



Учредители:
Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова
ООО «СП Минимакс»

Основан в ноябре 2001 года

научно-
практический
журнал

том 19

2020

№ 3 (75)

Содержание Contents

Обзоры

Reviews

Лобов Г. И., Непиющих Ж. В.
Структура и физиология лимфатической
сосудистой сети

5

Lobov G. I., Nepiyushchikh Zh. V.
Structure and physiology of the lymphatic vasculature

Оригинальные статьи (клинические исследования)

Original articles (clinical investigations)

Акопов А. Л., Папаян Г. В., Ильин А. А.
Прижизненное изучение направления оттока лимфы
при раке легкого с помощью индоцианина зеленого

19

Akopov A. L., Papayan G. V., Ilin A. A.
Intravital study of lymphatic drainage in lung cancer
using indocyanine green

**Глаголева Е. Н., Сидоров В. В., Подоплека Н. Д.,
Файзуллина Д. Р.**
Оценка микроциркуляторно-тканевых систем после
косметологических процедур, направленных на
коррекцию возрастных изменений

25

**Glagoleva E. N., Sidorov V. V., Podoplekina N. D.,
Faizullina D. R.**
Evaluation of microcirculatory tissue systems after
cosmetic procedures

Золотницкая В. П.
Лучевая диагностика нарушений микроциркуляции в
легких у больных с внебольничной пневмонией

31

Zolotnitskaia V. P.
Radiation diagnosis of pulmonary microcirculation in
patients with community-acquired pneumonia

Ладожская-Гапеенко Е. Е., Храпов К. Н.
Возможности лазерной доплеровской флоуметрии
с использованием ортостатической пробы в оценке
функционального состояния микроциркуляции

39

Ladozhskaya-Gapeenko E. E., Khrapov K. N.
Possibilities of Laser-Doppler flowmetry
in assessment of functional state of microcirculation

**Андреев В. В., Подунов А. Ю., Лапин Д. С.,
Гиляева З. Л., Никифорова Е. Н., Голиков К. В.,
Руденко Д. И.**
Клинико-патогенетические особенности церебрального
инсульта у больных с новой коронавирусной инфекцией
(COVID-19)

46

**Andreev V. V., Podunov A. Y., Lapin D. S.,
Gilyaeva Z. L., Nikiforova E. N., Golikov K. V.,
Rudenko D. I.**
Clinical and pathogenetic features of cerebral stroke
in patients with new coronavirus infection
(COVID-19)

Regional hemodynamics and microcirculation

Editor-in-chief

N. N. Petrishchev (Saint-Petersburg, Russia).
Vice Editor

T. D. Vlasov (Saint-Petersburg, Russia).
Senior Associate Editor

S. N. Tultseva (Saint-Petersburg, Russia).
Associate Editors

V. I. Amosov (Saint-Petersburg, Russia),
N. A. Bubnova (Saint-Petersburg, Russia),
M. M. Galagudza (Saint-Petersburg, Russia),
D. P. Dvoretzky (Saint-Petersburg, Russia),
A. V. Muravyov (Yaroslavl, Russia),
G. G. Hubulava (Saint-Petersburg, Russia),
V. A. Tsyrlin (Saint-Petersburg, Russia),
E. V. Shlyakhto (Saint-Petersburg, Russia).

Editorial Board

V. V. Banin (Moscow, Russia),
E. R. Barantsevich (Saint-Petersburg, Russia),
N. A. Belyakov (Saint-Petersburg, Russia),
Alexander Brill (Birmingham, United Kingdom),
Jarle Vaage (Oslo, Norway),
A. Yu. Vasilyev (Moscow, Russia),
I. A. Vozniuk (Saint-Petersburg, Russia),
A. V. Gavrilenko (Moscow, Russia),
I. P. Dudanov (Petrozavodsk, Russia),
O. G. Zverev (Saint-Petersburg, Russia),
V. I. Kozlov (Moscow, Russia),
V. B. Koshelev (Moscow, Russia),
A. I. Krupatkin (Moscow, Russia),
G. I. Lobov (Saint-Petersburg, Russia),
V. E. Milyukov (Moscow, Russia),
Nodar Mitagvaria (Tbilisi, Georgia),
K. M. Morozov (Moscow, Russia),
V. S. Nikiforov (Saint-Petersburg, Russia),
Axel Pries (Berlin, Germany),
Carlota Saldanha (Lisbon, Portugal),
D. A. Starchik (Saint-Petersburg, Russia),
S. K. Ternovoy (Moscow, Russia),
S. B. Tkachenko (Moscow, Russia),
A. N. Shishkin (Saint-Petersburg, Russia)

