХБ + ОвА, имели более значимые показатели концентрации клеток в дерме, чем мыши, получавшие только ДНХБ. Эти результаты свидетельствуют о том, что обработка кожи мышей ДНХБ и ДНХБ + ОвА приводит к усилению инфильтрации тучных клеток и эозинофилов и значительным изменениям эпидермиса в коже спины.

Показатели IgE в сыворотке крови мышей при моделировании АД

У большинства людей с АД имеется повышенная концентрация IgE в сыворотке крови, которая возрастает при увеличении индекса SCORAD и тяжести течения АД. У некоторых пациентов уровень при АД может быть в норме, но при этом имеются грубые нарушения соотношения иммунных клеток. В модельной системе АД на мышах подтверждение развития патологии, соответствующей АД человека, подразумевает наличие повышенного уровня IgE в сыворотке крови мышей. На 14-й и 28-й дни эксперимента мы измеряли уровни общего сыворо-

точного IgE, овальбумин-специфического IgE (ОвА-sIgE) и овальбумин-специфического IgG1 (ОвА-sIgG1) у экспериментальных мышей (табл. 3).

В нашем эксперименте в группе мышей, получавших ДНХБ и ДНХБ + ОвА концентрация IgE в сыворотке крови достоверно увеличилась ($P < 0,05$) по сравнению с показателями сыворотки крови мышей контрольных групп, что указывает на индукцию atopического ответа под воздействием ДНХБ и ДНХБ + ОвА (табл. 3). Эти данные согласуются с результатами других авторов, которые использовали ДНХБ для индукции системного аллергического ответа [10, 12]. В конце эксперимента на 28-й день концентрация IgE в сыворотке крови была выше, чем на 14-й день, как в группе с ДНХБ + ОвА, так и в группе только с ДНХБ. Уровни ОвА-sIgE и ОвА-sIgG1 также повышены на 28-й день по сравнению с 14-м днём эксперимента в группах мышей, получавших ДНХБ и ДНХБ + ОвА (табл. 3). Что касается уровней ОвА-sIgE и ОвА-sIgG1 в контрольных группах мышей, то они были на уровне следовых количеств, что не даёт возможности указать их точную концентрацию в данной таблице. Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов, показавших повышение уровня овальбумин-специфических иммуноглобулинов при обработке мышей ДНХБ с овальбумином при моделировании АД [13].

Таблица 3 / Table 3

Уровень IgE и овальбумин-специфических IgE (ОвА-sIgE) и IgG1 (ОвА-sIgG1) в сыворотке крови мышей в модельной системе atopического дерматита

The level of IgE and ovalbumin-specific IgE (OvA-sIgE) and IgG1 (OvA-sIgG1) in the blood serum of mice in the model system of atopical dermatitis

Показатели / Indicators	Группы животных / Groups of animals				
	контроль интактный / untreated control (n = 10)	контроль физ. раствора / physical solution control (n = 10)	контроль растворителей* / solvent control* (n=10)	ДНХБ** / DNCB** (n = 10)	ДНХБ+ОвА*** / DNCB+ OvA*** (n=10)
14-й день / day 14					
IgE, нг/мл	272 ± 31	269 ± 29	291 ± 37	6125 ± 131 #Δ	7574 ± 187 #Δ
ОвА-sIgE, нг/мл	нет	нет	нет	1,62 ± 0,05 #Δ	26,33 ± 4,05 #Δ
ОвА-sIgG1, нг/мл	нет	нет	нет	1,08 ± 0,02 #Δ	21,05 ± 3,92 #Δ
28-й день / day 28					
IgE, нг/мл	275 ± 29	274 ± 36	287 ± 26	6752 ± 144 #Δ	8122 ± 213 #Δ
ОвА-sIgE, нг/мл	нет	нет	нет	1,94 ± 0,07 #Δ	38,91 ± 3,77 #Δ
ОвА-sIgG1, нг/мл	нет	нет	нет	1,38 ± 0,05 #Δ	32,14 ± 2,98 #Δ

Примечание. * контроль растворителей – ацетон на оливковом масле 3:1; ** ДНХБ – 2,4-динитрозлорбензол; *** ОвА – овальбумин; # $P < 0,05$ по отношению к интактному контролю; Δ $P < 0,05$ по отношению к контролю растворителей.

Note. * solvent control – acetone in olive oil 3:1; ** DNCB – 2,4-dinitroslozenzene; *** OvA – ovalbumin; # $P < 0.05$ relative to intact control; Δ $P < 0.05$ with respect to solvent control.

Полученные нами результаты указывают на то, что модельная система атопического дерматита с использованием ДНХБ и ДНХБ + ОвА приводит к развитию патологических изменений в коже и сыворотке мышей, которые соответствуют состоянию атопического дерматита средней степени тяжести у человека. Данная модельная система может быть использована для дальнейшего изучения патогенетических особенностей, характерных для АД в коже человека.

Экспрессия белков теплового шока в клетках кожи мышей при моделировании атопического дерматита

На 14-й день эксперимента на мышах проявляются изменения в коже и сыворотке, которые соответствуют острой фазе развития АД у человека. Продолжение обработки мышей ДНХБ или ДНХБ с овальбумином приводит к изменениям в коже мышей, которые более соответствуют хронической стадии АД человека.

Следующим этапом нашего исследования было измерение экспрессии белков теплового шока (HSP) в клетках кожи мышей на 14-й день эксперимента, то есть в модели острой фазы АД человека. Клетки кожи были выделены по используемой нами регулярно методике [14], которая позволяет получать жизнеспособные клетки и анализировать их на проточном цитометре. В данной модельной системе экспрессия всех белков теплового шока повышалась в двух контрольных группах, в которых кожа мышей была выстрижена (контроль физиологического раствора и контроль растворителей). Данное воздействие, как выяснилось, было существенным стрессом для мышей, что повлияло на экспрессию HSP (табл. 4). Однако экспериментальное воздействие ДНХБ или ДНХБ + ОвА оказало статистически значимое стрессорное воздействие на животных, что достоверно повысило уровень экспрессии всех исследованных HSP, как в кератиноцитах, так и в лимфоцитах кожи мышей.

Нашими ранними работами с клетками кожи людей, больных АД, было показано, что экспрессия HSP90 и HSP70 повышается при обострении атопического дерматита [15]. В данном эксперименте на мышах мы подтвердили нашу гипотезу, что в патогенезе атопического дерматита участвуют молекулярные шапероны – белки теплового шока, которые проводят сигналы стресса и оказывают влияние на утилизацию повреждённых белков в клетках. В следующей статье мы проанализируем данные по экспрессии HSP в других типах клеток, выделенных у мышей при моделировании атопического дерматита.

Заключение

Для создания модельной системы АД на мышах мы использовали схему, предложенную Kwak J. et al., [10], в которой изменения в коже мышей были вызваны втиранием ДНХБ в выстриженную зону на спине мышей линии BALB/c. Для получения более выраженных изменений в коже воздействие ДНХБ было усилено одновременным воздействием овальбумина. Согласно данным гистологического анализа, а также биохимическим показателям, благодаря данной схеме мы получили на мышах модель атопического дерматита средней степени тяжести у человека. Изменения в коже, а именно, утолщение эпидермиса и дермы после воздействия ДНХБ или ДНХБ + ОвА, соответствовали изменениям кожи при АД средней тяжести у человека. Также было установлено наличие повышенной концентрации тучных клеток и эозинофилов в дерме кожи мышей после воздействия ДНХБ или ДНХБ + ОвА. Кроме того, подтверждено повышение концентрации сывороточного IgE после указанных выше воздействий, что статистически достоверно отличалось от показателей контрольных групп. В нашем эксперименте были три контрольные группы мышей – это интактный контроль, когда мыши не подвергались вообще никакому воздействию, контроль физиологического раствора, когда выстриженная зона обрабатывалась только физ. раствором, а также контроль растворителей, в которых был растворён ДНХБ. Все три контрольные группы почти не отличались друг от друга по исследуемым показателям на соответствие модели АД. Однако, при измерении уровня экспрессии белков теплового шока у мышей с выстриженной кожей, экспрессия HSP была повышена, что отражает развитие стресса в ответ на подобное воздействие. Тем не менее, ДНХБ и ДНХБ + ОвА достоверно повышали все исследованные показатели. Таким образом, созданная модель АД позволяет использовать её для дальнейшего изучения особенностей патогенеза АД.

Выводы

1. Применение 1% раствора ДНХБ в объёме 100 мкл у мышей линии BALB/c позволяет в течение 14 дней создать модель острой фазы атопического дерматита средней степени тяжести у человека. Одновременное применение овальбумина усиливает действие ДНХБ и позволяет получить более стабильную модель.
2. Использование полученной модели атопического дерматита для измерения уровня экспрессии белков теплового шока в клетках мышей позволяет углублённо изучать патогенез АД и исследовать механизмы развития стресса при обострении атопического дерматита.

Таблица 4 / Table 4

Экспрессия белков теплового шока (HSP) (в условных единицах, у.е.) в клетках кожи мышей в острой фазе модели атопического дерматита (на 14-й день)
Expression of heat shock proteins (HSPs) (in relative units, r.u.) in mouse skin cells during the acute phase of an atopic dermatitis model (on day 14)

Показатели / Indicators	Группы животных/ Groups of animals				
	контроль интактный / untreated control (n = 10)	контроль физ. раствора / physical solution control (n = 10)	контроль растворителей* / solvent control* (n=10)	ДНХБ** / DNCB** (n = 10)	ДНХБ+ОвА*** / DNCB+ OvA*** (n=10)
Кератиноциты / Keratinocytes					
HSP60, у.е.	72 ± 4	86 ± 7	92 ± 9	138 ± 11 #Δ	152 ± 10 #Δ
HSP70, у.е.	124 ± 9	145 ± 8	154 ± 9	201 ± 13 #Δ	221 ± 14 #Δ
HSP90, у.е.	38 ± 3	56 ± 5	58 ± 4	94 ± 7 #Δ	127 ± 9 #Δ
Лимфоциты кожи / Skin lymphocytes					
HSP60, у.е.	85 ± 6	98 ± 5	106 ± 4	203 ± 16 #Δ	241 ± 13 #Δ
HSP70, у.е.	97 ± 4	106 ± 6	116 ± 6	185 ± 11 #Δ	237 ± 12 #Δ
HSP90, у.е.	29 ± 1	33 ± 1	38 ± 4	85 ± 5 #Δ	103 ± 7 #Δ

Примечание. * контроль растворителей – ацетон на оливковом масле 3:1; ** ДНХБ – 2,4-динитрозлорбензол; *** ОвА – овальбумин; #P < 0,05 по отношению к интактному контролю; Δ P < 0,05 по отношению к контролю растворителей.
Note. * solvent control – acetone in olive oil 3:1; ** DNCB – 2,4-dinitrozlorobenzene; *** OvA – ovalbumin; # P < 0.05 relative to intact control; ΔP < 0.05 with respect to solvent control.

Литература
(п.п. 1–13 см. References)

14. Кандалова О.В., Таратутина Н.В., Мартынова Е.А. Сравнение спонтанного и церамид-индуцированного апоптоза в клетках кожи больных атопическим дерматитом, экземой и псориазом. *Патогенез*. 2012; 10(4): 60–5.

15. Елистратова И.В., Кандалова О.В., Волкова Е.Н. и др. Экспрессия белков теплового шока в кератиноцитах кожи взрослых пациентов с атопическим дерматитом. *Бюл. Эксп. Биол. Мед.* 2025; 180(8): 171–4. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2025-180-8-171-174>

References

1. Yoon J., Lee J., Park A. et al. Type 2 Innate Lymphoid Cells and skin fibrosis in a murine model of atopic dermatitis-like skin inflammation. *J. Korean. Med. Sci.* 2024; 39(30): e221. <https://doi.org/10.3346/jkms.2024.39.e221>

2. Ziegler S. Thymic stromal lymphopoietin, skin barrier dysfunction, and the atopic march. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2021; 127(3): 306–11. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2021.06.004>

3. Matsumoto K., Morita H., Nakae S. New insights into human atopic dermatitis provided by mouse models. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2021; 148(3): 722–4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.07.016>

4. Ye S., Zhu L., Ruan T. et al. Comparative study of mouse models of atopic dermatitis. *Heliyon*. 2025; 11(2): e41989. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41989>

5. Fujii M., Shimazaki Y., Nabe T. Diet-induced mouse model of atopic dermatitis. *Methods Mol. Biol.* 2021; 2223: 79–86. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1001-5_6

6. Riedl R., Kühn A., Rietz D. et al. Establishment and characterization of mild atopic dermatitis in the DNCB-induced mouse model. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(15): 12325. <https://doi.org/10.3390/ijms241512325>

7. Riedl R., Kühn A., Hupfer Y. et al. Characterization of different inflammatory skin conditions in a mouse model of DNCB-induced atopic dermatitis. *Inflammation*. 2024; 47(2): 771–88. <https://doi.org/10.1007/s10753-023-01943-x>

8. Donglang G., Tongtong L., Dan C. et al. Comparative study on different skin pruritus mouse models. *Front. Med. (Lausanne)*. 2021; 8: 630237. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.630237>

9. Yamada Y., Yoshizaki K., Sakurai M., Morimoto M. Establishment of new mouse model for allergic dermatitis showing severe fibrosis. *J. Vet. Med. Sci.* 2024; 86(12): 1303–10. <https://doi.org/10.1292/jvms.24-0394>
10. Kwak J., Doo H., Kim E. et al. A refined comparative mouse model of acute and chronic atopic dermatitis. *J. Anim. Sci. Technol.* 2025; 67(3): 636–50. <https://doi.org/10.5187/jast.2024.e93>
11. Davydov D., Lobanov A., Morozov S. et al. Neurodevelopment and phenotype-modulating functions of S100B protein: a pilot study. *Physiol. Behav.* 2015; 140: 188–96. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.12.037>
12. Lee H., Bae E., Ly S. Protective effect of *Lycium barbarum* eaf extracts on atopic dermatitis: *in vitro* and *in vivo* studies. *Nut.r Res. Pract.* 2023; 17(5): 855–69. <https://doi.org/10.4162/nrp.2023.17.5.855>
13. Xu B., Ling S., Zhang Y., Liu X., Luo Y., Yao X. Study the involvement of Langerin in mediating epicutaneous sensitization of atopic dermatitis-like mouse model. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2023; 103(38): 3041–6. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112137-20230724-00084> (in Chinese)
14. Kandalova O.V., Taratutina N.V., Martinova E.A. Spontaneous and ceramide-induced apoptosis in the skin cells obtained from patients with atopic dermatitis, eczema, and psoriasis, compared with donors. *Patogenez (Pathogenesis)*. 2012; 10(4): 60–5. (in Russian)
15. Elistratova I.V., Kandalova O.V., Volkova E.N. et al. Heat shock protein expression in skin keratinocytes of adult patients with atopic dermatitis. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2025, 180(2), 171–4. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2025-180-8-171-174> (in Russian)

Сведения об авторах:

Елистратова Ирина Владимировна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. ФГБНУ НИИОПП; врач ФГКУЗ «ГВКГ Войск Национальной Гвардии»

Полякова Маргарита Вячеславовна, мл. науч. сотр. ФГБНУ НИИОПП

Волкова Елена Николаевна, доктор мед. наук, проф., вед. науч. сотр. ФГБНУ НИИОПП

Морозов Сергей Георгиевич, доктор мед. наук, проф., член-корр. РАН, директор ФГБНУ НИИОПП

Обзоры

© Коллектив авторов, 2026

УДК 616-008.8/616-092.6

Галимов К.Ш.², Литвицкий П.Ф.², Галимова Э.Ф.¹, Рахимова К.Х.², Галимов Ш.Н.¹

Комплексный анализ проблемы мужского бесплодия: от молекулярных механизмов к клиническому применению

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450008, Уфа, Россия, ул. Ленина, д. 3

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Москва, Россия, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Статья посвящена анализу данных о механизмах развития мужского бесплодия с акцентом на такие молекулярные механизмы, как окислительный стресс, повреждение ДНК сперматозоидов, эпигенетические нарушения и роль микроРНК (miRNA) в регуляции сперматогенеза. Приводятся сведения о том, что мужской фактор составляет до 50% случаев бесплодия. Традиционные методы диагностики, включая исследование спермограммы, обладают ограниченной прогностической ценностью, что стимулирует поиск новых биомаркеров, таких как наличие признаков фрагментации ДНК и характеристика профилей экспрессии miRNA. Особое внимание уделено роли miRNA (например, miR-34b/c, miR-449a/b/c, miR-135a), которые регулируют ключевые процессы сперматогенеза и могут служить диагностическими маркерами его аномалий. Приводятся сведения об их связи с различными формами патологии, включая азооспермию и астенозооспермию. Предложены рекомендации по включению анализа miRNA в клиническую практику для повышения качества диагностики и прогнозирования эффективности вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Аргументируется необходимость дальнейших исследований по разработке персонализированного подхода к лечению мужского бесплодия, что может значительно повысить эффективность медицинской помощи и улучшить демографические показатели.

Ключевые слова: мужское бесплодие; микроРНК; сперматогенез; фрагментация ДНК; биомаркеры

Для цитирования: Галимов К.Ш., Литвицкий П.Ф., Галимова Э.Ф., Рахимова К.Х., Галимов Ш.Н. Комплексный анализ проблемы мужского бесплодия: от молекулярных механизмов к клиническому применению. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 153–159.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.153-159

Участие авторов: концепция и дизайн работы – Галимов Ш.Н.; сбор данных, анализ и интерпретация данных – Галимов К.Ш., Рахимова К.Х.; написание статьи – Галимова Э.Ф.; редактирование статьи – Литвицкий П.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Галимова Эльмира Фанисовна, e-mail: efgalimova@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 19.05.2025

Принята к печати 29.05.2026

Опубликована 27.03.2026

Galimov K.Sh.², Litvitskiy P.F.², Galimova E.F.¹, Rakhimova K.Kh.², Galimov Sh.N.¹

A comprehensive analysis of the problem of male infertility: from molecular mechanisms to clinical application.

¹Bashkir State Medical University, 3 Lenina St., Ufa, 450008, Russian Federation

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8 Trubetskaya St., Bldg. 2, Moscow, 119991, Russian Federation

The article is devoted to the analysis of data on the mechanisms of male infertility development with an emphasis on such molecular mechanisms as oxidative stress, sperm DNA damage, epigenetic disorders and the role of microRNA

(miRNA) in the regulation of spermatogenesis. It is reported that the male factor accounts for up to 50% of infertility cases. Traditional diagnostic methods, including spermogram examination, have limited prognostic value, which stimulates the search for new biomarkers, such as the presence of signs of DNA fragmentation and characterization of miRNA expression profiles. Particular attention is paid to the role of miRNA (for example, miR-34b / c, miR-449a / b / c, miR-135a), which regulate key processes of spermatogenesis and can serve as diagnostic markers of its abnormalities. Data on their association with various forms of pathology, including azoospermia and asthenozoospermia are provided. Recommendations are proposed for the inclusion of miRNA analysis in clinical practice to improve the quality of diagnostics and predict the effectiveness of assisted reproductive technologies (ART). The need for further research to develop a personalized approach to the treatment of male infertility is argued, which can significantly improve the effectiveness of medical care and improve demographic indicators.

Keywords: male infertility; microRNA; spermatogenesis; DNA fragmentation; biomarkers

For citation: Galimov K.Sh., Litvitskiy P.F., Galimova E.F., Galimov Sh.N. A comprehensive analysis of the problem of male infertility: from molecular mechanisms to clinical application. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 153–159. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.153-159

Author's contribution: concept and design of the work – Galimov Sh.N.; data collection, analysis and interpretation of data – Galimov K.Sh., Rakhimova K.Kh.; writing of the article – Galimova E.F.; editing of the article – Litvitskiy P.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.
For correspondence: *Elmira F. Galimova*, D.Sc, associate prof., Bashkir State Medical University, e-mail: efgalimova@mail.ru

Information about the authors:

Galimov K.Sh., <https://orcid.org/0000-0002-0148-4380>

Litvitskiy P.F., <https://orcid.org/0000-0003-0151-9114>

Galimova E.F., <https://orcid.org/0000-0002-3351-7669>

Rakhimova K.Kh., <https://orcid.org/0009-0003-8795-4359>

Galimov Sh.N., <https://orcid.org/0000-0002-5871-5151>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 19.05.2025

Accepted 29.05.2026

Published 27.03.2026

Введение

Репродуктивное здоровье населения становится все более актуальной проблемой мирового здравоохранения. Согласно последним эпидемиологическим данным, бесплодие диагностируется у каждой седьмой пары репродуктивного возраста, причем гендерное распределение причин носит равномерный характер [1, 2]. Глобальная статистика свидетельствует, что около 190 миллионов человек во всем мире сталкиваются с проблемами зачатия, при этом в 50% случаев (95 миллионов) нарушение репродуктивной функции обусловлено мужским фактором [3, 4]. Многочисленные исследования демонстрируют тревожную тенденцию к ухудшению показателей мужской фертильности. Особую озабоченность вызывает рост доли идиопатических форм, что подчеркивает недостаточность наших знаний о механизмах репродуктивных нарушений. Мета-регрессионный анализ данных за последние че-

тыре десятилетия выявил постепенное снижение средней концентрации сперматозоидов в эякуляте, ухудшение качественных характеристик спермы (подвижность, морфология), устойчивый рост частоты мужского бесплодия [5]. Все это подчеркивает необходимость углубленного изучения патогенетических звеньев, среди которых в андрологии в настоящее время особое внимание уделяется окислительному стрессу и повреждению ДНК сперматозоидов, эпигенетическим нарушениям, включая дисрегуляцию микроРНК, и генетическим мутациям с хромосомными аномалиями.

Лечение мужского бесплодия представляет собой сложную врачебную задачу, поскольку оно носит в основном эмпирический характер из-за отсутствия точных данных о причине возникновения и широкого спектра клинических вариантов. Прогноз итогов терапии затрудняется также из-за непредсказуемости индивидуального ответа на нее и ограниченной эффективности существующих подходов.

Мужское бесплодие имеет значительные социально-экономические последствия, которые проявляются на нескольких уровнях. На индивидуальном уровне оно вызывает глубокий психологический стресс и кризис мужской идентичности, снижение качества жизни пациента и социальную дезадаптацию, увеличение риска развития депрессивных состояний.

На уровне системы здравоохранения эта форма патологии создает дополнительную нагрузку на медицинские учреждения, что требует значительных финансовых затрат на процессы диагностики и лечения, увеличивает потребность в специализированной помощи для семейных пар с бесплодием.

На общегосударственном уровне мужское бесплодие усугубляет, прежде всего, демографические проблемы, особенно в странах с низкой рождаемостью, требуя разработки специальных социальных программ поддержки. Это, как следствие, приводит к экономическим потерям из-за снижения производительности труда. Особую остроту указанные проблемы приобретают в условиях современного демографического кризиса, когда каждая возможность восстановления репродуктивной функции имеет важное значение для современного общества.

Стандартом диагностики мужского бесплодия остается спермограмма, выполняемая согласно критериям ВОЗ (последнее, 6-е издание руководства опубликовано в 2021 году). Однако клиническая практика выявляет существенные ограничения ее традиционных параметров – это низкая прогностическая ценность рутинных показателей (концентрация, подвижность, морфология сперматозоидов), значительная вариабельность результатов различных лабораторий, отсутствие четкой корреляции с фертильным потенциалом. Таким образом, традиционные исследования параметров эякулята имеют относительно низкую прогностическую ценность, что стимулирует поиск новых маркеров, таких как оценка фрагментации ДНК сперматозоидов, включенная в последнее руководство ВОЗ.

Многочисленные исследования показывают, что проблемы сперматогенеза, развития яичек, созревания и миграции сперматозоидов могут быть связаны с нарушениями репарации ДНК. Дефекты механизма репарации могут усилить последствия повреждения ДНК в зародышевых клетках, что приведет к аномальному сперматогенезу и бесплодию. Морфологические нарушения сперматозоидов и расстройства созревания хроматина признаются значимыми маркерами мужской фертильности [6–8].

Результаты анализа структурных аномалий и степени повреждения ДНК сперматозоидов играют ключевую роль в оценке репродуктивного потенциала мужчины [9]. Повреждение ДНК сперматозоидов служит не толь-

ко важным показателем качества эякулята, но и ценным диагностическим критерием бесплодия. Определение уровня фрагментации ДНК позволяет прогнозировать успешность применения ВРТ и выбирать оптимальную тактику лечения.

Фрагментация ДНК – это молекулярный маркер, отражающий целостность генетического материала. Широкое внедрение метода оценки наличия и масштаба фрагментации ДНК сперматозоидов в клиническую практику сталкивается с существенными ограничениями, связанными с высокой стоимостью исследования и значительной трудоемкостью выполнения теста (TUNEL, SCSA). Эти факторы делают проведение такого анализа малодоступным для рутинного скрининга в условиях стандартной лабораторной практики, что диктует необходимость разработки альтернативных, экономически целесообразных подходов к отбору пациентов для углубленного обследования. Это, в свою очередь, требует поиска более доступных маркеров, например, экспрессии микроРНК, коррелирующих с уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов.

Сперматогенез – сложный многоэтапный процесс формирования зрелых сперматозоидов, регулируемый более чем 2000 генов [10]. Его нарушения могут быть вызваны различными причинами, многие из которых остаются неизученными. Перспективным решением проблемы представляется выявление и валидация дополнительных параметров эякулята, которые демонстрируют устойчивую корреляцию с уровнем повреждения ДНК сперматозоидов. Особый интерес в этом контексте представляет изучение профиля экспрессии ключевых регуляторов транскрипционных процессов, в частности, микроРНК – класса коротких некодирующих РНК, играющих важную роль в посттранскрипционной регуляции генной экспрессии [11].

МикроРНК (miRNAs) – это эволюционно консервативные некодирующие молекулы РНК, состоящие в среднем из 22 нуклеотидов. Они выполняют важнейшую регуляторную функцию на посттранскрипционном уровне. Современные исследования подтверждают, что miRNAs выступают основными регуляторами подавления генной экспрессии (сайленсинга). Механизм их действия основан на специфическом связывании с 3'-нетранслируемыми участками (3'UTR) матричных РНК-мишеней. Это взаимодействие приводит к двум возможным исходам: блоку процесса трансляции и деградации целевых мРНК [12, 13]. Указанные молекулы участвуют в реализации тонкого механизма контроля экспрессии генов, играющего критическую роль в биологических процессах. Их изучение открывает новые перспективы в понимании регуляции клеточных функций в целом.

Исследование экспрессионных паттернов микроРНК может предоставить ценную диагностическую информацию, сопоставимую по значимости с данными о фрагментации ДНК, но при этом они требуют менее затратных и более простых в исполнении методик анализа. Это открывает новые возможности для разработки алгоритмов, позволяющих оптимизировать процесс диагностики мужского бесплодия. Их роль выходит далеко за рамки простых маркеров, включая молекулярные механизмы контроля сперматогенеза. Она включает в себя регуляцию процессов пролиферации и дифференцировки сперматогоний, контроль мейотических делений, управление спермиогенезом. Изучение их открывает новые перспективы в понимании регуляции клеточных функций. В **таблице** представлены клинически значимые miRNA-кластеры мужского бесплодия [14, 15].

Следует подчеркнуть, что различные механизмы регулирования целостности ДНК связаны с аномальной экспрессией многочисленных микроРНК. При этом каждая из них обладает несколькими целевыми молекулами и множеством сайтов связывания, иногда для одних и тех же или для различных микроРНК [16]. Дисфункция этих регуляторных механизмов напрямую связана с развитием различных форм патологии репродуктивной системы, включая полное отсутствие сперматозоидов (азооспермия), снижение концентрации сперматозоидов (олигоспермия), нарушение подвижности половых клеток (астенозооспермия), аномалии морфологии сперматозоидов (тератозооспермия).

Изменения экспрессии микроРНК оказывают существенное влияние также и на качественные характеристики ооцитов, что подтверждается данными современных исследований [17]. Эти молекулы представляют собой важ-

ное звено в сложной системе регуляции репродуктивной функции как у мужчин, так и у женщин. В настоящее время микроРНК рассматриваются как эффективные модуляторы всех этапов репродуктивного процесса, включая гаметогенез, оплодотворение, имплантацию эмбриона, эмбриональное развитие и сохранение беременности [18].

Современные исследования выявили наличие трех основных источников РНК в сперматозоидах: остаточная РНК, продуцируемая яичками; РНК, переносимая эпидидимальными пузырьками, которые транспортируются в сперматозоиды, когда они находятся в эпидидимисе; РНК зрелых сперматозоидов, которая подвергается транскрипции *de novo* в самих гаметах [19].

Так, например, miR-34 имеет решающее значение для первого деления в зиготе и участвует в контроле апоптоза, что важно для поддержания баланса между пролиферацией и гибелью зародышевых клеток, а также необходимо для регуляции и дифференцировки сперматозоидов [20]. В то же время, miR-449a/b/c – критически важная молекула для мейоза, процесса деления клеток, приводящего к образованию гаплоидных сперматозоидов, активно участвует в ремоделировании хроматина, что необходимо для правильной упаковки ДНК в сперматозоидах [21]. Идентифицирован также локус miR-21, непосредственно участвующий в стимулировании и пролиферации клеток Сертоли – соматических клеток, обеспечивающих питание и поддержку развивающихся сперматозоидов, влияя на микроокружение семенных канальцев.

MiR-135a участвует в обеспечении митохондриальной активности, регулируя энергетический метаболизм в сперматозоидах и их подвижность. Снижение экспрессии miR-135a, как правило, снижает подвижность сперматозоидов

Таблица/Table

Клинически важные кластеры miRNA мужского бесплодия**Clinically important miRNA clusters in male infertility**

miRNA	Хромосомная локализация / Chromosomal localization	Основные функции / Main functions	Ассоциированные патологии / Associated pathologies
miR-34b/c	11q23.1	Контроль апоптоза, дифференцировка / Control of apoptosis, differentiation	ОАТ-синдром (олигоастенотератозооспермия) / OAT syndrome (oligoasthenoteratozoospermia)
miR-449a/b/c	5q11.2	Мейоз, ремоделирование хроматина / Meiosis, chromatin remodeling	Азооспермия / Azoospermia
miR-21	17q23.1	Пролиферация клеток Сертоли / Sertoli cell proliferation	Секреторная недостаточность / Secretory insufficiency
miR-135a	12q23.1	Энергетический метаболизм / Energy metabolism	Астенозооспермия / Asthenozoospermia
miR-200c	12p13.31	Окислительный стресс / Oxidative stress	Идиопатическое бесплодие / Idiopathic infertility

из-за нарушения их энергетического обеспечения, приводя к астенозооспермии [22]. MiR-200c непосредственно контролирует окислительный стресс, защищая сперматозоиды от повреждения свободными радикалами, то есть обеспечивает их антиоксидантную защиту. При дисфункции miR-200c развивается бесплодие неясного генеза, связанное, вероятно, с окислительно-восстановительным дисбалансом.

Hua M. et al. идентифицировали пять вариантов микроРНК (miR-132-3p, miR-191-3p, miR-520a-5p, miR-101-3p и miR-29a-3p), которые могут служить потенциальными маркерами оценки качества спермы при ЭКО [23]. Установлено, что повышенная экспрессия miR-191-5p связана с большей вероятностью оплодотворения, качеством эмбрионов и лучшими показателями их развития. Это указывает на потенциальную роль miRNA как биомаркера для отбора высококачественных сперматозоидов при программировании ЭКО.

При полногеномном профилировании экспрессии микроРНК в образцах спермы хорошего качества было обнаружено 86 активированных и 21 подавленных miRNA по сравнению с образцами плохого качества [24]. MiR-34, 122, 20, 182 и 191 были среди активированных miRNA. Алгоритмы прогнозирования *in silico* предсказали, что miRNAs, повышенная регуляция которых наблюдается в сперме хорошего качества, нацелены на 910 генов, участвующих в ключевых биологических функциях сперматозоидов, таких как гибель и выживание клеток, подвижность, молекулярный транспорт, реакция на стимулы, метаболизм и регуляция окислительного стресса. Гены, нерегулируемые в сперме плохого качества, участвуют в росте и пролиферации клеток.

Заключение

Идиопатическое мужское бесплодие по-прежнему представляет собой одну из наиболее сложных и не до конца изученных проблем современной репродуктивной медицины. Несмотря на значительные достижения в области вспомогательных репродуктивных технологий, включая методы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), эта форма бесплодия продолжает оставаться серьезным препятствием для многих супружеских пар, мечтающих о рождении ребенка. Глубокая научная про-

работка молекулярных и генетических механизмов, лежащих в основе идиопатического бесплодия, имеет принципиально важное значение. Только всестороннее понимание этих процессов позволит разработать эффективные стратегии диагностики и лечения, что в конечном итоге повысит шансы бесплодных пар на успешное зачатие и рождение здорового потомства [4, 25, 26].

Современная андрология стоит на пороге революционных изменений в подходе к диагностике и лечению мужского бесплодия. Внедрение miRNA-технологий в клиническую практику позволит осуществить переход от эмпирической терапии к патогенетически обоснованному лечению, повысить эффективность ВРТ за счет точного прогнозирования результатов, разработать персонализированные схемы ведения пациентов, снизить экономическую нагрузку за счет оптимизации диагностических алгоритмов. Важными особенностями этого метода исследования являются его высокая тканевая специфичность (разные профили в норме и патологии); исключительная стабильность в биологических жидкостях; раннее появление при патологических процессах; неинвазивность метода (эякулят, кровь).

Для практикующих специалистов есть существенные основания рекомендовать:

- 1) включать оценку miRNA-профиля в комплексное обследование при идиопатическом бесплодии;
- 2) использовать miRNA-маркеры для прогноза эффективности ВРТ;
- 3) учитывать роль эпигенетических факторов при консультировании пар, планирующих рождение детей.

Перспективным направлением представляется также создание мультимаркерных панелей, сочетающих оценку традиционных параметров спермограммы с уровнем фрагментации ДНК и экспрессии ключевых miRNA. Это позволит персонализировать лечение мужского бесплодия и значительно повысить эффективность медицинской помощи супружеским парам. Дальнейшие исследования в этом направлении обеспечат не только улучшение понимания фундаментальных механизмов репродукции, но и кардинально изменят подходы к лечению бесплодия, открывая новые возможности для миллионов пар во всем мире.

Литература

(п.п. 1–6; 8–12; 14–26 см. References)

7. Галимов Ш.Н., Ахметов Р.М., Галимова Э.Ф., Байрамгулов Ф.М., Биккулова Л.Р. Молекулярные аспекты влияния комплекса Сперотон на мужскую фертильность при идиопатическом бесплодии. *Урология*. 2017; 2: 88–92. <https://dx.doi.org/10.18565/urol.2017.2.88-92>
13. Громенко Ю.Ю., Громенко И.Д., Галимова С.Ш., Галимова Э.Ф., Громенко Д.Д., Булыгин К.В. и др. Роль и место микроРНК в патогенезе бесплодия. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2023; 22(6): 65–72. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2023-6-65-72>