Научное медицинское издание

Регионарное кровообращение и микроциркуляция

Редакционная коллегия

д. м. н., профессор Петрищев Н. Н. — главный редактор
(Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Власов Т. Д. — заместитель главного редактора
(Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Тульцева С. Н. — ответственный секретарь
(Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Амосов В. И. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Бубнова Н. А. (Санкт-Петербург),
чл.-корр. РАН, профессор Галагудза М. М. (Санкт-Петербург),
чл.-корр. РАН, профессор Дворецкий Д. П. (Санкт-Петербург),
д. б. н., профессор Муравьев А. В. (Ярославль),
акад. РАН, профессор Хубулава Г. Г. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Цырлин В. А. (Санкт-Петербург),
акад. РАН, профессор Шлякто Е. В. (Санкт-Петербург).

Редакционный совет

чл.-корр. РАН, профессор Банин В. В. (Москва),
д. м. н., профессор Баранцевич Е. Р. (Санкт-Петербург),
акад. РАН, профессор Беляков Н. А. (Санкт-Петербург),
профессор Брилли А. Г. (Бирмингем, Великобритания),
профессор Вааге Г. (Осло, Норвегия),
чл.-корр. РАН, профессор Васильев А. Ю. (Москва),
д. м. н., профессор Вознюк И. А. (Санкт-Петербург),
акад. РАН, профессор Гавриленко А. В. (Москва),
чл.-корр. РАН, профессор Дуданов И. П. (Петрозаводск),
д. м. н., профессор Зверев О. Г. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Козлов В. И. (Москва),
д. б. н., профессор Кошелёв В. Б. (Москва),
д. м. н., профессор Крупаткин А. И. (Москва),
д. м. н., профессор Лобов Г. И. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Милюков В. Е. (Москва),
профессор Митагвария Н. П. (Тбилиси, Грузия),
д. м. н., профессор Морозов К. М. (Москва),
д. м. н., профессор Никифоров В. С. (Санкт-Петербург),
профессор Прис А. (Берлин, Германия),
профессор Салдана Карлота (Лиссабон, Португалия),
д. м. н. Старчик Д. А. (Санкт-Петербург),
акад. РАН, профессор Терновой С. К. (Москва),
чл.-корр. РАН, профессор Ткаченко С. Б. (Москва),
д. м. н., профессор Шишкин А. Н. (Санкт-Петербург).

РИЦ ПСПбГМУ им. И. П. Павлова
197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8
Издательство ООО «СП Минимакс»
197376, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 7
Редакция: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
Лицензия: ЛП № 000141 от 08 апреля 1999 г.
Регистрационное удостоверение: ПИ № 77-9025

Подписано в печать: 24.08.2020 г.
Формат: А4
Печать офсетная
Тираж 1000
Заказ № 182

Уважаемые коллеги!



Перед вами тематический номер журнала «Регионарное кровообращение и микроциркуляция», посвященный проблемам микроциркуляции и лимфодинамики в физиологических и патологических условиях.

Подобная тематика обусловлена тем, что в последние годы при исследовании микроциркуляции стали применяться новые методы, обладающие высокой чувствительностью и позволяющие в процессе исследования свести к минимуму нежелательные воздействия на сосуды микроциркуляторного русла, и, соответственно, были получены новые данные. Что же касается лимфатической системы, то в последнее десятилетие в этой области благодаря молекулярным, клеточным и генетическим подходам с использованием современных инновационных технологий были выполнены настоящие прорывные работы, позволившие по-новому подойти к оценке значимости лимфатической системы как другой сосудистой системы, которая вовсе не является вторичной по отношению к кровеносной сосудистой системе. В качестве лимфатических маркеров были идентифицированы рецептор фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR)-3,3, фактор транскрипции (PROX1), подоплатин (PDPN) и рецептор эндотелиального гиалуронана лимфатических сосудов (LYVE1), что сделало возможным визуализировать лимфатические эндотелиальные клетки. Лимфатические сосуды были идентифицированы в органах, где ранее их не удавалось обнаружить, в частности, в глазу, где они участвуют в регуляции внутриглазного давления. Но наиболее ярким событием явилось обнаружение лимфатических сосудов в головном мозге. Эта система была названа глимфатической благодаря своему сходству с функцией лимфатической системы в периферических тканях и важной роли глиальных клеток в организации конвективного потока жидкости из периартериального в перивенозное пространство, а затем в лимфатические сосуды. Глимфатическая система обеспечивает регуляцию объема внутрочерепного пространства, удаление метаболитов и транспорт иммунных клеток в ткани мозга.