References

- Cox C., Thoma M., Tchangalova N., Mburu G., Bornstein M., Johnson C., et al. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open*. 2022; 2022(4): hoac051. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>
- Sun H., Gong T., Jiang Y., Zhang S., Zhao Y., Wu QJ. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990–2017: results from a global burden of disease study, 2017. *Aging (Albany NY)*. 2019; 11(23): 10952–991. <https://doi.org/10.18632/aging.102497>
- Ferlin A., Garolla A., Ghezzi M., Selice R., Palego P., Caretta N., et al. Sperm Count and Hypogonadism as Markers of General Male Health. *Eur Urol Focus*. 2021; 7(1): 205–13. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2019.08.001>
- Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho C., Henkel R., Vij S. Male infertility. *Lancet*. 2021; 397(10271): 319–33. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32667-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2)
- Levine H., Jørgensen N., Martino-Andrade A., Mendiola J., Weksler-Derri D., Jolles M., et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Hum Reprod Update*. 2023; 29(2): 157–76. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac035>
- Esteves S. Are specialized sperm function tests clinically useful in planning assisted reproductive technology? *Int Braz J Urol*. 2020; 46(1): 116–23. <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IB-JU.2020.01.03>
- Galimov Sh.N., Akhmetov R.M., Galimova E.F., Bairamgulov F.M., Bikkulova L.R. Molekular aspekt of the impact of the speron complex on the male fertility in idiopathic infertility. *Urologiya*. 2017; 2: 88–92. <https://dx.doi.org/10.18565/urol.2017.2.88-92> (in Russian)
- Lin H., Wu M., Wu W., Tsai L., Chen Y., Hung K. Incorporating sperm DNA fragmentation index with computer-assisted semen morphokinematic parameters as a better window to male fertility. *Chin J Physiol*. 2022; 65(3): 143–50. https://doi.org/10.4103/CJP.CJP_12_22
- Aghazarian A., Huf W., Pflüger H., Klatte T. Standard Semen Parameters vs. Sperm Kinematics to Predict Sperm DNA Damage. *World J Mens Health*. 2021; 39(1): 116–22. <https://doi.org/10.5534/wjmh.190095>
- Wagner A., Turk A., Kunej T. Towards a Multi-Omics of Male Infertility. *World J Mens Health*. 2023; 41(2): 272–88. <https://doi.org/10.5534/wjmh.220186>
- Daneshmandpour Y., Bahmanpour Z., Hamzeiy H., Mazaheri Moghaddam M., Mazaheri Moghaddam M., Khademi B., et al. MicroRNAs association with azoospermia, oligospermia, asthenozoospermia, and teratozoospermia: a systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2020 Apr; 37(4): 763–75. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01674-9>
- Mokánszki A., Molnár Z., Varga Tóthné E., Bodnár B., Jakab A., Bálint B., et al. Altered microRNAs expression levels of sperm and seminal plasma in patients with infertile ejaculates compared with normozoospermic males. *Hum Fertil Camb Engl*. 2020; 23(4): 246–55. <https://doi.org/10.1080/14647273.2018.1562241>
- Gromenko Yu.Yu., Gromenko I.D., Galimova S.Sh., Galimova E.F., Gromenko D.D., Bulygin K.V., et al. Role and place of microRNAs in the pathogenesis of infertility. *Voprosy Ginekologii, Akusherstva i Perinatologii*. 2023; 22(6): 65–72. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2023-6-65-72> (In Russian)
- Barbu M., Thompson D., Suciu N., Voinea S., Cretoiu D., Predescu D. The Roles of MicroRNAs in Male Infertility. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(6): 2910. <https://doi.org/10.3390/ijms22062910>
- Joshi M., Sethi S., Mehta P., Kumari A., Rajender S. Small RNAs, spermatogenesis, and male infertility: a decade of retrospect. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023; 21(1): 106. <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01155-w>
- Xie Y, Wu C, Chen W, Wu Z, Cai G, Hong L. Extracellular vesicles-encapsulated microRNA in mammalian reproduction: A review. *Theriogenology*. 2023; 196: 174–85. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.11.022>
- Abdulmonem W., Ahsan M., Mallick A., Mohamed A., Waggiallah H., Shafie A., et al. The Role of Exosomal miRNAs in Female Infertility: Therapeutic Potential and Mechanisms of Action. *Stem Cell Rev Rep*. 2025. <https://doi.org/10.1007/s12015-025-10869-w>
- Alibakhshi R., Soleimani M., Yari K., Kalhori A., Karami M., Kalhori M. Role of miRNA polymorphisms on male and female infertility and recurrent implantation failure. *J Obstet Gynaecol Res*. 2025; 51(4): e16281. <https://doi.org/10.1111/jog.16281>
- Santiago J., Silva J., Howl J., Santos M., Fardilha M. All you need to know about sperm RNAs. *Hum Reprod Update*. 2021; 28(1): 67–91. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab034>
- Momeni A., Najafipour R., Hamta A., Jahani S., Moghbelinejad S. Expression and Methylation Pattern of hsa-miR-34 Family in Sperm Samples of Infertile Men. *Reprod Sci*. 2020; 27(1): 301–8. <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00025-4>
- Pantos K., Grigoriadis S., Tomara P., Louka I., Maziotis E., Pantou A., et al. Investigating the Role of the microRNA-34/449 Family in Male Infertility: A Critical Analysis and Review of the Literature. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 709943. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.709943>
- Li W., Zhang L., Yin X., Yu T. Expression of miR-135a-5p and its target gene JAK2 in spermatozoa of patients with asthenozoospermia. *Andrologia*. 2021; 53(11): e14214. <https://doi.org/10.1111/and.14214>
- Hua M., Liu W., Chen Y., Zhang F., Xu B., Liu S., et al. Identification of small non-coding RNAs as sperm quality biomarkers for in vitro fertilization. *Cell discovery*. 2019; 5(1): 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41421-019-0087-9>
- Cassuto N., Boitrelle F., Mouik H., Larue L., Keromnes G., Lédée N., et al. Genome-Wide microRNA Expression Profiling in Human Spermatozoa and Its Relation to Sperm Quality. *Genes (Basel)*. 2025; 16(1): 53. <https://doi.org/10.3390/genes16010053>
- Galimov Sh.N., Gromenko J.Y., Bulygin K.V., Galimov K.Sh., Galimova E.F., Sinelnikov M.Y. The level of secondary messengers and the redox state of NAD⁺/NADH are associated with sperm quality in infertility. *J Reprod Immunol*. 2021; 148: 103383. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2021.103383>
- Burgos C., Cikutovic R., Alarcón M. MicroRNA expression in male infertility. *Reprod Fertil Dev*. 2022; 34(12): 805–18. <https://doi.org/10.1071/RD21131>

Сведения об авторах:

Галимов Камиль Шамилович, канд. мед. наук, ассистент каф. патофизиологии, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

Литвицкий Петр Францевич, чл.-корр. РАН, доктор мед. наук, профессор каф. патофизиологии, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

Галимова Эльмира Фанисовна, доктор мед. наук, доцент, проф. каф. патологической физиологии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Рахимова Камила Халиловна, студентка, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

Галимов Шамиль Нариманович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. биологической химии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

© Коллектив авторов, 2026
УДК 616-092

Волкова С.В.¹, Бурденный А.М.^{1,2}, Лукина С.С.¹, Брага Э.А.¹, Логинов В.И.¹

Критическая роль aberrантного метилирования ДНК и длинных некодирующих РНК в патогенезе меланомы

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

²ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, 119334, Москва, Россия, ул. Косыгина, д. 4

Предпосылки и цели: злокачественная меланома является наиболее летальным типом рака кожи с высоким уровнем смертности, с присущей ей способностью проникать в другие органы и ткани. Хотя современные варианты лечения обеспечивают хорошую клиническую картину, вовлечение в развитие меланомы кожи aberrантного эпигенетического ландшафта (например, изменения в паттернах метилирования ДНК и/или экспрессии некодирующих РНК), в дополнение к генетическому фону также связано с возникновением и прогрессированием меланомы, а также устойчивостью к противоопухолевым препаратам. **Целью** настоящего обзора является обобщение новых тенденций и важных нерешенных вопросов в области aberrантного метилирования ДНК и изменения уровня экспрессии некодирующих РНК, в том числе и днРНК, при меланоме. Мы тщательно обобщили результаты в попытке предоставить основу для понимания текущего состояния проблемы в этой области. Для обеспечения ясности мы выделили в обзоре ряд ключевых факторов изменения метилирования ДНК при меланоме, а также изменения уровня экспрессии днРНК. Мы надеемся, что этот обзор будет способствовать ускорению использования диагностического, прогностического и терапевтического потенциала метилирования ДНК и днРНК на благо пациентов с меланомой.

Методика. Проведён анализ международных результатов исследований о значимой роли эпигенетических механизмов в развитии меланомы. В настоящей работе, исходя из полученных материалов, составлено три раздела, в каждом из которых представлен отдельный механизм или группа процессов, лежащих в основе злокачественной трансформации клеток кожи и изложены возможные предпосылки к такой трансформации.

Результаты. Нарушение системных процессов, способных вызвать дисбаланс в регуляции каскада взаимодействующих факторов играет ключевую роль в развитии злокачественной трансформации. Согласно представленным результатам, процессы метилирования/деметилирования и факторы регуляции этих процессов, в частности, днРНК и гены, их кодирующие, являются ключевыми элементами, способными вызвать необратимые изменения во внутреннем гомеостазе эпителиальных клеток кожи и приводящие к формированию меланомы.

Заключение. Выявление и составление базы aberrантных событий, таких как изменение статуса, уровня и профиля метилирования и/или экспрессии днРНК, приводящих к развитию меланомы, представляется первым и ключевым этапом в понимании эпигенетической картины изменений, происходящих при развитии этого типа злокачественного новообразования. Необходимо чётко и ясно понимать, является ли aberrантное метилирование генов и/или аномальная экспрессия их регуляторов драйверным или сопутствующим процессом при развитии меланомы. Это необходимо не только при скрининге пациентов, но и при составлении индивидуальной карты терапии для каждого пациента. Поэтому так необходимо проводить таргетный поиск возможных маркеров злокачественной трансформации, чтобы повысить эффективность лечения разных случаев этого типа опухоли.

Ключевые слова: меланома кожи; метилирование ДНК; длинные некодирующие РНК; экспрессия генов

Для цитирования: Волкова С.В., Бурденный А.М., Лукина С.С., Брага Э.А., Логинов В.И. Критическая роль aberrантного метилирования ДНК и длинных некодирующих РНК в патогенезе меланомы: от диагностики к терапии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2026; 70(1): 160–180.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.160–180

Участие авторов: концепция и руководство работой – Волкова С.В., Логинов В.И., Бурденный А.М., Брага Э.А.; анализ и подбор материалов, написание текста – Логинов В.И., Бурденный А.М., Лукина С.С.; редактирование текста статьи и утверждение финальной версии манускрипта – все авторы.

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

Финансирование. Обзорное исследование выполнено в рамках государственного задания № FGfU-2025-0010.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.11.2025

Принята к печати 29.01.2026

Опубликована 27.03.2026

Volkova S.V.¹, Burdenny A.M.^{1,2}, Lukina S.S.¹, Braga E.A.¹, Loginov V.I.¹

The Critical Role of Aberrant DNA Methylation and Long Non-Coding RNAs in Melanoma Pathogenesis

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

²N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, 4 Kosygin St., Moscow, 119334, Russian Federation

Background and Aims. Malignant melanoma is the most lethal form of skin cancer, characterized by a high mortality rate and an inherent ability to metastasize to distant organs and tissues. Although current therapeutic approaches yield favorable clinical outcomes, the involvement of an aberrant epigenetic landscape – such as altered DNA methylation patterns and/or dysregulated non-coding RNA expression – in addition to the genetic background, has been linked to melanoma initiation, progression, and resistance to anticancer therapy. The aim of this review is to summarize emerging trends and unresolved issues regarding aberrant DNA methylation and non-coding RNA dysregulation, including long non-coding RNAs (lncRNAs), in melanoma. We have comprehensively analyzed recent data to provide a foundation for understanding the current state of research in this area. For clarity, the review highlights several key factors involved in DNA methylation changes and alterations in lncRNA expression in melanoma. We hope that this work will contribute to accelerating the translation of DNA methylation and lncRNA research into diagnostic, prognostic, and therapeutic applications for melanoma patients.

Methods. An analysis of international research data on the role of epigenetic mechanisms in melanoma development was conducted. Based on the reviewed materials, the article is divided into three sections, each addressing a distinct mechanism or group of processes underlying the malignant transformation of skin cells and the potential prerequisites for such transformation. Only studies providing convincing evidence of pathway involvement in melanoma pathogenesis were included.

Results. Disruption of systemic regulatory processes that maintain the balance of interacting molecular cascades plays a pivotal role in malignant transformation. According to the summarized findings, the processes of DNA methylation and demethylation, along with their regulatory factors – particularly long non-coding RNAs and their associated genes – represent key elements capable of inducing irreversible disturbances in the homeostasis of epithelial skin cells, ultimately leading to melanoma formation.

Conclusion. Identifying and cataloguing aberrant events – such as alterations in DNA methylation status, level, and profile, and/or changes in lncRNA expression – that contribute to melanoma development represent a critical first step toward understanding the epigenetic landscape of this malignancy. It is essential to clearly determine whether aberrant gene methylation and/or abnormal expression of their regulators act as *driver* or *passenger* processes in melanoma progression. This distinction is crucial not only for patient screening but also for the development of individualized therapeutic strategies. Therefore, targeted searches for potential biomarkers of malignant transformation are necessary to improve the effectiveness of treatment approaches for various melanoma cases.

Keywords: cutaneous melanoma; DNA methylation; long non-coding RNAs; gene expression

For citation: Volkova S.V., Burdenny A.M., Lukina S.S., Braga E.A., Loginov V.I. The Critical Role of Aberrant DNA Methylation and Long Non-Coding RNAs in Melanoma Pathogenesis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2026; 70(1): 160–180. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2026.01.160-180

Author contributions: study concept and supervision – Volkova S.V., Loginov V.I., Burdenny A.M., Braga E.A.; material selection, data analysis, and manuscript preparation – Loginov V.I., Burdenny A.M., Lukina S.S.; manuscript editing and approval of the final version – all authors.

For correspondence: Alexey M. Burdenny, e-mail: burdenny@gmail.com

Information about the authors:

Volkova S.V., <https://orcid.org/0009-0002-7293-9079>

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

Lukina S.S., <https://orcid.org/0000-0001-6246-2444>

Braga E.A., <https://orcid.org/0000-0001-5188-4094>

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

Funding. This review was supported by the state assignment No FGFU-2025-0010.

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

Received 07.11.2025

Accepted 29.01.2026

Published 27.03.2026

Введение

Меланома – злокачественная опухоль кожи, возникающая из меланоцитов, пигментообразующих клеток кожи [1]. Она является пятым по распространенности видом рака у мужчин и женщин. Меланома встречается реже, но является более опасной, чем другие опухоли кожи [https://www.skincancer.org/ru/skin-cancer-information/skin-cancer-facts, последнее обновление январь 2025 г.]. Она характеризуется частым развитием метастазов, и высокой частотой рецидивов после лечения, составляя 73% смертей, связанных с раком кожи на поздней стадии заболевания [2]. Ранняя диагностика меланомы имеет решающее значение для прогноза и выживаемости пациента, поскольку 5-летняя выживаемость при локализованной меланоме на ранней стадии составляет 99%, снижаясь до 65% при регионарной болезни и всего лишь 27% при метастатических меланоммах [3].

Несмотря на неоспоримое улучшение показателей выживаемости, которое произошло благодаря использованию новых препаратов, более половины пациентов с метастазами умирают от меланомы в течение 5 лет [4]. Устойчивость к терапии является основной причиной прогрессирования заболевания и, в конечном итоге, смерти [5]; поэтому отсрочка или преодоление резистентности является важным клиническим требованием для пациентов с запущенной меланомой. За последние десятилетия исследования внутренних механизмов меланомогенеза и последующее открытие новых потенциальных мишеней произвели революцию в понимании механизмов развития этого заболевания.

Меланома имеет самую высокую мутационную нагрузку среди всех видов рака, частично приписываемую повреждению ДНК, вызванному УФ-излучением, и подразделяется на четыре генетических подтипа: (1) подтип B-Raf протоонкогена серин/треонин-киназы (BRAF) (50%), определяемый соматическими мутациями BRAF, нацеленными на аминокислотный остаток V600 (V600E-V600K-V600R); (2) подтип Ras протоонкогена ГТФазы (RAS) (25%), включающий известные повреждающие замены аминокислот во всех трех членах семейства RAS (NRAS, KRAS и HRAS), чаще всего NRAS; (3) подтип нейрфибромина 1 (NF1) (15%), определяемый наличием инактивирующих мутаций в отрицательном регуляторе NF1 пути передачи сигнала Ras; и (4) тройной подтип дикого типа (10%), описанный как гетерогенная подгруппа, характеризующаяся отсутствием мутаций в BRAF, NRAS, KRAS, HRAS или NF1. В этом подтипе было обнаружено несколько мутаций COSMIC (*Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*), включая известные «драйверы» увеальной меланомы KIT, GNAQ и GNA11, а также CTNNB1 и EZH2 [6].

Меланомогенез представляет собой сложный процесс, включающий последовательное накопление соматических мутаций [7]. Примечательно, что мутации BRAF или NRAS часто являются взаимоисключающими [8]. Мутация BRAF V600E обнаруживается в 80% доброкачественных невусов, что позволяет предположить, что она также функционирует как мутация, инициирующая рак [9]. Напротив, мутации NRAS или мутации BRAF V600K, или K601E чаще связаны с переходными случаями меланомы, в которых уже накопились другие патогенные мутации [8]. Приобретение инвазивного потенциала коррелирует с накоплением мутаций, затрагивающих определенный набор генов, включая гены, контролирующие клеточный цикл (*CDKN2A*), гены ремоделирования хроматина (*ARID1A*, *ARID1B*, *ARID2*) и гены, кодирующие субъединицы SWI/SNF. Наконец, распространение метастазов при меланоме часто связано с инактивирующими мутациями в генах-супрессорах опухолей *PTEN* или *TP53* [8]. Метастазы меланомы также характеризуются дальнейшим увеличением числа мутаций в опухоли и изменениями числа копий гена, в основном затрагивая пути MAPK, фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), протеинкиназы B (AKT), мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR), янус-киназы (JAK) и сигнального трансдуктора и активатора транскрипции (STAT) [7, 8].

Однако возникновение и развитие меланомы не всегда следует единой эволюционной картине накопления мутаций драйверных генов и последовательно включает негенетические изменения, включая транскрипционное и трансляционное перепрограммирование [10]. Действительно, распространение метастазов включает сложные взаимодействия между клетками меланомы, внутренними факторами «ткани-хозяина» и популяциями стромальных клеток. Соответственно, злокачественная меланома наделена высокими уровнями внутриопухолевой гетерогенности и внутренней пластичности, которые позволяют клеткам меланомы менять фенотипы и адаптироваться к изменяющейся и сложной окружающей среде.

Этот обзор посвящен эпигенетике, подчеркивает старые и приводит новые доказательства относительно роли метилирования ДНК, ремоделирования хроматина и не кодирующих РНК в патогенезе меланомы и их влияния на новые подходы к лечению.

Методика

Был проведен анализ литературы из базы данных PubMed [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov] с использованием ключевых слов «меланома» и «эпигенетический».

Эпигенетическая регуляция при меланоме

Эпигенетические модификации определяются как наследуемые изменения в экспрессии генов, которые происходят без изменения последовательности ДНК [11]. Эпигенетические модификации включают три группы изменений, а именно: метилирование цитозина ДНК, с образованием 5-метилцитозина; ремоделирование хроматина, в основном достигаемое посредством модификации гистонов, такой как ацетилирование, метилирование и фосфорилирование; и изменение уровней экспрессии некодирующей РНК (нкРНК), в том числе микроРНК (миРНК) и длинных некодирующих РНК (днРНК) (**рис. 1**). Отмечено, что эпигенетические механизмы являются неотъемлемой частью многих физиологических и патофизиологических состояний, включая рак, а также служат «маяком» клеточной идентичности, во многом определяя судьбу клеток и активность генов [12]. Так, в классификации генов, ассоциированных с развитием рака, было предложено выделять эпигенетические модуляторы, эпигенетические модификаторы и эпигенетические медиаторы. Все эти гены вовлечены в различные этапы онкогенеза, включая образование метастазов. Следует отметить, что к модификаторам относят гены, напрямую влияющие на эпигеном, к медиаторам – мишени модификаторов, а к модуляторам – те гены, которые вовлекаются в системные процессы эпигенетической модификации на определенных этапах [13].

Таким образом, формируется уникальный фенотип любой неопластической клетки, включая и клетки при меланоме. Исследования не только показали различные транскрипционные состояния, связанные с фенотипом, но и раскрыли важность пластичности фенотипа в развитии метастазов, а также лекарственной устойчивости как к таргетной, так и к иммунотерапии [14].

В нашем обзоре мы сфокусировались на обсуждении двух обширных и значимых механизмов, вовлеченных в развитие меланомы: метилирование ДНК и изменение экспрессии днРНК.

Метилирование ДНК при меланоме.

Метилирование ДНК является системной эпигенетической модификацией, возникающей в результате ковалентного переноса метильной группы ($-\text{CH}_3$) к пятому положению пиримидинового кольца нуклеотида цитозина (5-метилцитозина, 5-mC) в цепи ДНК под действием ДНК-метилтрансфераз (DNMT) [15]. Метилирование ДНК может происходить в любом нуклеотиде цитозина в геноме, но его распределение не является случайным и в основном ограничивается так называемыми динуклеотидами CpG. CpG более распространены в промоторных областях генов, где они формируют CpG-островки. В нормальных условиях метилирование ДНК охватывает весь геном, за исключением коротких неметилированных об-

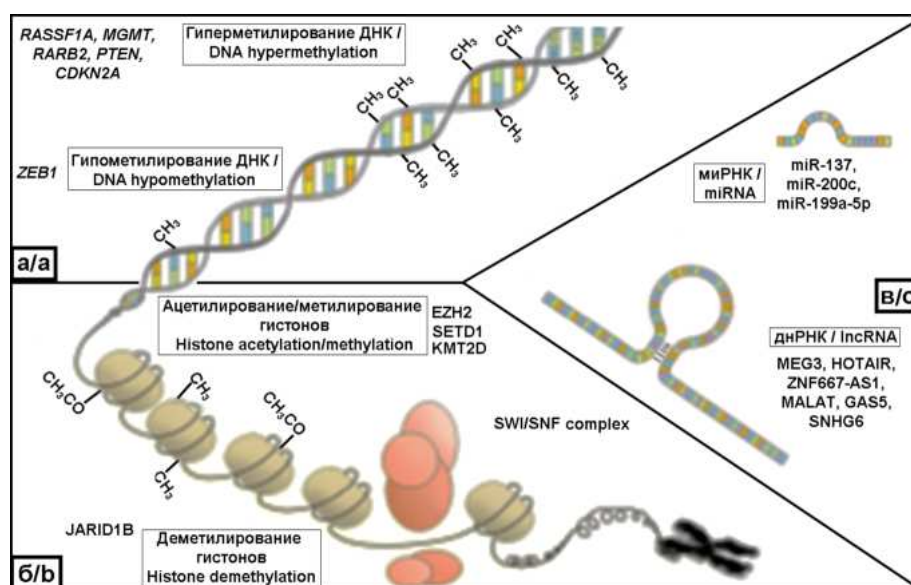


Рис. 1. Основные эпигенетические механизмы, участвующие в возникновении и прогрессировании меланомы (жирный текст), с которыми примерами изменений для каждого механизма. (а) Статус метилирования ДНК; (б) Ремоделирование хроматина; (в) Некодирующая РНК. Сокращения: миРНК, микроРНК; днРНК, длинная некодирующая РНК.

Fig. 1. Major epigenetic mechanisms involved in the initiation and progression of melanoma (bold text), with selected examples of alterations for each mechanism. (a) DNA methylation status; (b) Chromatin remodeling; (c) Non-coding RNA. Abbreviations: miRNA, microRNA; lncRNA, long non-coding RNA.

ластей в пределах CpG-островков. Нарушение механизмов метилирования ДНК при раке характеризуется в основном гиперметилированием CpG-островков в промоторах генов-супрессоров опухоли, в частности, на ранних этапах, и/или глобальной потерей метилирования ДНК. Гипометилирование может привести к активации протоонкогенов, хромосомной нестабильности, лекарственной устойчивости, потере геномного импринтинга и реактивации мобильных элементов [16].

Было показано, что гиперметилирование CpG-островков в промоторных областях влияет на гены, участвующие в регуляторных цепях, которые контролируют пролиферацию и гомеостаз клеток, позволяя злокачественным клеткам поддерживать свой аномальный рост [17]. Гиперметилирование промоторов, ассоциированное с раком, может затрагивать от 5 до 10% промоторов, содержащих CpG-островки [18]. Эти события справедливы для многих видов рака человека, включая меланому [19].

В частности, аберрантное метилирование ДНК является отличительным эпигенетическим признаком меланомы, и многие исследования показывают, что оно играет важную роль как в формировании, так и в прогрессировании этого вида рака [20]. Также возникновение и прогрессирование меланомы связаны с потерей экспрессии генов-супрессоров опухоли и активацией онкогенов [21]. В целом, эти изменения могут быть вызваны одной или несколькими причинами, в частности изменением активности ферментов DNMT, включая гиперэкспрессию последних, аномальным сплайсингом, а также измененной экспрессией белков-«скаффолдеров» и/или нарушением в работе метил-цитозин-ди-оксигеназ ten-eleven translocation (TET), которые участвуют в пути деметилирования [15].

Причина возникновения аберрантного метилирования ДНК при меланоме остается неясной, но все больше данных свидетельствуют о том, что этот процесс может зависеть от нарушенной регуляции пролиферативных сигнальных путей, в частности PI3K/AKT, MAPK и др. [20, 21]. Однако независимо от их синергических или независимых действий, ослабление контроля за регуляцией клеточных процессов, их длительная и неконтролируемая активация связана с развитием злокачественной трансформации, а именно с аномальной пролиферацией, инвазией и последующим метастазированием.

В частности, показано, что при раке желудка большая часть генов-супрессоров, подавляющих PI3K – сигнальный путь, инактивирована посредством метилирования. Похожие результаты получены и при исследовании меланомы [21, 22]. В регуляции метилирования показано участие и других сигнальных путей [23]. Также отме-

чено участие ключевого гена метилирования DNMT3B в регулировании пролиферативных сигналов в клетке [24, 25]. Помимо прямого участия метилирования в развитии злокачественной трансформации, не исключено опосредованное влияние на изменение экспрессии других генов, которые также могут способствовать прогрессии опухоли [12]. Так, при исследовании возможных маркеров, вовлеченных в развитие и прогрессию меланомы, среди 83 дифференциально метилированных генов было отобрано 6 генов, экспрессия которых зависела от метилирования их промоторных областей. Авторы исследования предполагают драйверное участие этих генов в развитии и прогрессии этого типа рака [26].

Подавление генов-супрессоров опухолей

Говоря о дифференциально метилированных или экспрессирующихся генах, требуется определить характер этого изменения. Список потенциальных маркеров, ассоциированных с развитием меланомы, постоянно растёт (**табл.**). В частности, некоторые из них способствуют прогрессированию меланомы и связаны с агрессивными клинико-патологическими признаками и более низкой выживаемостью [27–61].

Среди наиболее изученных маркеров, связанных с развитием различных видов рака, мы решили сфокусироваться на тех из них, которые были исследованы экспериментально в нашей лаборатории, как по характеру изменения уровня метилирования, как одного из значимых факторов злокачественной трансформации и прогрессии, так и по изменению уровня экспрессии, как ещё одного значимого фактора, на который может влиять аберрантное метилирование.

В частности, для гена *RASSF1(A)* было обнаружено гиперметилирование в образцах опухолей меланомы, что коррелировало с потерей экспрессии его мРНК. Стоит отметить, что при воздействии 5-аза-2'-дезоксцитидином его экспрессия восстанавливалась [62]. Стоит отметить, что ген *RASSF1* (*Ras-association domain family 1*), расположенный в области 3p21.3, содержит восемь экзонов и даёт начало восьми различным транскриптам, от *RASSF1(A)* до *RASSF1(H)*, посредством альтернативного сплайсинга и двух различных промоторов [63]. Опухолевый супрессор *RASSF1(A)* представляет собой белок, связанный с агрегацией микротрубочек и участвующий в клеточной сигнализации. Этот белок расположен в центре сложной сигнальной сети, которая включает ключевые регуляторы клеточного гомеостаза, такие как RAS, MST2/Hippo, p53, рецепторы смерти и другие сигнальные пути (**Рис. 1 а/а**). Показано, что *RASSF1(A)* участвует в ингибировании пролиферации клеток, а также вов-

Таблица / Table

Основные эпигенетические изменения, происходящие при меланоме: модификация статуса метилирования, нарушение ремоделирования хроматина, длинные некодирующие РНК

Common epigenetic alterations in melanoma pathogenesis: changes in methylation status and chromatin remodelling long non coding RNAs

Класс эпигенетических изменений / Class of epigenetic changes	Тип эпигенетического изменения / Type of epigenetic change	Ген / Gene	Функции и процессы протекающие в клетках меланомы / Functions and processes in melanoma cells	Ссылка / Reference
Модификация статуса метилирования / Modification of methylation status	Гиперметилирование / Hypermethylation	PTEN	Ингибитор PI3K сигнального пути; до 62% образцов меланомы метилированы; независимый плохой прогностический фактор / PI3K pathway inhibitor; up to 62% of melanoma samples are methylated; independent poor prognostic factor	[27]
		APC	До 17% образцов ткани меланомы метилировано; снижение экспрессии увеличивает потенциал пролиферации клеток меланомы. Метилирование обнаружено в метастазах меланомы в мозг. / Up to 17% of melanoma tissue samples are methylated; decreased expression increases proliferative potential of melanoma cells. Methylation detected in brain metastases.	[27]
		CDKN2A	До 27% образцов ткани меланомы метилировано; нарушение регуляции клеточного цикла / Up to 27% of melanoma samples methylated; cell cycle dysregulation	[27]
		RASSF1A	До 55% образцов ткани меланомы метилировано; может предсказать реакцию пациентов IV стадии на биохимиотерапию. Обнаружен в метастазах меланомы в мозг. / Up to 55% of melanoma samples methylated; may predict response to biochemotherapy in stage IV patients. Detected in brain metastases.	[27]
		MGMT	До 35% образцов ткани меланомы метилировано / Up to 35% of melanoma samples methylated	[28]
		DAPK	Обнаружено у 20% пациентов с кожной меланомой; эпигенетическое подавление – распространенный механизм опухолеобразования / Detected in 20% of cutaneous melanoma patients; epigenetic silencing is a common tumorigenic mechanism	[29]
		RARB2	До 35% образцов ткани меланомы метилировано; коррелирует с толщиной по Бреслоу; ключевой фактор трансформации и прогрессии; обнаружено в метастазах мозга / Up to 35% methylated; correlates with Breslow thickness; key factor in transformation and progression; detected in brain metastases	[27]
		PD-L1	Снижение экспрессии коррелирует с более короткой общей выживаемостью / Decreased expression correlates with shorter overall survival	[30]
		MITF	Тело гена гиперметилировано в первичных опухолях по сравнению с метастазами / Gene body hypermethylated in primary tumors compared to metastases	[31]
		FES	Подавление экспрессии коррелирует с плохой общей выживаемостью / Suppressed expression correlates with poor overall survival	[32]
		CLDN11	Уровень метилирования может использоваться для различия меланомы и невусов / Methylation level may distinguish malignant melanoma from nevus cells	[33]

Класс эпигенетических изменений / Class of epigenetic changes	Тип эпигенетического изменения / Type of epigenetic change	Ген / Gene	Функции и процессы протекающие в клетках меланомы / Functions and processes in melanoma cells	Ссылка / Reference
	Гипометилирование / Hypomethylation	DSS1	Повышенная экспрессия связана с метастазами, изъязвлением и снижением выживаемости; биомаркер неблагоприятного прогноза / Overexpression associated with metastases, ulceration and reduced survival; poor prognosis biomarker	[34]
		LINE-1	Высокий уровень деметилирования коррелирует с поздними стадиями и худшим прогнозом / High demethylation correlates with late stages and poor prognosis	[35]
		ZEB1	Высокая экспрессия в меланомах с мутацией NRAS Q61 связана с выживаемостью / High expression in NRAS Q61-mutant melanoma associated with survival	[36]
		TKTL1	Увеличивает метастатический потенциал через усиление эффекта Варбурга / Increases metastatic potential by enhancing the Warburg effect	[37]
Нарушение ремоделирования хроматина / Chromatin remodeling dysfunction	Гипоацетилирование гистонов / Histone hypoacetylation	BCL2	Снижение регуляции антиапоптотических белков / Downregulation of anti-apoptotic proteins	[38]
	Гиперметилирование гистонов / Histone hypermethylation	EZH2	Высокая скорость пролиферации и агрессивные подгруппы опухолей / High proliferation rate and aggressive tumor subgroups	[39]
		SETDB1	Ускорение возникновения меланомы / Accelerated melanoma development	[40]
		KMT2D	Участие в меланомогенезе / Involvement in melanomagenesis	[41]
		JARID1B	Рост опухоли и лекарственная устойчивость / Tumor growth and drug resistance	[42]
	Распознавание модификации хроматина / Recognition of chromatin modification	BRD2 и BRD4 / BRD2 and BRD4	Ингибирование апоптоза и нарушение регуляции клеточного цикла / Inhibition of apoptosis and cell cycle dysregulation	[43]
	Регуляция комплекса SWI/SNF / Regulation of SWI/SNF complex	Гены семейства ARID / ARID family genes	Потеря способности восстанавливать двухцепочечные разрывы ДНК и пиримидиновые димеры / Loss of ability to repair DNA double-strand breaks and UV-induced pyrimidine dimers	[44]
		ATRX	Прогрессирование меланомы / Melanoma progression	[45]
	Регуляция комплекса NURF / Regulation of NURF complex	BPTF	Нарушение программ экспрессии генов / Disruption of gene expression programs	[46]
Длинные некодирующие РНК / Long non-coding RNAs	Гиперэкспрессия / Overexpression	HOTAIR	Изменение структуры хроматина / Altered chromatin structure	[47]

Класс эпигенетических изменений / Class of epigenetic changes	Тип эпигенетического изменения / Type of epigenetic change	Ген / Gene	Функции и процессы протекающие в клетках меланомы / Functions and processes in melanoma cells	Ссылка / Reference
		MALAT1	Ингибирование апоптоза, стимуляция инвазии и метастазирования / Inhibition of apoptosis, stimulation of invasion and metastasis	[48]
		FOXD3-AS1	Увеличение пролиферации, инвазии и миграции через ось miR-325/MAP3K2 / Increased proliferation, invasion and migration via miR-325/MAP3K2 axis	[49]
		MEG3	Связана с низкой выживаемостью через ось miR-21/E-cadherin / Associated with low survival via miR-21/E-cadherin axis	[50]
		SNHG5	Рост и инвазия через ось miR-26a-5p/TRPC3 / Promotes growth and invasion via miR-26a-5p/TRPC3 axis	[51]
		MIAT	Пролиферация, миграция, инвазия и ЭМП; активация PI3K/AKT / Proliferation, migration, invasion and EMT; PI3K/AKT activation	[52]
		SNHG17	Пролиферация, миграция, инвазия; активация PI3K-AKT; низкая выживаемость / Proliferation, migration, invasion; PI3K-AKT activation; low survival	[53]
		DSCAM-AS1	Короткая общая выживаемость / Short overall survival	[54]
		ZFAS1	Миграция, инвазия и ЭМП; низкая выживаемость / Migration, invasion and EMT; low survival	[55]
		SNHG7	Распространение и миграция клеток / Cell dissemination and migration	[56]
	Инактивация экспрессии / Expression inactivation	MEG3	Рост и метастазирование через ось miR-499-5p/CYLD; активация WNT / Growth and metastasis via miR-499-5p/CYLD axis; WNT activation	[57]
		HAND2-AS1	Пролиферация, не ключевой регулятор метастазирования / Promotes proliferation, not a key metastasis regulator	[58]
		GAS5	Прогрессирование опухоли, снижение апоптоза и окислительного стресса; пролиферация, миграция и инвазия через GAS5/miR-137 / Tumor progression, reduced apoptosis and oxidative stress; proliferation, migration and invasion via GAS5/miR-137	[59, 60]
		FENDRR	Блокирует инвазию, пролиферацию и миграцию; активация JNK/c-Jun / Blocks invasion, proliferation and migration; JNK/c-Jun activation	[61]

лечён во внутренние и внешние апоптотические каскады. Дисрегуляция этих механизмов лежит, в частности, при развитии и прогрессии меланомы [62, 64].

Другой ген, связанный со злокачественной трансформацией клеток меланомы – *DAPK1* (*death-associated protein kinase*). Ген расположен на 9q34.1 и кодирует серин/треониновую киназу, принадлежащую к суперсемейству САМК (*calmodulin-regulated kinase*), которое также включает DRP-1 и ZIP-киназу (ZIPK). DAPK играет ключевую роль в опухолеобразовании, действуя как

один из регуляторов программируемой гибели клеток. Она необходима для апоптоза, вызванного множественными сигналами смерти, а также связана с активацией аутофагии [65]. Гиперметилирование гена *DAPK1* было обнаружено в образцах метастазирующих опухолей пациентов с меланомой III/IV стадии. Эпигенетическая инактивация гена *DAPK1*, наряду с инактивацией генов *RARB*, *RASSF1(A)* и *MGMT*, является одним из факторов образования опухолей при кожной меланоме. Это может быть связано с неспособностью DAPK подавлять клеточ-

ную трансформацию на ранних стадиях развития опухоли и ингибировать метастазы [66].

Для гена *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog gene*), расположенного на 10q23.31 и кодирующего фосфатазу, которая действует как отрицательный регулятор пути PI3K/Akt путем дефосфорилирования фосфатидилинозитол (3,4,5)-трифосфата (PIP3), важного внутриклеточного вторичного переносчика, необходимого для активации белка Akt-серин/треониновой киназы, участвующей в росте и выживании клеток, также показано участие в злокачественной трансформации клеток меланомы [67]. При меланоме гиперметилирование гена *PTEN* и конститутивная активация пути Akt способствуют прогрессированию опухоли [27, 68]. Так, в работе [27] с помощью метода MS-MLPA (*Methylation-Specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) было показано, что гиперметилирование ДНК наблюдалось у пациентов на III/IV стадии по сравнению с ранними стадиями, что приводило к снижению общей (ОВ) и безрецидивной выживаемости (DFS, *disease-free survival*).

Также представляет интерес ген ингибитора циклин-зависимой киназы 2A (*CDKN2A, cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*), расположенный в локусе 9p21.3. Этот ген кодирует два белка-супрессора опухолей p16INK4A и p14ARF, у которых часто сбивается программа тонкой настройки при раке человека, включая меланому. Эти два белка являются важными регуляторами Rb и p53 сигнальных путей. Основной функцией этих белков является подавление циклин-D-зависимых киназ 4/6 (CDK4 и CDK6), что препятствует фосфорилированию Rb и приводит к остановке клеточного цикла G₁/S и старению. При меланоме показано гиперметилирование промотора гена *CDKN2A* как при первичной, так и при метастатической опухоли, что приводило к прогрессии этого вида рака [69].