В ряде исследований была продемонстрирована важность лимфатической сосудистой сети в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, включая лимфедему, ожирение и метаболические заболевания, дислипидемию, гипертензию, воспаление, атеросклероз и инфаркт миокарда. Лимфатическая система, как было установлено, активно регулирует некоторые из этих патологических процессов. Также значительное внимание было уделено выяснению молекулярного контроля патологического лимфангиогенеза и его роли в развитии некоторых хронических заболеваний.

В номере представлены оригинальные работы из крупных научных центров и вузов Санкт-Петербурга, Москвы, Республики Казахстан. В соответствии с тематикой содержание журнала включает в себя два обзора, три экспериментальные работы и пять клинических исследований.

Хотелось бы высказать искреннюю признательность авторам номера и редакции журнала за их труд.

Заведующий лабораторией физиологии
сердечно-сосудистой и лимфатической систем
Института физиологии им. И. П. Павлова РАН
доктор медицинских наук, профессор *Г. И. Лобов*

УДК 612.42

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-5-18

Г. И. ЛОБОВ, Ж. В. НЕПИЮЩИХ

Структура и физиология лимфатической сосудистой сети

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии имени И. П. Павлова»

Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

E-mail: gilobov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 10.06.20; принята к печати 17.07.20

Резюме

Лимфатическая сосудистая система представляет собой высокоорганизованную сеть структурно и функционально связанных специализированных лимфатических сосудов разного калибра и лимфатических узлов, которые выполняют обменные и транспортные функции. Лимфа – это образующийся в тканях фильтрат плазмы крови, в котором содержатся антигенпрезентирующие клетки и лимфоциты. С лимфой из тканей удаляются избыток жидкости и экстравазированные белки. Лимфатическая система поддерживает гомеостаз внеклеточной жидкости, благоприятный для оптимальной функции тканей, удаляя вещества, которые возникают в результате метаболизма или гибели клеток, а также оптимизируя иммунитет против бактерий, вирусов и других антигенов. Несмотря на то, что лимфатическая сосудистая сеть формально не считается частью иммунной системы, она имеет решающее значение для трафика антигенов и иммунных клеток. Помимо этого, лимфатические эндотелиальные клетки способны представлять антигены и экспрессировать факторы, модулирующие иммунные реакции. После воспалительного стимула эндотелиальные клетки вырабатывают хемокины, которые рекрутируют иммунные клетки в лимфатические узлы. В отличие от системы кровообращения с централизованным насосом, движение лимфы через сеть лимфатических сосудов обеспечивается силами, стимулирующими первоначальное образование лимфы в тканях и способностью лимфатических сосудов и узлов ритмично сокращаться, обеспечивая повышение давления и перемещение лимфы в проксимальном направлении. Поскольку скорость метаболизма в различных органах и тканях значительно изменяется в зависимости от функционального состояния ткани, также существенно изменяется и кровоток через ткань и количество образующейся лимфы. Лимфатическая сосудистая сеть имеет несколько контуров регуляции лимфотока. В данной статье представлен всесторонний обзор важных результатов, полученных за прошедшее столетие, и обсуждается молекулярный и физиологический контроль транспортной функции лимфатических сосудов и узлов.

Ключевые слова: лимфатические сосуды, лимфатические узлы, лимфоток, гладкомышечные клетки, эндотелий, регуляция

Для цитирования: Лобов Г. И., Непиющих Ж. В. Структура и физиология лимфатической сосудистой сети. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):5–18. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-5-18.