Важную роль в онкогенезе играет ген O6-метилгуанин ДНК-метилтрансферазы (*MGMT, O6-methylguanine DNA methyltransferase*), расположенный на 10q26.3 и кодирующий фермент, участвующий в восстановлении поврежденных гуаниновых нуклеотидов. Значимая роль белка состоит в защите клеток от цитотоксического действия путем переноса O⁶-метилгуанина, индуцируемого алкилирующими агентами, к себе, восстанавливая целостность структуры гуанина; этот механизм в нормальной клетке лежит в основе защиты от злокачественной трансформации. При этом в опухолевой клетке, в том числе при меланоме, этот механизм связан с развитием терапевтической устойчивости при лечении алкилирующими агентами, такими как темозоломид (TMZ) и дакарбазин (DTIC), широко используемыми при лечении как меланомы, так и глиобластомы [70, 71]. Для различных видов рака, в том чис-

ле и для меланомы, характер метилирования и экспрессии этого гена носит противоречивый характер. Тем не менее, в тех случаях, когда ген *MGMT* подавляется в результате метилирования ДНК во время онкогенеза, – это приводит к неэффективному восстановлению алкилированной ДНК и, как следствие, к повышенной чувствительности к алкилирующим агентам и снижению выживаемости опухоли [70]. В частности, показано, что при подавлении экспрессии *MGMT* и, как следствие, улучшенном ответе на терапию DTIC/TMZ, выживаемость без прогрессирования (PFS, *progression free survival*) у пациентов с меланомой IV стадии оказалась более длительной, чем у пациентов с меланомой III стадии, получавших региональное лечение мелфаланом. Все эти данные свидетельствуют о том, что статус метилирования *MGMT* может использоваться в качестве прогностического биомаркера благоприятной выживаемости у пациентов, получающих химиотерапию [66].

Ещё один ген – рецептор ретиноевой кислоты бета (*RARB, Retinoic Acid Receptor Beta*), расположенный на 3p24.2, участвует в регуляции дифференцировки, пролиферации и апоптозе клеток. Ген входит в суперсемейство ядерных рецепторов и кодирует одноименный ретиноид-индуцируемый белок-супрессор опухолей, а также в это семейство входят RAR α и RAR γ , которые экспрессируются по-разному во время развития ребенка и взрослой жизни [72]. Показано, что промотор этого гена часто гиперметилирован в клеточных линиях, тканях и сыворотке пациентов с меланомой. Авторы пришли к выводу, что подавление этого гена может быть ключевым эпигенетическим фактором в трансформации меланоцитов и прогрессировании первичного поражения. Эти результаты также были подтверждены в более позднем исследовании, где было обнаружено значительное снижение безрецидивной и общей выживаемостей при наличии гиперметилирования промоторного района гена *RARB* [27].

Деметилирование ДНК при меланоме

Важно отметить, что при меланоме, кроме гиперметилирования промоторных областей генов-супрессоров, наблюдается глобальное деметилирование, одним из наиболее распространенных маркеров, которого является наличие 5-гидроксиметилцитозина (5-hmC). При этом показано, что уровень этого продукта значительно снижен как в опухолевых клетках, так и в метастатических, тогда как в невусах его уровень значимо выше. К тому же показано, что изменение уровня 5-hmC значимо связано с безрецидивной и общей выживаемостью. Таким образом, этот факт может помочь в дифференциации злокачественных меланом от доброкачественных меланоцитарных образований. Другим важным фактором при анализе

различий между невусом и развитием меланомы, а также её прогрессией, может стать изменение уровня экспрессии двух значимых генов, вовлеченных в механизм деметилирования. Так, показано, что сниженная экспрессия IDH2 и/или TET2 при меланоме являлась фактором сниженного уровня 5-hmC. Эксперименты на клеточных линиях показали, что восстановление уровня экспрессии этих генов восстанавливало и уровень 5-hmC [73].

Тем не менее, текущее понимание роли деметилирования ДНК при меланоме, включая механизмы, связанные с образованием 5-hmC и его производных, находятся на стартовом уровне. Многие вопросы, связанные с прогрессией и метастазированием, и ролью метилирования/деметилирования в этих процессах до конца не ясны.

С целью прояснить некоторые из этих вопросов, было проведено исследование количественной оценки глобального уровня метилирования всего генома. Был проведен анализ уровня метилирования последовательностей элементов ретранспозонов, характеризующихся умением встраиваться в различные участки по всему геному. Эти элементы составляют около 20% всего генома и объединены в собирательный мотив *long interspersed nuclear element-1* (LINE-1). Этот мотив представляет собой суррогатный маркер глобального статуса метилирования. Другим мотивом, связанным с ретранспозицией, является *human endogenous retrovirus K* (HERV-K), который также заслуживает внимания для исследования изменений профиля метилирования. Результаты показали значимое снижение уровня метилирования обоих мотивов как при развитии меланомы, так и при её прогрессии, включая метастазирование, в сравнении с образцами невусов [74, 75].

Помимо глобального гипометилированного паттерна, наблюдаемого при меланоме, были идентифицированы специфические гипометилированные гены, которые коррелировали с исходом для пациента (табл.).

В частности, в поисковом исследовании дифференциально метилированных и экспрессированных генов и микроРНК авторы провели анализ драйверных мутаций таких генов, как *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, *GNAQ* и *GNAI1*, с целью оценить роль мутационного потенциала в развитии меланомы. Исследование показало, что гипометилирование было отличительным признаком меланом с мутацией *NRAS*^{Q61} [38]. При этом в настоящее время не разработан терапевтический подход для лечения меланом с мутацией в гене *NRAS*.

Различия в статусе метилирования между меланоцитами, невусами и меланомой

Значимым аспектом в патогенезе развития меланомы является сложность в составлении прогноза перехода не-

вуса к злокачественной форме и дальнейшей прогрессии, поскольку однозначного молекулярного механизма, запускающего процессы злокачественной трансформации, не изучено в полной мере. В проведенных исследованиях по поиску дифференциально метилируемых генов при меланоме удалось выявить более 200 генов, гипометилированных в опухоли и при этом гиперэкспрессирующихся, а также более 100 генов, экспрессионно подавленных и при этом гиперметилированных в этом виде рака. После проведения комплексного анализа и последующих отсечений удалось определить 7 генов, которые могли бы позволить осуществить прогноз злокачественной трансформации невуса в полноценную меланому. Так были построены профили метилирования для генов *CKS2*, *DTL*, *KIF2C*, *KPNA2*, *MYBL2*, *TPX2* и *FBL*. Известно, что эти гены вовлечены в различные клеточные процессы, критически важные для выживания и роста раковых клеток, включая клеточный цикл, пролиферацию, апоптоз, метаболизм, репарацию ДНК, сигнализацию PI3K/mTOR, метастазирование и иммунный ответ. Авторы предполагают, что статус метилирования этих генов может помочь в дифференциальной диагностике злокачественной меланомы [76–83]. В другом исследовании, проведенном на 40 дифференциально метилированных генах, наиболее значимые различия в статусе метилирования между невусами и меланомой показаны для генов *HOXD12* и *PAX3* [84]. Ещё в одном исследовании были определены различия в статусе метилирования у пациентов с меланомой и без патологии. Было выявлено гиперметилирование 5 белок-кодирующих генов (*CLDN11*, *MGMT*, *RARB2*, *RASSF1A*, *p16*), вовлеченных в развитие меланомы [28].

Таким образом, поиск дифференциально метилированных маркеров, способных определить развитие злокачественной трансформации на раннем этапе, представляется приоритетной задачей.

Ремоделирование хроматина

Хроматин представляет собой высокоорганизованную структуру упаковки эукариотического генома, в которой молекулы ДНК связаны с белками (по большей части гистонами). Структурной единицей хроматина является нуклеосома, в которой 146 п.о. ДНК обернуты вокруг двух единиц гистоновых белков H2A, H2B, H3 и H4 и/или их вариантов. Многие клеточные процессы требуют сложной регуляции, поэтому эта структура обладает динамичной подвижностью, чаще всего на посттрансляционном уровне. Доменная структура генома предполагает наличие «открытых» (транскрипционно активных) и «закрытых» (транскрипционно неактивных) областей, называемых соответственно эу- и гетерохроматиновыми районами. Регуляция про-

цессов в этих районах обусловлена деятельностью специализированных белков, в частности гистонметилтрансфераз (НМТ), гистондемети́лаз и гистонацетилтрансфераз (НАТ)/гистондеацети́лаз (НДАС), которые определяют статус метилирования и ацетилирования гистонов соответственно. Баланс этих модификаций и определяет все процессы взаимодействий ДНК-гистон, создавая уникальный ландшафт нуклеосомной структуры. В целом, весь пул модификаторов был разделен на три большие группы в соответствии с их ролью в эпигенетической регуляции экспрессии генов. Так появились «писатели», «считыватели» и «ластики» [85]. Эти модификаторы могут регулировать экспрессию генов, контролируя доступность ДНК для транскрипционного аппарата, а также влиять на все клеточные процессы [86, 87]. Так, метилирование гистонов H3K4, H3K36 и H3K79 обычно связано с активацией транскрипции, в то время как метилирование H3K9, H3K27 и H4K20 – с её подавлением. Стоит отметить роль дифференциального метилирования H4K20 в регуляции активности гена. В частности, в случае монометилирования (H4K20me1) этот гистон связан с активной экспрессией генов, тогда как при триметилировании (H4K20me3) экспрессия гена подавляется. Также отмечено, что метилирование гистонов при раке связано с неблагоприятным прогнозом [87].

Было высказано предположение, что аберрантное ацетилирование и метилирование гистонов играют активную роль в процессах меланомогенеза [88]. Была показана защитная роль лизин метилтрансферазы (*DOT1L*) при меланомогенезе, вызванном УФ облучением. Исследование показало, что меланома развивалась в случае, когда нарушение в экспрессии этого гена приводило к деметилированию гистона H3K79, который, в свою очередь, при гиперэкспрессии мешал проведению эксцизионной репарации поврежденной ДНК, пораженной облучением, блокируя нормальное функционирование гена *XPC* [89]. В другом исследовании рассматривалась гистонметилтрансфераза SETDB1. Было показано, что её экспрессия связана с триметилированием гистона H3K9 (H3K9me3) при меланоме. Кроме того, в развитии и прогрессии меланомы была обнаружена опосредованная связь этой метилтрансферазы через монометилирование H3K4me1 и гена-мишени тромбоспондина-1 (*THBS1*) [90].

Некодирующие РНК

Ещё одним значимым регулятором экспрессии генов являются некодирующие РНК (нкРНК), которые вовлечены во многие клеточные процессы и представляются значимыми опухолевыми маркерами злокачественных новообразований разных локализаций. Выделяют несколько отдельных классов этих молекул, каждый из которых вно-

сит свой вклад в развитие различных видов рака. Наиболее заметный вклад в развитие злокачественных новообразований, определяющих возможные пути прогрессии, вносят микроРНК и длинные некодирующие РНК (днРНК), отличающиеся друг от друга по длине образуемых транскриптов. Важно отметить, что более 70% генома представлено нкРНК, тогда как транскрибируемой РНК насчитывается по геному не более 3% [91].

МикроРНК (миРНК) длиной 20–25 нуклеотидов являются наиболее изученными малыми нкРНК, которые регулируют трансляцию мРНК, связываясь со специфическими элементами транскриптов мРНК – мишеней. Прогностическое и патобиологическое значение миРНК при меланоме хорошо известно. Результаты исследований демонстрируют участие значительного количества миРНК в патогенезе меланомы с проявлением как онкогенных, так и супрессорных свойств, в частности miR-17-5p, miR-137, miR-125-5p, семейство miR-200, miR-205, miR-203a и miR-211. Значительный интерес в связи с этим представляют собой маркеры миРНК, которые могут быть обнаружены у пациентов с меланомой по образцам крови, поскольку они могут использоваться как диагностические и прогностические маркеры на ранних этапах развития заболевания. Так, например, при сравнении образцов плазмы крови здоровых индивидов и пациентов с меланомой на т.н. стадии 0 были выявлены значимые различия в уровнях экспрессии двух миРНК (miR-134-5p и miR-320a-3p). Отмечалось значительное снижение экспрессии этих миРНК у больных по сравнению со здоровыми индивидами. Также диагностическим потенциалом обладают экзосомные миРНК. Так, в исследовании роли экзосомной миРНК miR-1180-3p было показано, что эта миРНК стимулировала миграцию клеток меланомы через усиление экспрессии гена *ST3GAL4* (*ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 4*). Таким образом, исследование изменений миРНК и/или их мишеней, показавших положительную корреляцию с развитием меланомы, могло бы помочь в ранней диагностике этого типа опухоли и уменьшить финансовую нагрузку мониторинга при использовании инструментальных методов [92].

Важной, но не единственной задачей представляется прогноз образования метастазов меланомы в мозге и их отличие от других метастазов или видов рака, более характерных для данного эпитопа. Для решения этой проблемы также может помочь изучение экспрессии ряда дифференциально экспрессирующихся миРНК в плазме. Так, по результатам полногеномного анализа были отобраны специфичные миРНК, которые позволили различить метастазы меланомы в головном мозге от таковых метастазов рака лёгкого, молочной железы и глиобласто-

мы. Таким образом, составлен набор миРНК из miR-5694, miR-6796-3p, miR-6741-3p, miR-4664-3p, miR-4665-5p и miR-671-5p, который обладает специфичным метастатическим потенциалом [93]. В других исследованиях, выполненных на образцах ткани, также удалось определить специфичные миРНК с метастатическим потенциалом. Было показано, что miR-203 и miR-378 через гены *BRAF* и *FOX3*, соответственно, связаны с образованием метастазов меланомы. Кроме того, была выявлена miR-211, которая с высокими показателями чувствительности и специфичности позволяла дифференцировать меланому от группы невусов по изменению характера её экспрессии [92].

Другим регулятором экспрессии генов являются длинные некодирующие РНК (днРНК), длина которых варьируется от 200 до 100 000 нуклеотидов и которые участвуют во многих клеточных процессах, включая пролиферацию, инвазию, миграцию и др. Они могут регулировать уровни экспрессии различных генов, участвующих в синтезе белка, посредством различных механизмов, включая модификацию хроматина, образование и стабилизацию РНК, транскрипцию и трансляцию мРНК в белки. Их регуляторные функции тесно связаны с их локализацией в клетке: они действуют как транскрипционные и/или посттранскрипционные регуляторы для днРНК, расположенных в ядре клетки и/или в цитоплазматическом

матриксе. В патогенезе меланомы, согласно проведенным исследованиям, принимают участие до 246 дифференциально экспрессируемых днРНК. Следует отметить, что 184 из них гиперэкспрессируются при меланоме.

Функционально значимых днРНК при этом гораздо меньше. Так, для разных процессов были отмечены свои днРНК, которые изменяли уровни своей экспрессии при меланоме. В частности, для днРНК MEG3 показано значимое снижение уровня экспрессии при меланоме при исследовании пролиферации, миграции и инвазии, а также при метастазировании, при этом для днРНК SNHG17, MALAT1 и NEAT1 показано значимое увеличение уровня их экспрессии при меланоме. Интересно, что при метастазировании и эпителиально-мезенхимальном переходе значимо высокий уровень экспрессии при меланоме характерен для днРНК HOXA11-AS [94].

Таким образом, aberrantная экспрессия и дерегуляция при раке определяет их функциональную роль либо как супрессоров опухолей, либо как онкогенов. При этом важно отметить, что с учётом множественных механизмов действия днРНК неудивительно, что одни и те же днРНК могут выполнять двойственные функции при раке, действуя либо как супрессоры опухолей, либо как онкогены, в зависимости от типа рака (*H19*, *BANCR*, *TINCR*, *MALAT*, *XIST*) [95]. Далее мы сфокусируемся на роли различных днРНК при меланоме (рис. 2).

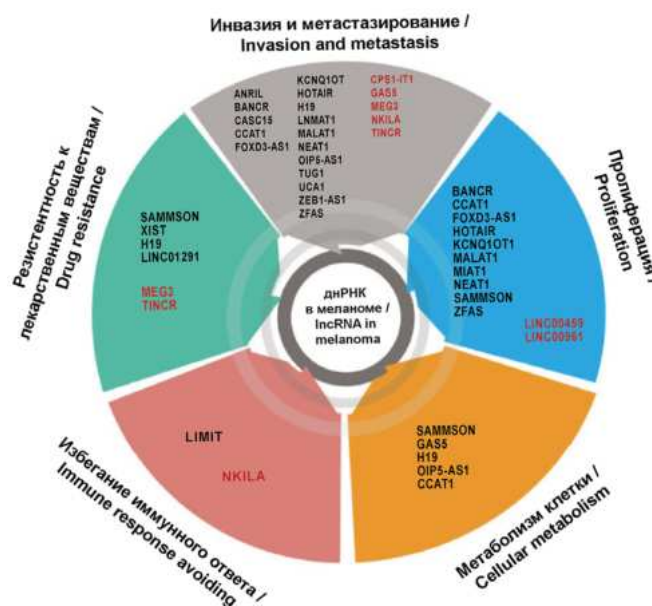


Рис. 2. ДнРНК, связанные с основными признаками меланомогенеза. ДнРНК, подавляющие меланомогенез, выделены красным цветом [98, с модификацией авторов. CC BY 4.0].

Fig. 2. Long non-coding RNAs (lncRNAs) associated with the key hallmarks of melanomagenesis. LncRNAs that suppress melanomagenesis are highlighted in red [98, modified by the authors. CC BY 4.0].

Онкогенные и супрессорные днРНК при меланоме

Как упоминалось ранее, наиболее распространенная форма меланомы у больных связана с мутацией в гене BRAF в положении 600 (BRAF^{V600E}). Поэтому в интересах ученых входит поиск deregulированных днРНК при меланоме при гиперэкспрессии гена BRAF при наличии этой мутации. Результаты определили несколько таких днРНК, включая BANCER, примечательную тем, что эта днРНК не только вовлечена в подавление MAPK сигнального пути, но также, усиливая экспрессию хемокина CXCL11, инактивирует рост и миграцию опухолевых клеток. Таким образом, можно говорить, что эта днРНК проявляет супрессорные свойства, в отличие от следующей днРНК.

SPRY4-IT1 примечательна тем, что ее инактивация при меланоме приводит к значительному снижению метаболизма липидов, пролиферации и инвазии опухолевых клеток, а также восстанавливает апоптоз. Напротив, ее гиперэкспрессия в нормальных меланоцитах запускает активную пролиферацию и рост, а также связана с прогрессией и неблагоприятным прогнозом [95].