UDC 612.42

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-5-18

G. I. LOBOV, Zh. V. NEPIYUSHCHIKH

Structure and physiology of the lymphatic vasculature

Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

6, Makarova street, Saint Petersburg, Russia, 199034

e-mail: gilobov@yandex.ru

Received 10.06.20; accepted 17.07.20

Summary

The lymphatic vascular system is a highly organized network of structurally and functionally connected specialized lymphatic vessels of various sizes and lymph nodes that perform metabolic and transport functions. Lymph is a blood plasma filtrate that comprises antigen-presenting cells and lymphocytes. Via lymph, excess fluid and extravasated proteins are removed from the tissues. The lymphatic system supports an extracellular fluid homeostasis that is favorable for optimal tissue functioning by removing substances that result from metabolism or cell death, as well as optimizing immunity against bacteria, viruses and other antigens. Although the lymphatic vasculature is not formally considered part of the immune system, it is crucial for the traffic of antigens and immune cells. In addition, lymphatic endothelial cells can supply antigens and express factors that modulate immune responses. After an inflammatory stimulus, endothelial cells produce chemokines, which recruit immune cells to the lymph nodes. Unlike the circulatory system with a centralized pump, the movement of lymph through the network of lymphatic vessels is provided by forces that stimulate the initial formation of lymph in the tissues and the ability of the lymphatic vessels and nodes to rhythmically contract, providing increased pressure and lymph movement in the proximal direction. Since the metabolic rate in various organs and tissues varies significantly depending on the functional state of the tissue, the blood flow through the tissue and the amount of lymph formed also change significantly. The lymphatic vasculature has several circuits for regulating lymph flow. This review provides a comprehensive overview of the important results obtained over the past century and discusses the molecular and physiological control of the transport function of lymphatic vessels and nodes.

Keywords: lymphatic vessels, lymph nodes, lymph flow, smooth muscle cells, endothelium, regulation

For citation: Lobov G. I., Nepiyushchikh Zh. V. Structure and physiology of the lymphatic vasculature. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):5–18. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-5-18.

Введение

Несмотря на то, что первые сведения о лимфатических сосудах (ЛС) содержались в трудах Гиппократа и Аристотеля, до середины XX в. считалось, что ЛС представляют собой лишь пассивную дренажную систему. Однако данные последних 50–60 лет показывают, что ЛС – это динамические структуры, которые выполняют в организме, по меньшей мере, три важнейшие функции. Во-первых, это резорбция избытка жидкости и белков плазмы, вышедших из капилляров в интерстициальное пространство, и возврат их в кровь. Во-вторых, система ЛС обеспечивает резорбцию продуктов расщепления жиров в тонкой кишке и доставку их в общий кровоток. И, наконец, ЛС – это единственная транспортная система, обеспечивающая перенос антигенов и иммунных клеток из периферических тканей в лимфатические узлы (ЛУ) и из ЛУ в кровь. Систему ЛС называют «информационной супермагистралью», потому что в лимфе содержится большое количество информации (антигены, антигенпрезентирующие клетки, цитокины) о местных воспалительных процессах в тканях, расположенных выше по течению. Интерес к фундаментальным исследованиям лимфатической системы вызван появлением все новых доказательств участия лимфатической системы в развитии различных заболеваний и, прежде всего, таких, как лимфедема, метастазирование рака и различные иммунные и воспалительные заболевания. С момента своего первоначального описания лимфатическая система не получала такого большого внимания со стороны научного сообщества, как в течение последнего десятилетия, новые результаты в этой области публикуются в нарастающем темпе.

В этом обзоре при описании структуры и функции отдельных элементов лимфатической сети акцент сделан, в первую очередь, на их участии в образовании и транспорте лимфы. Транспортная функция лимфатической сосудистой сети является основной, без ее четкой организации и регуляции невозможно выполнение лимфатической системой множества жизненно важных функций, информация о которых также представлена в данном обзоре, но в довольно сжатом виде. Читателя, желающего подробнее ознакомиться с особенностями функционирования лимфатической системы и ее участием в различных физиологических и патологических процессах в организме, мы отсылаем к первоисточникам, сведения о которых представлены в конце данного обзора.

Система ЛС – это сложная сеть специализированных сосудов, которые так же, как и кровеносные сосуды, выполняют обменную и транспортную функции. Принципиальным отличием лимфатической системы от кровеносной является отсутствие централизованного насоса (рис. 1). Поток лимфы по ЛС обеспечивается несколькими силами: процессом лимфообразования, колебаниями тканевого давления и ритмическими сокращениями ЛС. Это медленный транспорт, обеспечивающий возврат в кровеносную систему жидкости и экстравазированных белков. Объем лимфы, транспортируемой ЛС, составляет у человека до 12 л в сутки, при этом необходимо отме-

тить, что около 50 % лимфы возвращается в кровоток через высокоэндотелиальные вены ЛУ и столько же поступает по основным лимфатическим коллекторам в крупные вены шеи [1]. ЛС найдены почти в каждой ткани. В органах, которые традиционно считались не имеющими ЛС (центральная нервная система, роговица глаза, костный мозг), в последние годы найдены доказательства лимфодренажа в физиологических условиях или лимфангиогенеза при некоторых видах патологии [2, 3].