Другие днРНК, потенциально связанные с трансформацией меланоцитов, при меланоме работают независимо от мутации в гене BRAF. К таким можно отнести днРНК TUG1 (ген, активируемый таурином 1 типа) и UCA1 (ген, ассоциированный с уротелиальным раком 1 типа). Эти гены вовлечены в патогенез меланомы опосредованно, но тем не менее являются значимыми регуляторами меланогенеза и ответа на УФ-β в нормальных меланоцитах.

Показано, что TUG1 гиперэкспрессируется в меланоме и способствует росту опухоли и образованию метастазов через связывание с miR-129-5p и miR-29c-3p. Она действует как конкурирующая эндогенная РНК и выполняет онкогенную роль, как и днРНК UCA1, которая также имеет высокий уровень экспрессии при меланоме. Гиперэкспрессия днРНК TUG1 коррелирует с прогрессией опухоли и способствует пролиферации и инвазии через оси miR-28-5p/HOXB3 и miR-507/FOXO1 [96–98].

Следует отметить, что многие из этих днРНК вовлечены в различные системные сигнальные пути и механизмы, которые гиперактивируются только при злокачественной трансформации. Так, днРНК MALAT1, экспрессия которой повышена при различных видах рака, способствует эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) при меланоме через связывание с miR-22 и miR-183. Другая днРНК FOXD3-AS1 активирует MAPK3K2 сигнальный путь через связывание с miR-325, а днРНК KNCQ1OT1 повышает экспрессию тирозинкиназы рецептора c-Met (MET) путем связывания с miR-153. Эти

и другие примеры показывают важную роль днРНК как важнейших регуляторов сигнальных путей, aberrантно запускаемых при злокачественной трансформации [95].

Ещё одним направлением, в котором участвуют днРНК, является регуляция транскрипции. Так показано, что увеличение инвазивного потенциала меланомы и метастазирование может быть связано с подавлением транскрипции генов PDCD4 и CADM1 днРНК CASC15 и LNMAT1 [99, 100]. Показано, что увеличение уровня экспрессии днРНК HOTAIR при меланоме связано с прогрессией опухоли, а также развитием метастазов, в частности через активацию PI3K/AKT/mTOR сигнального пути, а также онкогенного белка c-Met через подавление экспрессии miR-157-3p и регуляцию модификации гистонов [101].

Некоторые днРНК контролируют различные метаболические пути при меланоме. В частности, днРНК SAMMSON регулирует метаболизм митохондрий и трансляцию белков, взаимодействуя с p32, главным регулятором митохондриального гомеостаза и метаболизма. Также показана устойчивость меланомы к ингибиторам MAPK – пути при гиперэкспрессии SAMMSON, а также отмечается рост опухоли и неблагоприятный прогноз [102]. Усиление метаболизма глюкозы при меланоме оказалось связано с гиперэкспрессией днРНК H19, которая, действуя как «губка» для miR-106a-5p, подавляла экспрессию последней и тем самым стимулировала E2F3, что провоцировало усиление метаболической активности глюкозы и рост клеток опухоли. В другом исследовании рассматривалось увеличение катаболизма глутамина при меланоме. Результаты определили высокий уровень экспрессии днРНК OIP5-AS1 в опухоли, а также низкий уровень miR-217, для которой эта днРНК является «губкой». Ось OIP5-AS1/ miR-217/GLS являлась критической в развитии меланомы и росте клеток опухоли [103, 104].

Несмотря на то, что большинство днРНК активируются при меланоме, некоторые из них инактивируются в первичных и метастатических опухолях, что предполагает их супрессорную роль при этом типе рака [95].

В частности, днРНК NKILA, будучи известным супрессором опухолей при различных типах рака, при меланоме подавляет инвазию и распространение метастазов через инактивацию NFκB – сигналов [105]. Другая днРНК, проявляющая супрессорные функции во множестве видов рака, в том числе и при меланоме, является GAS5. Было показано, что при меланоме наблюдается значимое снижение экспрессии этой днРНК. Представленные данные выявляют высокий уровень экспрессии EZH2 и значимо сниженный уровень CDKN1C при этом. Согласно результатам, наблюдаемые закономерности существенно влияли на выживаемость больных. Кроме того, увеличение уровня

экспрессии днРНК GAS5 и/или гена *CDKN1C* при одновременном снижении EZH2 приводило к подавлению роста опухоли, а также способствовало усилению апоптоза [59]. Изучение пациентов с меланомой выявило высокий уровень экспрессии miR-137 не только в клетках первичной опухоли, но и при прогрессии, и в метастазах при одновременном низком уровне GAS5. Дальнейшие исследования определили эти РНК как взаимодействующую пару, что может стать потенциальной терапевтической мишенью для лечения меланомы [60]. Известным супрессором разных видов рака, в том числе меланомы, является днРНК MEG3. Наиболее часто эта днРНК действует как «губка» для микроРНК. Было показано несколько осей, через которые происходит инактивация опухоли. В частности, выявлено, что в осях miR-208/SOX4 и miR-21/E-cadherin днРНК MEG3 существенно подавляет рост и прогрессию опухоли, а также препятствует образованию метастазов [50, 106].

Некоторые днРНК вовлечены в цис-транс регуляцию и выступают каркасами для хроматин-модифицирующих комплексов, регулируя процесс деградации РНК и модификации гистонов. Одной из таких днРНК является LINC-PINT. При меланоме эта днРНК оказалась подавлена как *in vitro*, так и *in vivo*. Функциональные тесты, проведенные с этой днРНК, показали, что гиперэкспрессия LINC-PINT приводила к инактивации генов – мишеней, таких как *CDK1*, *CCNA2*, *AURKA* и *PCNA*, через связывание с EZH2 и триметилирование H3K27. Таким образом происходило подавление роста опухоли и развитие метастазов, что, по мнению авторов, делает эту днРНК удобной диагностической и терапевтической мишенью для лечения меланомы [107].

Эти и другие примеры показывают важность поиска опухолевых маркеров с целью создания молекулярного подхода к ранней диагностике, прогнозу метастазирования и оптимизированной терапии с учётом большого числа факторов, задействованных при злокачественной трансформации клеток меланомы [108].

Перспективы

Актуализация применения в клинической практике молекулярного подхода при диагностике и прогнозе развития меланомы обусловлена рядом обстоятельств. Например, неблагоприятный исход у пациентов с меланомой, с одной стороны, и выживаемость, с другой, ярко различаются при локализованном и метастатическом заболевании (98% и 16–62% при 5-летней выживаемости, соответственно). При этом около 15% диагностически подтвержденных меланом на самом деле являются доброкачественными образованиями (ложноположительный результат), а 17% диагностически подтвержденных доброкачественных обра-

зований – злокачественными меланомами (ложноотрицательный результат) [109]. Прогрессирующая меланома в большинстве случаев является смертельным заболеванием, для которого необходимы новые терапевтические стратегии. Поэтому изучение изменений профилей метилирования и/или экспрессии генов регуляторных РНК является перспективным подходом в диагностике, прогнозировании и стратегии лечения меланомы.

Метилирование

Роль эпигенетических опухолевых маркеров, подвергающихся инактивации в результате регуляции их либо метилированием, либо нкРНК, в случае их супрессорной функции в опухоли, или обратный процесс в случае онкогенной их природы, значимо определена в инициации, прогрессии и метастазировании опухоли. Первичные результаты эпигенетического влияния на развитие меланомы показаны на метилировании промоторных областей генов *PTEN*, *SYK*, *TNFSF10D* и *LOX* (метилированы в 60%, 30%, 80% и 50% меланом соответственно). Впоследствии, с появлением высокоточных методов исследования, были получены целые паттерны метилированных генов, связанных со злокачественной трансформацией меланомы. Анализ эпигенома выявил значимый дисбаланс между областями с высоким уровнем метилирования, преимущественно приходящимися на CpG – островки, и областями с низким уровнем метилирования, которые приходятся на межгенные области, тела генов и места, удаленные от CpG-островков.

Так, при сравнении эпигеномов кожной меланомы, содержащих мутацию BRAF^{V600E}, с эпигеномами без мутации (BRAF^{WT}), было обнаружено, что 98% сайтов CpG были гипометилированы, тогда как только 2% содержали гиперметилирование. Наиболее значимым выводом из этого наблюдения стала гипотеза о связи конкретной мутации BRAF^{V600E} с изменением профиля метилирования в опухоли меланомы, а именно с глобальным гипометилированием. Также было показано значимое снижение экспрессии DNMT3A, одной из *de novo* ДНК метилтрансфераз в клетках. Эти события, согласно результатам исследований, связаны с развитием терапевтической устойчивости. Кроме того, с этим эффектом связано и гипометилирование с последующей активацией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), а также реактивация гена *TBC1D16* (Рис. 3) [109].

Дальнейшие исследования определили новые биомаркеры прогрессии (*CDH11*, *CLDN11*, *MAPK13*), а также маркеры, связанные с безрецидивной и общей выживаемостью (*PTEN* и *HOXD9*) [109]. Однако для понимания злокачественной трансформации меланомы на

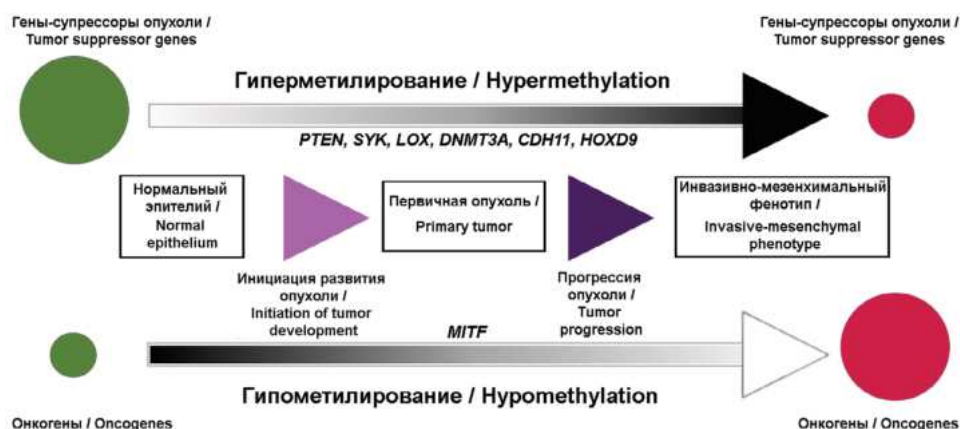


Рис. 3. Схематичное представление прогрессии меланомы кожи с эпигенетической точки зрения через EGFR/MAPK сигнальный путь, происходящие при малигнизации меланоцитов.

Fig. 3. Schematic representation of cutaneous melanoma progression from an epigenetic perspective through the EGFR/MAPK signaling pathway occurring during melanocyte malignant transformation.

каждом этапе её прогрессии необходимо идентифицировать не только новые эпигенетически подавленные или реактивированные кодирующие белок гены, но и гены, кодирующие регуляторные элементы – некодирующие РНК, а также оценить их взаимодействие и роль метилирования при этих взаимодействиях, а также связь с терапевтической устойчивостью.

Лекарственная устойчивость при меланоме

Несмотря на разрабатываемые современные подходы к терапии, стандартной является традиционная химиотерапия, либо в сочетании с иммунотерапевтическим подходом, либо в сочетании с таргетной терапией. В последние годы разработка комбинированных подходов, связанных с использованием препаратов, ингибирующих отдельные регуляторные молекулы (в частности, микро- и днРНК), качественным образом сказалась на стандартах лечения меланомы и улучшила общую выживаемость пациентов.

Наиболее часто при развитии меланомы задействуется MAPK/ERK сигнальный путь, активируемый мутациями RAS и BRAF у большинства пациентов с меланомой (рис. 4). Отмечается, что маркеры, которые участвуют в переключении фенотипа при меланоме, также участвуют в приобретенной устойчивости к ингибиторам пути MAPK [109, 110].

При этом у пациентов часто наблюдается высокий уровень экспрессии цитоскелетного линкерного белка α -катулина (CTNNAL1, catenin alpha like 1), который выступает маркером прогрессии опухоли. Направленное подавление экспрессии этого белка в клетках не только способствовало реактивации генов-супрессоров и инактивации

онкогенов, но и усиливало чувствительность клеток меланомы к действию химиопрепаратов, таких как цисплатин. Таким образом, данный маркер может вполне использоваться как терапевтический агент при лечении этого типа опухоли [111]. Из упоминавшихся ранее можно отметить роль гена O⁶-метил-гуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT), высокий уровень экспрессии которого приводит к резистентности, тогда как снижение экспрессии этого гена приводило к усилению чувствительности клеток меланомы к действию радиопрепарата «Ломегауатриб» [112]. Следует подчеркнуть, что помимо белок-кодирующих генов, роль которых в терапевтической устойчивости весьма заметна, роль некодирующих РНК, в частности, днРНК также весьма существенна.

Примечательно, что ряд днРНК также участвует в формировании терапевтической устойчивости. К таковым можно отнести днРНК SAMMSON, которая контролирует митохондриальный метаболизм и функционирует как онкоген при меланоме и придает клеткам меланомы устойчивость к «Вемурафенибу», а также днРНК XIST, H19, MEG3 и LINC01291, которые придают устойчивость клеткам меланомы к соединениям платины путем регуляции осей miR-21/PI3KR1, miR-18/IGF1, miR-499-5p/CYLD и miR-625-5p/IGF-1R, соответственно [113].

Метилирование ДНК и днРНК как терапевтические мишени для лекарственных препаратов

Таким образом, для медицины будущего наметились две тенденции развития подходов к терапии рака в целом и меланомы в частности. Первый подход определяет использование неспецифических ингибиторов метилирова-

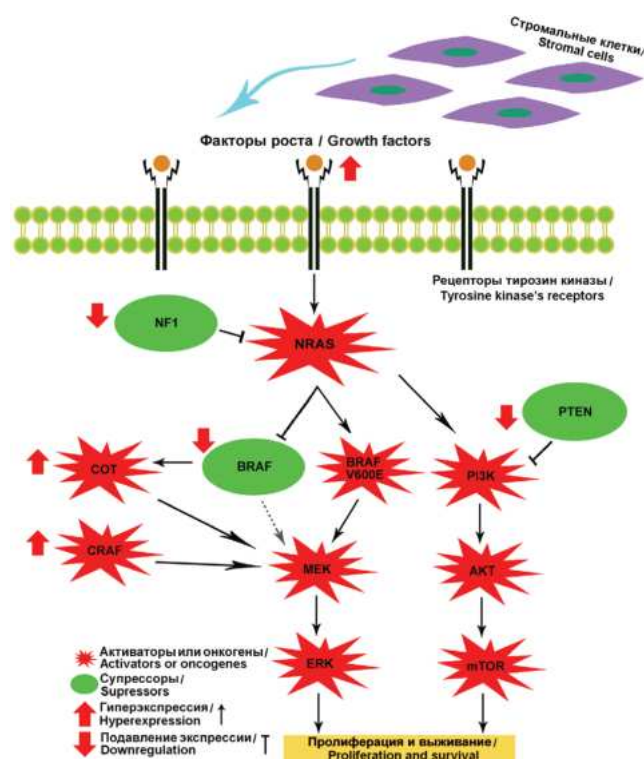


Рис. 4. Распространенные механизмы резистентности к таргетной терапии. Реактивация пути MAPK (80% случаев резистентности) и альтернативных путей чаще всего происходит посредством механизмов, включающих активирующие мутации в генах, участвующих в пролиферации и выживании, механизмы резистентности, опосредованные RAF, потерю генов-супрессоров опухолей, а также микроокружение опухоли.

Fig. 4. Common mechanisms of resistance to targeted therapy. Reactivation of the MAPK pathway (in approximately 80% of resistant cases) and activation of alternative signaling pathways most frequently occur through mechanisms involving activating mutations in genes associated with cell proliferation and survival, RAF-mediated resistance, loss of tumor suppressor genes, and the influence of the tumor microenvironment.

ния при условии преодоления известных проблем с цитотоксичностью [114]. Другой – определяет использование днРНК как таргетных препаратов, в частности, как посттранскрипционных регуляторов и ингибиторов, блокирующих сигнальные пути и биологические процессы в клетках опухоли [109].

Однако, чтобы стать удовлетворительным лекарственным средством, днРНК должны переноситься с высокой стабильностью, специфичностью, клеточной проницаемостью и низкой иммуногенностью. Наиболее часто используемыми носителями являются вирусные векторы, как лентивирусные, так и аденовирусные, которые могут быстро инфицировать делящиеся и неделящиеся клетки и иметь очень длительное время экспрессии. Однако безопасность вирусных векторов при системном введении лекарств была предметом обсуждения, и эти переносчики были недавно заменены невирусными, такими как липосомы, липидные наночастицы и экзосомы [115]. К сожалению, доставка, специфичность и иммуногенность препаратов на основе РНК остаются основными

проблемами в разработке некодирующих РНК-терапевтических средств.

Заключение

Идентификация и каталогизация aberrantных изменений метилирования ДНК и/или экспрессии днРНК и белоккодирующих генов в меланоме, как сообщалось в многочисленных исследованиях, рассмотренных выше, является важным первым шагом к пониманию ландшафта эпигенетических изменений в человеческой меланоме и использованию его для клинической пользы.

Метилирование иммуномодулирующих генов, существование отдельных кластеров метилирования ДНК с отдельными молекулярными фенотипами и aberrantное метилирование мишеней являются одной из общих тенденций, появляющихся в литературе. Однако еще предстоит решить множество проблем, прежде чем потенциал метилирования ДНК может быть оптимально использован. Функциональная оценка дифференциально метилированных генов *in vivo*, т.е. является ли aberrantное ме-

тирование прямым драйвером пролиферации или является побочным продуктом неисправного механизма метилирования («пассажир»), как правило, отсутствует. Происхождение aberrантного метилирования ДНК, т.е. измененная экспрессия и/или нацеливание ферментов DNMT, остается не до конца понятным, и идентификация ингибиторов, специфичных для DNMT, оказалась сложной задачей. Наконец, понимание молекулярных признаков ответа меланомы на иммунотерапию является чрезвычайно важным вопросом, и в этом вопросе метилирование ДНК может играть решающую роль. В настоящее время продолжаются клинические испытания, изучающие потенциальные синергические эффекты ингибиторов иммунных контрольных точек и гипометилирующих агентов, которые могут идентифицировать неоантигены, регулируемые метилированием. Сигнатуры метилирования ДНК могут оказаться полезными для идентификации пациентов, которые будут реагировать на терапию, и могут помочь в принятии решений при лечении пациентов с меланомой.