Лимфатические капилляры

Строение

Сеть ЛС начинается с дистально расположенных многочисленных инициальных ЛС или лимфатических капилляров (ЛК), имеющих большую площадь и служащих местом образования лимфы. ЛК могут быть в виде мешочков, слепыми (закрыты с одной стороны) или образовывать сплетения. Стенка ЛК состоит из одного слоя эндотелиальных клеток с прерывистой базальной мембраной. Эндотелиальные клетки ЛК специализированы для образования лимфы и действуют как микроскопические односторонние клапаны (первичные лимфатические клапаны), пропуская интерстициальную жидкость в просвет ЛК и не позволяя ей выйти обратно [4]. Эндотелиальные клетки имеют закрепляющие нити (якорные филаменты), концы которых фиксированы в окружающих соединительнотканых структурах. Эти филаменты не позволяют ЛК спадаться и поддерживают их проходимость в условиях, когда градиенты давления быстро и часто изменяются [5].

Образование и состав лимфы

В микроциркуляторном русле (в основном в кровеносных капиллярах и посткапиллярных венах) постоянно происходит утечка жидкости за пределы сосудистого русла, которая накапливается в интерстициальном пространстве. Объем плазмы, вышедшей за пределы кровеносных сосудов, определяется проницаемостью стенки капилляров и посткапиллярных венул и суммарным дисбалансом гидростатического и осмотического давлений, известным как уравнение Старлинга [6]. В последние годы в уравнение Старлинга внесено много уточняющих дополнений и изменений, однако общие принципы остались неизменными [7]. ЛК обычно располагаются недалеко от кровеносных капилляров, и постоянная утечка плазмы через стенку капилляров и посткапиллярных венул создает градиент давления для формирования потока интерстициальной жидкости от кровеносных капилляров и венул к ЛК [8]. Помимо этого, гидростатическое давление в тканях колеблется, особенно в органах, подвергающихся периодической компрессии (сердце, легкие, органы брюшной полости), поэтому силы, которые влияют на движение межклеточной жидкости, сильно зависят от движений тканей и изменений в местном кровотоке, при этом движение интерстициальной жидкости остается однонаправленным: от кровеносных капилляров к лимфатическим [9]. Помимо диффузионного перемещения жидкости и растворенных веществ из интерстиция

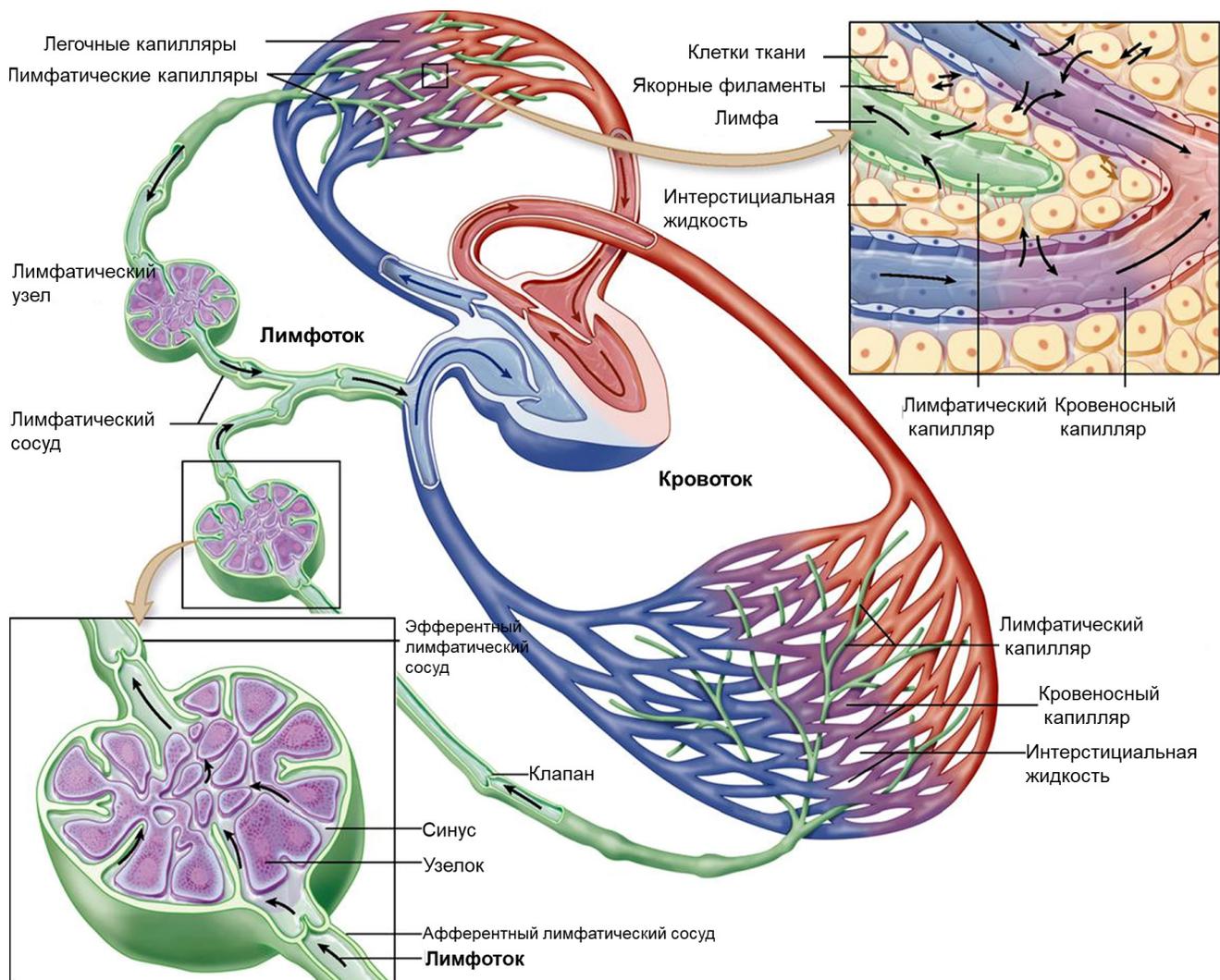


Рис. 1. Схема лимфатической системы.

Жидкость из кровеносных капилляров выходит в интерстициальное пространство и в дальнейшем поступает в лимфатический капилляр. Затем жидкость (лимфа) транспортируется лимфатическими сосудами в лимфатические узлы и в последующем поступает в лимфатические протоки. Из лимфатических протоков лимфа попадает в подключичную вену и возвращается в системный кровоток

Fig. 1. The scheme of the lymphatic system.

The fluid from the blood capillaries enters the interstitial space and then enters the lymphatic capillary. Then the fluid (lymph) is transported by the lymphatic vessels to the lymph nodes and subsequently enters the lymphatic ducts. From the lymphatic ducts, the lymph enters the subclavian vein and returns to the systemic circulation

в ЛК, которое, по-видимому, является основным в образовании лимфы, имеются данные об активном транспорте жидкости и веществ через лимфатические эндотелиальные клетки. Трансэндотелиальным транспортным механизмом служат транспортные везикулы. За счет подобного механизма в эндотелиоцитах обеспечивается базально-апикальный транспорт различных веществ, в том числе хиломикрон [10].

Ионный состав лимфы практически не отличается от ионного состава плазмы и интерстициальной жидкости, хотя концентрация Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} немного ниже. Глюкоза, аминокислоты и другие небольшие молекулы в лимфе также имеют концентрации, близкие к концентрации в плазме [11]. Концентрация белков в лимфе всегда ниже, чем в плазме. В ЛК и пренодальных ЛС лимфа имеет ту же концентрацию белка, что и окружающая интерстициальная жидкость. В ЛУ концентрация белка в лимфе увеличивается, поскольку значительное количество воды из лимфы реабсорбируется в высокоэндотелиальные вены [12]. При воспалении в лимфе появляются комплемент,

другие различные воспалительные белки и иммуноглобулины. Хотя концентрация белка в лимфе обычно ниже, чем в плазме, лимфа является не просто ультрафильтратом плазмы. Протеомический анализ лимфы показал, что состав белков в лимфе существенно отличается от состава белков в плазме. В лимфе выявляются белки и пептиды, которых нет в плазме крови [13]. В лимфе, оттекающей от тонкой кишки, содержится значительное количество липопротеинов, образованных из абсорбированных длинноцепочечных жирных кислот и холестерина. Большая часть липидов находится в виде хиломикрон и ЛПОНП (до 90 %), а остальная часть – во фракциях ЛПВП и ЛПНП. В лимфе из периферических тканей количество ЛПВП и ЛПНП низкое и отражает их концентрации в интерстициальной жидкости.