Все больше данных свидетельствуют о том, что одна и та же днРНК может действовать как супрессор опухолей или онкоген в зависимости от клеточного и ткане-

вого окружения. Эти результаты обосновали необходимость исследования днРНК в качестве диагностических/прогностических биомаркеров и/или терапевтических мишеней. Однако текущим ограничением в знаниях об участии днРНК в меланогенезе является их плохая изученность *in vivo*, как с точки зрения их роли в опухолеобразовании, так и с точки зрения физиологической функции, последняя имеет решающее значение для проектирования лекарственных средств. Более того, механизмы функционирования днРНК в противоопухолевом иммунном ответе и микроокружении опухоли представляют собой серьезное препятствие, поскольку они до сих пор изучены лишь частично, в основном из-за трудностей в создании соответствующих моделей *in vivo*. Учитывая высокую специфическую экспрессию онкогенных днРНК при раке, представляется перспективным использовать их для диагностического тестирования в качестве биомаркеров рака с использованием малоинвазивных методов жидкостной биопсии. Продолжающиеся масштабные исследования в области РНК-терапии позволят использовать днРНК в качестве эффективных лекарств для модуляции роста меланомы и ее взаимодействия с иммунной системой.

Литература / References

1. Palmieri G., Colombino M., Casula M., Manca A., Mandalà M., Cossu A. Italian Melanoma Intergroup (IMI). Molecular Pathways in Melanogenesis: What We Learned from Next-Generation Sequencing Approaches. *Curr Oncol Rep.* 2018; 20(11): 86. <https://doi.org/10.1007/s11912-018-0733-7>
2. Carr S., Smith C., Wernberg J. Epidemiology and Risk Factors of Melanoma. *Surg Clin North Am.* 2020; 100(1): 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2019.09.005>
3. Matthews N.H., Li W.Q., Qureshi A.A., Weinstock M.A., Cho E. Epidemiology of Melanoma. In: Ward WH, Farma JM, editors. Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy [Internet]. *Brisbane (AU): Codon Publications*; 2017. Chapter 1. <https://doi.org/10.15586/codon.cutaneoumelanoma.2017.ch1>
4. Michielin O., Atkins M.B., Koon H.B., Dummer R., Ascierto P.A. Evolving impact of long-term survival results on metastatic melanoma treatment. *J Immunother Cancer.* 2020; 8(2): e000948. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-000948>
5. Winder M., Virós A. Mechanisms of Drug Resistance in Melanoma. *Handb Exp Pharmacol.* 2018; 249: 91–108. https://doi.org/10.1007/164_2017_17
6. Cancer Genome Atlas Network. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell.* 2015; 161(7): 1681–96. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.044>
7. Shain A.H., Bastian B.C. From melanocytes to melanomas. *Nat Rev Cancer.* 2016; 16(6): 345–58. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.37>
8. Shain A.H., Yeh I., Kovalyshyn I., Sriharan A., Talevich E., Gagnon A. et al. The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. *N Engl J Med.* 2015; 373(20): 1926–36. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1502583>
9. Michaloglou C., Vredeveld L.C., Mooi W.J., Peeper D.S. BRAF (E600) in benign and malignant human tumours. *Oncogene.* 2008; 27(7): 877–95. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210704>
10. Leonardi G.C., Falzone L., Salemi R., Zanghi A., Spandidos D.A., McCubrey J.A., et al. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *Int J Oncol.* 2018; 52(4): 1071–80. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4287>
11. Perera B.P.U., Silvestre F. Environmental Epigenomes. *Epigenomes.* 2023; 7(3): 21. <https://doi.org/10.3390/epigenomes7030021>
12. Pathak A., Tomar S. and Pathak S. Epigenetics and Cancer: A Comprehensive Review. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology.* 2023; 8(1) 75–89. <https://doi.org/10.31557/apjcb.2023.8.1.75-89>
13. Feinberg A., Koldobskiy M. & Göndör A. Epigenetic modulators, modifiers and mediators in cancer aetiology and progression. *Nat Rev Genet.* 2016; 17: 284–99. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.13>
14. Arozarena I., Wellbrock C. Phenotype plasticity as enabler of melanoma progression and therapy resistance. *Nat Rev Cancer.* 2019; 19: 377–91. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0154-4>
15. Deshmukh M.G., Brooks V.T., Roy S.F., Milette S., Bosenberg M., Micevic G. DNA methylation in melanoma immunotherapy: mechanisms and therapeutic opportunities. *Clin Epigenetics.* 2025; 17(1): 71. <https://doi.org/10.1186/s13148-025-01865-5>
16. Long M.D., Smiraglia D.J., Campbell M.J. The Genomic Impact of DNA CpG Methylation on Gene Expression; Relationships in Prostate Cancer. *Biomolecules.* 2017; 7(1): 15. <https://doi.org/10.3390/biom7010015>

17. Ortiz-Barahona V., Joshi R.S., Esteller M. Use of DNA methylation profiling in translational oncology. *Semin Cancer Biol.* 2022; 83: 523–35. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.12.011>
18. Baylin S.B., Jones P.A. Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016; 8(9): a019505. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019505>
19. Tanemura A., Terando A.M., Sim M.S., van Hoesel A.Q., de Maat M.F., Morton D.L., et al. CpG island methylator phenotype predicts progression of malignant melanoma. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(5): 1801–7. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1361>
20. Micevic G., Theodosakis N. & Bosenberg M. Aberrant DNA methylation in melanoma: biomarker and therapeutic opportunities. *Clin Epigenet.* 2017; 9: 34. <https://doi.org/10.1186/s13148-017-0332-8>
21. Dobre E.G., Constantin C., Costache M., Neagu M. Interrogating Epigenome toward Personalized Approach in Cutaneous Melanoma. *J Pers Med.* 2021; 11(9): 901. <https://doi.org/10.3390/jpm11090901>
22. Fattahi S., Amjadi-Moheb F., Tabaripour R., Ashrafi G.H., Akhavan-Niaki H. PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: Epigenetics and beyond. *Life Sci.* 2020; 262:118513. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118513>
23. Fang M., Hutchinson L., Deng A., Green M.R.. Common BRAF(V600E)-directed pathway mediates widespread epigenetic silencing in colorectal cancer and melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016; 113(5): 1250–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1525619113>
24. Ji Y., Wang Y., Zou J., Liu G., Xia M., Ren J., et al. Methyltransferase DNMT3B promotes colorectal cancer cell proliferation by inhibiting PLCG2. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2024; 56(12): 1848–59. <https://doi.org/10.3724/abbs.2024117>
25. Micevic G., Muthusamy V., Damsky W., Theodosakis N., Liu X., Meeth K., et al. DNMT3b Modulates Melanoma Growth by Controlling Levels of mTORC2 Component RICTOR. *Cell Rep.* 2016; 14(9): 2180–92. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.010>
26. Zhang L., Peng Y., Huang S., Zhong L. Integrative analysis of DNA methylation and gene expression in skin cutaneous melanoma by bioinformatic approaches. *Arch Dermatol Res.* 2025; 317: 545. <https://doi.org/10.1007/s00403-025-03863-2>
27. de Unamuno Bustos B., Murria Estal R., Pérez Simó G., Simarro Farinos J., Pujol Marco C., Navarro Mira M., et al. Botella Estrada R. Aberrant DNA methylation is associated with aggressive clinicopathological features and poor survival in cutaneous melanoma. *Br J Dermatol.* 2018; 179(2): 394–404. <https://doi.org/10.1111/bjd.16254>
28. Guo Y., Long J., Lei S. Promoter methylation as biomarkers for diagnosis of melanoma: A systematic review and meta-analysis. *J Cell Physiol.* 2019; 234(5): 7356–67. <https://doi.org/10.1002/jcp.27495>
29. Rastetter M., Schagdarsurengin U., Lahtz C., Fiedler E., Marsch W.Ch., Dammann R., et al. Frequent intra-tumoural heterogeneity of promoter hypermethylation in malignant melanoma. *Histol Histopathol.* 2007; 22(9): 1005–15. <https://doi.org/10.14670/HH-22.1005>
30. Micevic G., Thakral D., McGeary M., Bosenberg M.W. PD–L1 methylation regulates PD–L1 expression and is associated with melanoma survival. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2019; 32(3): 435–40. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12745>
31. Sanna A., Phung B., Mitra S., Lauss M., Choi J., Zhang T., et al. DNA promoter hypermethylation of melanocyte lineage genes determines melanoma phenotype. *JCI Insight.* 2022; 7(19): e156577. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.156577>
32. Olvedy M., Tisserand J.C., Luciani F., Boeckx B., Wouters J., Lopez S, et al. Comparative oncogenomics identifies tyrosine kinase FES as a tumor suppressor in melanoma. *J Clin Invest.* 2017; 127(6): 2310–25. <https://doi.org/10.1172/JCI91291>
33. Zhang W.W., Ke L.F., Chen Y., Wu C.Y., Lu S.Y., Xie Y.L., et al. Methylation-based test for diagnosis of benign and malignant melanocytoma. *Br J Dermatol.* 2025; 193(3): 480–9. <https://doi.org/10.1093/bjd/ljaf169>
34. Venza M., Visalli M., Catalano T., Beninati C., Teti D., Venza I. DSS1 promoter hypomethylation and overexpression predict poor prognosis in melanoma and squamous cell carcinoma patients. *Hum Pathol.* 2017; 60: 137–46. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2016.10.018>
35. Wang X., Jiang C., Fu B., Zhu R., Diao F., Xu N., et al. MILI, a PIWI family protein, inhibits melanoma cell migration through methylation of LINE1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015; 457(4): 514–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.01.007>
36. Jiang W., Jia P., Hutchinson K.E., Johnson D.B., Sosman J.A., Zhao Z. Clinically relevant genes and regulatory pathways associated with NRAS^{Q61} mutations in melanoma through an integrative genomics approach. *Oncotarget.* 2015; 6(4): 2496–508. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2954>
37. Jayachandran A., Lo P.H., Chueh A.C., Prithviraj P., Molania R., Davalos-Salas M., et al. Transketolase-like 1 ectopic expression is associated with DNA hypomethylation and induces the Warburg effect in melanoma cells. *BMC Cancer.* 2016; 16: 134. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2185-5>
38. Zhang X.D., Gillespie S.K., Borrow J.M., Hersey P. The histone deacetylase inhibitor suberic bishydroxamate: a potential sensitizer of melanoma to TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induced apoptosis. *Biochem Pharmacol.* 2003; 66(8): 1537–45. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00509-4](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00509-4)
39. Bachmann I.M., Halvorsen O.J., Collett K., Stefansson I.M., Straume O., Haukaas S.A., et al. EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor subgroups in cutaneous melanoma and cancers of the endometrium, prostate, and breast. *J Clin Oncol.* 2006; 24(2): 268–73. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.01.5180>
40. Ceol C.J., Houvras Y., Jane-Valbuena J., Bilodeau S., Orlando D.A., Battisti V., et al. The histone methyltransferase SETDB1 is recurrently amplified in melanoma and accelerates its onset. *Nature.* 2011, 471(7339): 513–7. <https://doi.org/10.1038/nature09806>
41. Bossi D., Cicalese A., Dellino G.I., Luzi L., Riva L., D'Alesio C., et al. In Vivo Genetic Screens of Patient-Derived Tumors Revealed Unexpected Frailty of the Transformed Phenotype. *Cancer Discov.* 2016; 6(6):650–63. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1200>
42. Roesch A., Fukunaga-Kalabis M., Schmidt E.C., Zabierowski S.E., Brafford P.A., Vultur A., et al. A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth. *Cell.* 2010; 141(4): 583–94. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.04.020>
43. Segura M.F., Fontanals-Cirera B., Gazieli-Sovran A., Guijarro M.V., Hanniford D., Zhang G., et al. BRD4 sustains melanoma proliferation and represents a new target for epigenetic therapy. *Cancer Res.* 2013; 73(20): 6264–76. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0122-T>

44. Hodis E., Watson I.R., Kryukov G.V., Arold S.T., Imielinski M., Theurillat J.P., et al. A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell*. 2012; 150(2): 251–63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.024>
45. Qadeer Z.A., Harcharik S., Valle-Garcia D., Chen C., Birge M.B., Vardabasso C., et al. Decreased expression of the chromatin remodeler ATRX associates with melanoma progression. *J Invest Dermatol*. 2014; 134(6): 1768–72. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.45>
46. Koludrovic D., Laurette P., Strub T., Keime C., Le Coz M., Coassolo S., et al. Chromatin-Remodelling Complex NURF Is Essential for Differentiation of Adult Melanocyte Stem Cells. *PLoS Genet*. 2015; 11(10): e1005555. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005555>
47. Tang L., Zhang W., Su B., Yu B. Long noncoding RNA HOTAIR is associated with motility, invasion, and metastatic potential of metastatic melanoma. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 251098. <https://doi.org/10.1155/2013/251098>
48. Yu X., Zheng H., Tse G., Chan M.T., Wu W.K. Long non-coding RNAs in melanoma. *Cell Prolif*. 2018; 51(4): e12457. <https://doi.org/10.1111/cpr.12457>
49. Chen X., Gao J., Yu Y., Zhao Z., Pan Y. LncRNA FOXD3-AS1 promotes proliferation, invasion and migration of cutaneous malignant melanoma via regulating miR-325/MAP3K2. *Biomed Pharmacother*. 2019; 120: 109438. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109438>
50. Wu L., Zhu L., Li Y., Zheng Z., Lin X., Yang C. LncRNA MEG3 promotes melanoma growth, metastasis and formation through modulating miR-21/E-cadherin axis. *Cancer Cell Int*. 2020; 20: 12. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-1087-4>
51. Gao J., Zeng K., Liu Y., Gao L., Liu L. LncRNA SNHG5 promotes growth and invasion in melanoma by regulating the miR-26a-5p/TRPC3 pathway. *Onco Targets Ther*. 2018; 12: 169–79. <https://doi.org/10.2147/OTT.S184078>
52. Yang Y., Zhang Z., Wu Z., Lin W., Yu M. Downregulation of the expression of the lncRNA MIAT inhibits melanoma migration and invasion through the PI3K/AKT signaling pathway. *Cancer Biomark*. 2019; 24(2): 203–11. <https://doi.org/10.3233/CBM-181869>
53. Gao H., Liu R., Sun X. STAT3-induced upregulation of lncRNA SNHG17 predicts a poor prognosis of melanoma and promotes cell proliferation and metastasis through regulating PI3K-AKT pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23(18): 8000–10. https://doi.org/10.26355/eurrev_201909_19016
54. Huang Y.L., Xu Q., Wang X. Long noncoding RNA DSCAM-AS1 is associated with poor clinical prognosis and contributes to melanoma development by sponging miR-136. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23(7): 2888–97. https://doi.org/10.26355/eurrev_201904_17567
55. Liang L., Zhang Z., Qin X., Gao Y., Zhao P., Liu J., et al. Long noncoding RNA ZFAS1 promotes tumorigenesis through regulation of miR-150-5p/RAB9A in melanoma. *Melanoma Res*. 2019; 29(6): 569–81. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000595>
56. Wang W., Liu G., Liu M., Li X. Long non-coding RNA SNHG7 promotes malignant melanoma progression through negative modulation of miR-9. *Histol Histopathol*. 2020; 35(9): 973–81. <https://doi.org/10.14670/HH-18-225>
57. Long J., Pi X. LncRNA-MEG3 Suppresses the Proliferation and Invasion of Melanoma by Regulating CYLD Expression Mediated by Sponging miR-499-5p. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 2086564. <https://doi.org/10.1155/2018/2086564>
58. Liu P., Du R., Yu X. LncRNA HAND2-AS1 overexpression inhibits cancer cell proliferation in melanoma by downregulating ROCK1. *Oncol Lett*. 2019; 18(2): 1005–10. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10402>
59. Xu W., Yan Z., Hu F., Wei W., Yang C., Sun Z. Long non-coding RNA GAS5 accelerates oxidative stress in melanoma cells by rescuing EZH2-mediated CDKN1C downregulation. *Cancer Cell Int*. 2020; 20: 116. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01167-1>
60. Bian D., Shi W., Shao Y., Li P., Song G. Long non-coding RNA GAS5 inhibits tumorigenesis via miR-137 in melanoma. *Am J Transl Res*. 2017; 9(3): 1509–20.
61. Niu C., Tan S. LncRNA FENDRR Suppresses Melanoma Growth via Influencing c-Myc mRNA Level. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2023; 16: 2119–28. <https://doi.org/10.2147/CCID.S409622>
62. Shao C., Dai W., Li H., Tang W., Jia S., Wu X., et al. The relationship between RASSF1A gene promoter methylation and the susceptibility and prognosis of melanoma: A meta-analysis and bioinformatics. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0171676. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171676>
63. Donninger H., Vos M.D., Clark G.J. The RASSF1A tumor suppressor. *J Cell Sci*. 2007; 120(18): 3163–72. <https://doi.org/10.1242/jcs.010389>
64. García-Gutiérrez L., McKenna S., Kolch W., Matallanas D. RASSF1A Tumour Suppressor: Target the Network for Effective Cancer Therapy. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(1): 229. <https://doi.org/10.3390/cancers12010229>
65. Zhang X., Assaraf Y.G., Lin Y. Death-associated protein kinase 1: a double-edged sword in health and disease. *Front Immunol*. 2025; 16: 1593394. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1593394>
66. Aleotti V., Catoni C., Poggiana C., Rosato A., Facchinetti A., Scaini M.C. Methylation Markers in Cutaneous Melanoma: Unravelling the Potential Utility of Their Tracking by Liquid Biopsy. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(24): 6217. <https://doi.org/10.3390/cancers13246217>
67. Maphutha J., Twilley D., Lall N. The Role of the PTEN Tumor Suppressor Gene and Its Anti-Angiogenic Activity in Melanoma and Other Cancers. *Molecules*. 2024; 29(3): 721. <https://doi.org/10.3390/molecules29030721>
68. Mirmohammadsadegh A., Marini A., Nambiar S., Hassan M., Tannapfel A., Ruzicka T., et al. Epigenetic silencing of the PTEN gene in melanoma. *Cancer Res*. 2006; 66(13): 6546–52. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0384>
69. Kreuger IZ.M., Slieker R.C., van Groningen T., van Doorn R. Therapeutic Strategies for Targeting CDKN2A Loss in Melanoma. *J Invest Dermatol*. 2023; 143(1): 18–25.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2022.07.016>
70. Qi F., Yin Z., Wang G., Zeng S. Clinical and Prognostic Significance of O⁶-Methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter Methylation in Patients with Melanoma: A Systematic Meta-Analysis. *Ann Dermatol*. 2018; 30(2): 129–35. <https://doi.org/10.5021/ad.2018.30.2.129>
71. Yun H.S., Kramp T.R., Palanichamy K., Tofilon P.J., Camphausen K. MGMT inhibition regulates radioresponse in GBM, GSC, and melanoma. *Sci Rep*. 2024; 14(1): 12363. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61240-x>
72. Kato Y. The Role and Epigenetic Modification of the Retinoic Acid Receptor. In: Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics; Patel, V., Preedy, V., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2018; pp. 1–10.