В афферентной и эфферентной лимфе содержатся как Т-, так и В-лимфоциты, а также дендритные клетки. В физиологических условиях поток клеток в ЛУ с афферентной лимфой составляет 2–5 миллионов клеток в час, 90 % из них составляют лимфоциты и

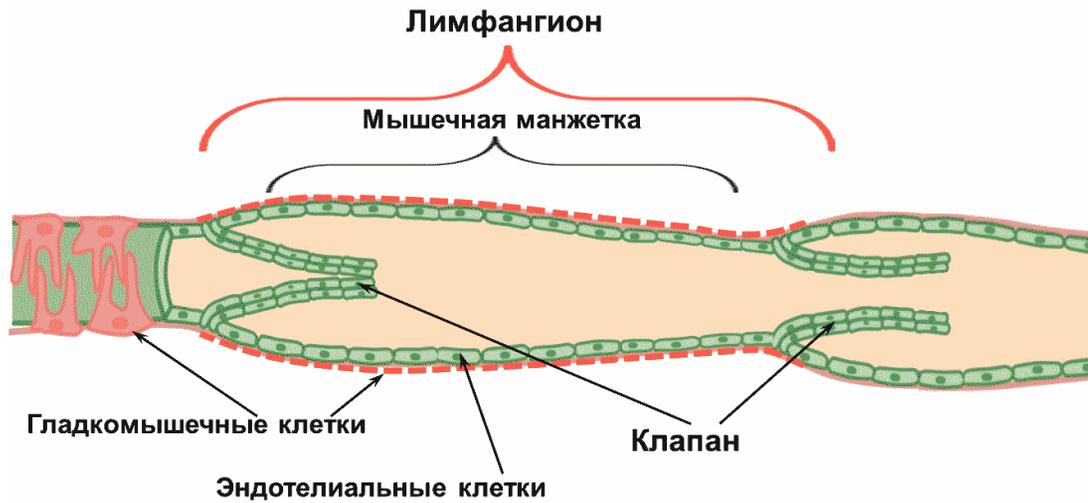


Рис. 2. Схематическое строение лимфатического сосуда. Показаны основные элементы стенки лимфатического сосуда (в том числе и его структурно-функциональная единица – лимфангион с мышечной манжеткой и клапанами: слева – закрыт, справа – открыт)

Fig. 2. The schematic structure of the lymphatic vessel. The main elements of the wall of the lymphatic vessel are shown (including its structural and functional unit – lymphangion with muscle cuff and valves: left – closed, right – open)

10 % – дендритные клетки. Эфферентная лимфа из покоящегося ЛУ содержит в 10 раз больше клеток, чем афферентная: 75 % из них составляют Т-клетки и 25 % – В-клетки. Поток клеток в эфферентной лимфе из активированного лимфатического узла достигает 100–500 млн клеток в час, в основном это Т-клетки и плазматические клетки, которые продуцируют антитела [14]. Нейтрофилы в лимфе содержатся в небольшом количестве, но выполняют важные функции. Нейтрофилы являются первыми лейкоцитами, поступающими в ткани в ответ на повреждение или инфекцию и после активации лимфатического эндотелия первыми (значительно раньше по сравнению с дендритными клетками) проходят в ЛК и первыми поступают в ЛУ.

Лимфатические посткапилляры

ЛС, следующие за ЛК, называют посткапиллярами, или предколлекторами. Они представляют собой мелкие ЛС, стенка которых состоит из эндотелиальных клеток. Первичных лимфатических клапанов в посткапиллярах нет, и они не принимают участия в лимфообразовании. При этом они имеют вторичные клапаны, препятствующие обратному оттоку лимфы в ЛК. Поскольку в стенке посткапилляров нет гладкомышечных клеток (ГМК), лимфоток по ним осуществляется в соответствии с градиентом давления.

Лимфатические сосуды

Строение

Стенка истинного ЛС имеет в своем составе, помимо эндотелия, слой ГМК. ГМК появляются в стенке первых ЛС, идущих за посткапиллярами. В самых мелких лимфатических сосудах ГМК расположены неупорядоченно, между ними расположены эластические и коллагеновые волокна. В более крупных сосудах гладкие мышцы организованы в слои и окружены адвентицией, состоящей из фибробластов и неклеточных элементов соединительной ткани. Слой гладких мышц в стенке ЛС может иногда прерываться в области прикрепления клапанов. По мере того, как

ЛС сливаются и становятся крупнее, утолщаются их медиальные слои, крупные ЛС могут иметь три слоя ГМК (во внутреннем и наружном слоях ГМК ориентированы продольно, а в среднем – циркулярно) [15].