73. Li F.J., Li L.M., Zhang R.H., Xu C., Zhou P., Long J., et al. The role of 5-hydroxymethylcytosine in melanoma. *Melanoma Res.* 2017; 27(3): 175–9. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000349>
74. De Araújo É.S., Kashiwabara A.Y., Achatz M.I., Moredo L.F., De Sá B.C., Duprat J.P., et al. LINE-1 hypermethylation in peripheral blood of cutaneous melanoma patients is associated with metastasis. *Melanoma Res.* 2015; 25(2): 173–7. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000141>
75. Cardelli M., Doorn R.V., Larcher L., Donato M.D., Piacenza F., Pierpaoli E., et al. Association of HERV-K and LINE-1 hypomethylation with reduced disease-free survival in melanoma patients. *Epigenomics.* 2020; 12(19): 1689–706. <https://doi.org/10.2217/epi-2020-0127>
76. Huang C.H., Han W., Wu Y.Z., Shen G.L. Identification of aberrantly methylated differentially expressed genes and pro-tumorigenic role of KIF2C in melanoma. *Front Genet.* 2022; 13: 817656. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.817656>
77. Lai Y., Lin Y. Biological functions and therapeutic potential of CKS2 in human cancer. *Front Oncol.* 2024; 14: 1424569. <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1424569>
78. Cui H., Wang Q., Lei Z., Feng M., Zhao Z., Wang Y., et al. DTL promotes cancer progression by PDCD4 ubiquitin-dependent degradation. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019; 38(1): 350. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1358-x>
79. Kreis N.N., Moon H.H., Wordeman L., Louwen F., Solbach C., Yuan J., et al. KIF2C/MCAK a prognostic biomarker and its oncogenic potential in malignant progression, and prognosis of cancer patients: a systematic review and meta-analysis as biomarker. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2024; 61(6): 404–34. <https://doi.org/10.1080/10408363.2024.2309933>
80. Han Y., Wang X. The emerging roles of KPNA2 in cancer. *Life Sci.* 2020; 241: 117140. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117140>
81. Bayley R., Ward C., Garcia P. MYBL2 amplification in breast cancer: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2020; 1874(2):188407. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188407>
82. Li X.Q., Cao Z.R., Deng M., Qing Y., Sun L., Wu Z.J. E2F8-TPX2 axis regulates glycolysis and angiogenesis to promote progression and reduce chemosensitivity of liver cancer. *Cytotechnology.* 2024; 76(6): 817–32. <https://doi.org/10.1007/s10616-024-00655-w>
83. Sun X., Gao C., Xu X., Li M., Zhao X., Wang Y., et al. FBL promotes cancer cell resistance to DNA damage and BRCA1 transcription via YBX1. *EMBO Rep.* 2023; 24(9): e56230. <https://doi.org/10.15252/embr.202256230>
84. Conway K., Edmiston S.N., Parker J.S., Kuan P.F., Tsai Y.H., Groben P.A., et al. Identification of a Robust Methylation Classifier for Cutaneous Melanoma Diagnosis. *J Invest Dermatol.* 2019; 139(6): 1349–1361. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.11.024>
85. Strub T., Ballotti R., Bertolotto C. The “ART” of Epigenetics in Melanoma: From histone “Alterations, to Resistance and Therapies”. *Theranostics.* 2020; 10(4): 1777–97. <https://doi.org/10.7150/thno.36218>
86. Al Ojaimi M., Banimortada B.J., Alragheb A., Hajir R.S., Alves C., Walid D., et al. Molecular and clinical aspects of histone-related disorders. *Hum Genomics.* 2025; 19(1): 47. <https://doi.org/10.1186/s40246-025-00734-9>
87. Duan X., Xing Z., Qiao L., Qin S., Zhao X., Gong Y., et al. The role of histone post-translational modifications in cancer and cancer immunity: functions, mechanisms and therapeutic implications. *Front Immunol.* 2024; 15: 1495221. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1495221>
88. Filipp F.V. Crosstalk between epigenetics and metabolism-Yin and Yang of histone demethylases and methyltransferases in cancer. *Brief Funct Genomics.* 2017; 16(6): 320–25. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elix001>
89. Zhu B., Chen S., Wang H., Yin C., Han C., Peng C., et al. The protective role of DOT1L in UV-induced melanomagenesis. *Nat Commun.* 2018; 9(1): 259. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02687-7>
90. Orouji E., Federico A., Larribère L., Novak D., Lipka D.B., Assenov Y., et al. Histone methyltransferase SETDB1 contributes to melanoma tumorigenesis and serves as a new potential therapeutic target. *Int J Cancer.* 2019; 145(12): 3462–77. <https://doi.org/10.1002/ijc.32432>
91. Yan H., Bu P. Non-coding RNA in cancer. *Essays Biochem.* 2021; 65(4): 625–39. <https://doi.org/10.1042/EBC20200032>
92. Poniewierska-Baran A., Zadroga Ł., Daniljan E., Małkowska P., Niedźwiedźka-Rystwey P., Pawlik A. MicroRNA as a Diagnostic Tool, Therapeutic Target and Potential Biomarker in Cutaneous Malignant Melanoma Detection-Narrative Review. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(6): 5386. <https://doi.org/10.3390/ijms24065386>
93. Bustos M.A., Tran K.D., Rahimzadeh N., Gross R., Lin S.Y., Shoji Y., et al. Integrated Assessment of Circulating Cell-Free MicroRNA Signatures in Plasma of Patients with Melanoma Brain Metastasis. *Cancers (Basel).* 2020; 12(6): 1692. <https://doi.org/10.3390/cancers12061692>
94. Dashti F., Mirazimi S.M.A., Kazemioula G., Mohammadi M., Hosseini M., Razaghi Bahabadi Z. et al. Long non-coding RNAs and melanoma: From diagnosis to therapy. *Pathol Res Pract.* 2023; 241: 154232. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154232>
95. Melixetian M., Pelicci P.G., Lanfranccone L. Regulation of LncRNAs in Melanoma and Their Functional Roles in the Metastatic Process. *Cells.* 2022; 11(3): 577. <https://doi.org/10.3390/cells11030577>
96. Wang Y., Liu G., Ren L., Wang K., Liu A. Long non-coding RNA TUG1 recruits miR-29c-3p from its target gene RGS1 to promote proliferation and metastasis of melanoma cells. *Int J Oncol.* 2019; 54(4): 1317–26. <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4699>
97. Long J., Menggen Q., Wuren Q., Shi Q., Pi X. Long Noncoding RNA Taurine-Upregulated Gene1 (TUG1) Promotes Tumor Growth and Metastasis Through TUG1/Mir-129-5p/Astrocyte-Elevated Gene-1 (AEG-1) Axis in Malignant Melanoma. *Med Sci Monit.* 2018; 24: 1547–59. <https://doi.org/10.12659/msm.906616>
98. Han C., Tang F., Chen J., Xu D., Li X., Xu Y., et al. Knockdown of lncRNA-UCA1 inhibits the proliferation and migration of melanoma cells through modulating the miR-28-5p/HOXB3 axis. *Exp Ther Med.* 2019; 17(5): 4294–302. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7421>
99. Sheng L., Wei R. Long Non-Coding RNA-CASC15 Promotes Cell Proliferation, Migration, and Invasion by Activating Wnt/β-Catenin Signaling Pathway in Melanoma. *Pathobiology.* 2020; 87(1): 20–9. <https://doi.org/10.1159/000502803>
100. Mou K., Zhang X., Mu X., Ge R., Han D., Zhou Y., et al. LNMAT1 Promotes Invasion-Metastasis Cascade in Malignant Melanoma by Epigenetically Suppressing CADM1 Expression. *Front Oncol.* 2019; 9: 569. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00569>
101. Cantile M., Scognamiglio G., Marra L., Aquino G., Botti C., Falcone M.R., et al. HOTAIR role in melanoma progression and its identification in the blood of patients with advanced disease. *J Cell Physiol.* 2017; 232(12): 3422–32. <https://doi.org/10.1002/jcp.25789>

102. Ghasemian M., Babaahmadi-Rezaei H., Khedri A., Selvaraj C.. The oncogenic role of SAMMSON lncRNA in tumorigenesis: A comprehensive review with especial focus on melanoma. *J Cell Mol Med.* 2023; 27(24): 3966–73. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17978>
103. Luan W., Zhou Z., Ni X., Xia Y., Wang J., Yan Y., Xu B. Long non-coding RNA H19 promotes glucose metabolism and cell growth in malignant melanoma via miR-106a-5p/E2F3 axis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018; 144(3): 531–42. <https://doi.org/10.1007/s00432-018-2582-z>
104. Luan W., Zhang X., Ruan H., Wang J., Bu X. Long noncoding RNA OIP5-AS1 acts as a competing endogenous RNA to promote glutamine catabolism and malignant melanoma growth by sponging miR-217. *J Cell Physiol.* 2019; 234(9): 16609–18. <https://doi.org/10.1002/jcp.28335>
105. Bian D., Gao C., Bao K., Song G. The long non-coding RNA NKILA inhibits the invasion-metastasis cascade of malignant melanoma via the regulation of NF- κ B. *Am J Cancer Res.* 2017; 7(1): 28–40.
106. Yang Y., Jin L., He J., Wang R., Wang Y., Bai J., et al. Upregulation LncRNA MEG3 expression suppresses proliferation and metastasis in melanoma via miR-208/SOX4. *Mol Cell Biochem.* 2023; 478(2): 407–14. <https://doi.org/10.1007/s11010-022-04515-z>
107. Xu Y., Wang H., Li F., Heindl L.M., He X., Yu J., et al. Long Non-coding RNA LINC-PINT Suppresses Cell Proliferation and Migration of Melanoma via Recruiting EZH2. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 7:350. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00350>
108. Love N.R., Williams C., Killingbeck E.E., Merleev A., Saffari Doost M., Yu L., et al. Melanoma progression and prognostic models drawn from single-cell, spatial maps of benign and malignant tumors. *Sci Adv.* 2024; 10(28): eadm8206. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adm8206>
109. Kozar I., Margue C., Rothengatter S., Haan C., Kreis S. Many ways to resistance: How melanoma cells evade targeted therapies. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2019; 1871(2): 313–22. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.02.002>
110. Wozniak M., Czyz M. The Functional Role of Long Non-Coding RNAs in Melanoma. *Cancers (Basel).* 2021; 13(19): 4848. <https://doi.org/10.3390/cancers13194848>
111. Martinez-Cardús A., Vizoso M., Moran S., Manzano J.L. Epigenetic mechanisms involved in melanoma pathogenesis and chemoresistance. *Ann Transl Med.* 2015; 3(15): 209. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.06.20>
112. Kirstein A., Schilling D., Combs S.E., Schmid T.E. Lomeguatrib Increases the Radiosensitivity of MGMT Unmethylated Human Glioblastoma Multiforme Cell Lines. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(13): 6781. <https://doi.org/10.3390/ijms22136781>
113. Han S., Yan Y., Ren Y., Hu Y., Wang Y., Chen L., et al. LncRNA SAMMSON Mediates Adaptive Resistance to RAF Inhibition in BRAF-Mutant Melanoma Cells. *Cancer Res.* 2021; 81(11): 2918–29. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-3145>
114. Uddin M.G., Fandy T.E. DNA methylation inhibitors: Retrospective and perspective view. *Adv Cancer Res.* 2021; 152: 205–23. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2021.03.007>
115. Winkle M., El-Daly S.M., Fabbri M., Calin G.A. Noncoding RNA therapeutics – challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov.* 2021; 20(8): 629–51. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00219-z>

Информация об авторах:

Волкова Софья Валерьевна, мл. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «НИИОПП»

Бурдённий Алексей Михайлович, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «НИИОПП»; мл. науч. сотр. лаб. химической физики биоаналитических процессов ФГБНУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН

Лукина Светлана Сергеевна, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «НИИОПП»

Брага Элеонора Александровна, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «НИИОПП»

Логинов Виталий Игоревич, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «НИИОПП»

Хроника

**К 110-летию со дня рождения
академика АМН СССР
А.М. Чернуха**

**On the 110th anniversary of the birth
of Academician of the Academy of
Medical Sciences of the USSR
A.M. Chernukh**



23 марта 2026 года исполняется 110 лет со дня рождения Алексея Михайловича Чернуха — выдающегося ученого мирового уровня, академика АМН СССР, вице-президента Академии медицинских наук СССР. С 1965 года А.М. Чернух возглавлял Институт нормальной и патологической физиологии АМН СССР (с 1974 года — Институт общей патологии и патологической физиологии). Вся научная жизнь А.М. Чернуха связана с углублённым изучением патогенеза типовых патологических процессов, в частности воспаления, начиная с его докторской диссертации «Нервное раздражение в процессе воспаления» и заканчивая последней монографией «Воспаление».

А.М. Чернух был одним из основателей направления исследований в области микроциркуляции. Им были разработаны оригинальные методы исследования микрососудов в живых организмах, позволившие получить новые данные о строении и функционировании микроциркуляторного русла. Работы в этом направлении существенно изменили представления об иннервации микрососудов, был открыт бесинаптический тип их иннервации, доказана способность

March 23, 2026, marks the 110th anniversary of the birth of Alexei Mikhailovich Chernukh — an outstanding world-class scientist, Academician of the USSR Academy of Medical Sciences, and Vice President of the USSR Academy of Medical Sciences. From 1965, A.M. Chernukh headed the Institute of Normal and Pathological Physiology of the USSR Academy of Medical Sciences (renamed the Institute of General Pathology and Pathological Physiology in 1974). A.M. Chernukh's entire scientific career was devoted to the in-depth study of the pathogenesis of typical pathological processes, particularly inflammation, beginning with his doctoral dissertation "Nervous Irritation in the Process of Inflammation" and culminating in his final monograph "Inflammation."

A.M. Chernukh was one of the founders of the field of microcirculation research. He developed innovative methods for studying microvessels in living organisms, which yielded new insights into the structure and function of the microcirculatory bed. Work in this field significantly changed our understanding of microvascular innervation; a non-synaptic type of innervation was discovered, the ability of endothelial cells to actively contract was demonstrated, and changes in vascular wall

к активному сокращению эндотелиальных клеток, охарактеризовано изменение проницаемости сосудистой стенки под воздействием вазоактивных веществ. Итогом этих исследований явилась выдвинутая и обоснованная А.М. Чернухом концепция «функционального элемента» органа. Роль «функционального элемента», объединяющего в целостную структуру кровоснабжение, иннервацию и обмен веществ, состоит в обеспечении в норме и патологии жизнедеятельности специализированной клетки – главной структурной единицы любого органа. Этот подход и в настоящее время используется при изучении различных патологических процессов.

Работы А.М. Чернуха и его школы не только создали фундаментальную базу изучения микроциркуляции, но и наметили пути дальнейших исследований этого направления.

В 1977 году за цикл научных работ по микроциркуляции вместе с В.В. Куприяновым А.М. Чернух был удостоен Государственной премии СССР.

О международном признании научного вклада А.М. Чернуха свидетельствует его избрание вице-президентом Европейской ассоциации по микроциркуляции и участие в работе редакционных коллегий таких международных журналов как «Microcirculation», «Microvascular Research» и «Biochemistry and Experimental Biology».

Коллеги вспоминают Алексея Михайловича как умного и доброжелательного человека, блестящего ученого, прекрасного руководителя и организатора науки. Будучи вице-президентом АМН СССР, он проводил большую работу по планированию развития медицинской науки в нашей стране и координации научных исследований с рядом зарубежных стран. А.М. Чернух вел активную общественную работу: был Председателем Всесоюзного научного общества патофизиологов, вице-председателем Всесоюзного общества «Знание», являлся членом редколлегии «Большой Медицинской энциклопедии» и ведущих отечественных журналов: «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины», «Патологическая физиология и экспериментальная терапия».

А.М. Чернух является автором 5 монографий и многочисленных научных публикаций в отечественных и зарубежных журналах.

За плодотворную научную и общественную деятельность А.М. Чернух был награжден орденами В.И. Ленина, Трудового Красного Знамени, «Знак Почёта», медалями «За доблестный труд в Великой Отечественной войне», «За доблестный труд» и медалью «В ознаменование 100-летия со дня рождения Владимира Ильича Ленина».

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
Российское научное общество патофизиологов,
Редакция журнала «Патологическая физиология и экспериментальная терапия»*

permeability under the influence of vasoactive substances were characterized. The result of these studies was the concept of the organ's "functional element", proposed and substantiated by A.M. Chernukh. The role of the "functional element", which integrates blood supply, innervation, and metabolism into a unified structure, consists in ensuring the vital functions of a specialized cell – the main structural unit of any organ – under both normal and pathological conditions. This approach is currently used in the study of various pathological processes.

The work of A.M. Chernukh and his school not only laid the foundation for the study of microcirculation but also charted the course for further research in this field.

In 1977, A.M. Chernukh was awarded the USSR State Prize, jointly with V.V. Kupriyanov, for a series of scientific works on microcirculation.

The international recognition of A.M. Chernukh's scientific contribution is evidenced by his election as Vice-president of the European Association for Microcirculation and his participation in the editorial boards of international journals such as Microcirculation, Microvascular Research and Biochemistry and Experimental Biology.

Colleagues remember Alexei Mikhailovich as an intelligent and kind-hearted man, a brilliant scientist, and an outstanding leader and organizer of scientific research. As vice president of the USSR Academy of Medical Sciences, he played a major role in planning the development of medical science in our country and coordinating scientific research with a number of foreign countries.

A.M. Chernukh was actively involved in public service: he served as Chairman of the All-Union Scientific Society of Pathophysiologists, Vice-Chairman of the All-Union Society "Znanie" and was a member of the editorial board of the "Great Medical Encyclopedia" and leading domestic journals: "Bulletin of Experimental Biology and Medicine" and "Pathological Physiology and Experimental Therapy".

A.M. Chernukh is the author of five monographs and numerous scholarly articles published in domestic and international journals.

For his fruitful scientific and public activities, A.M. Chernukh was awarded the Orders of V.I. Lenin, the Order of the Red Banner of Labor, the Order of the Badge of Honor, the medals "For Valiant Labor in the Great Patriotic War", "For Valiant Labor", and the medal "In Commemoration of the 100th Anniversary of the Birth of Vladimir Ilyich Lenin".

*Federal State Budgetary Scientific Institution
"Research Institute of General Pathology
and Pathophysiology"
Russian Scientific Society of Pathophysiologists
Editorial Board of the Journal "Pathological
Physiology and Experimental Therapy"*