В адвентиции стенки ЛС, помимо фибробластов, идентифицируются также дендритные клетки и макрофаги. Крупные ЛС имеют в адвентиции, или гладкомышечном слое, кровеносные сосуды, которые обеспечивают доставку кислорода и питательных веществ. В стенках ЛС проходят многочисленные нервные волокна, по своей природе являющиеся преимущественно катехоламинергическими, однако встречаются нитрергические и пептидэргические волокна [16]. Важными элементами в ЛС являются вторичные клапаны, которые разделяют сосуд на отдельные камеры – лимфангионы (рис. 2) [17]. Чаще всего клапаны бывают двустворчатые, их створки имеют в основе пластинку из коллагена и эластина, с двух сторон покрытую эндотелием [18]. Функционирование клапанов (открытие или закрытие) определяется изменяющимися градиентами давления и потока жидкости через них. Клапаны выполняют ряд важных функций: сводят к минимуму обратный отток лимфы, помогают уменьшить гравитационное влияние на давление в лимфатических сосудах, разрывая гидростатический столб лимфы на множество маленьких отсеков, и позволяют последовательно наращивать (лимфангион за лимфангионом) давление лимфы с целью преодоления любых возможных противоположных градиентов давления. По мере слияния ЛС увеличиваются в диаметре и в дальнейшем впадают в региональные ЛУ. В узел впадают несколько (до 12) пренодальных ЛС. Из узла выходят 1–2 крупных постнодальных ЛС, которые впадают в крупные лимфатические коллекторы или в следующие ЛУ.

Крупные лимфатические стволы и протоки имеют такую же структуру, как и ЛС, однако стенка их более толстая. У человека отдельные лимфангионы в лимфатических протоках достигают диаметра до 4 мм и длины до 15 мм. Лимфа от большей части тела по лимфатическим стволам поступает в грудной

проток, лимфа из правой половины грудной клетки, правой руки, правой стороны головы и шеи – в правый лимфатический проток. Оба протока впадают в подключичные вены [19]. Таким образом, лимфа, образовавшаяся из интерстициальной жидкости (которая представляет собой фильтрат плазмы крови), возвращается в систему кровообращения (рис. 1).

Особенности лимфатических сосудов в некоторых органах

Ниже представлено краткое описание строения сети ЛС в органах, подвергающихся высокой иммунной нагрузке.

Тонкая кишка

Лимфатическая система тонкой кишки играет важную роль во всасывании продуктов пищеварения и иммунитете по отношению к патогенам в тонкой и толстой кишке. Во время пищеварения при всасывании питательных веществ лимфоток из тонкой кишки увеличивается в несколько раз по сравнению с периодом покоя [20]. В каждой из миллионов ворсинок слизистой оболочки находится крупный ЛК (млечный сосуд). Млечные сосуды играют важную роль во всасывании и транспорте пищевых липидов. Жирные кислоты с длинной цепью и холестерол, абсорбированные из просвета кишки, поступают в млечные сосуды и далее в виде хиломикрон и ЛПОНП транспортируются по ЛС [21].

Второй важнейшей функцией ЛС тонкой кишки и лимфоидных тканей ее слизистой оболочки является иммунитет. Стенка кишки постоянно контактирует с микробами, находящимися в химусе. Кроме того, стенка кишки содержит высокопролиферативный, быстро обновляющийся эпителий, который необходимо постоянно контролировать на предмет появления трансформированных клеток. Расположенная в стенке кишки лимфоидная система, ассоциированная со слизистой, обеспечивает развитие иммунной реакции в ответ на проникновение патогенных агентов и обеспечивает иммунологическую толерантность по отношению к компонентам пищи и комменсальным бактериям. В основном эту функцию выполняют пейеровы бляшки, способные различать антигены и неантигенный материал [22]. Системные иммунные реакции запускаются в случае поступления фрагментов микробных клеток и целых клеток в ЛС и ЛУ (транслокация).

Кожа

Кожа является первой линией защиты внутренней среды организма от агрессивных факторов внешней среды: бактерий, вирусов или других микроорганизмов, а также от физических и химических воздействий. Кожа содержит большое количество иммунных клеток, которые служат для защиты от патогенов (дендритные клетки, резидентные Т-лимфоциты, макрофаги). Эти иммунные клетки после активации проникают в ЛК и по ЛС мигрируют в ЛУ [23]. Кожные ЛС играют важнейшую роль в реализации защитной функции кожи. Дендритные клетки после захвата антигенов мигрируют в рядом расположенные ЛК,

которые представлены в виде сетей полигональной формы, лежащих чуть ниже поверхностных кровеносных капилляров в дерме. Следующие за ЛК посткапилляры, образующие сложную трехмерную сеть, соединяются с истинными ЛС либо в более глубокой дерме, либо в подкожном слое [24]. По ЛС дендритные клетки с антигенами попадают в регионарные ЛУ, где передают информацию об антигенах наивным лимфоцитам.

Легкие

Легкие являются уникальным органом, через них проходит весь объем крови, который у человека при физической нагрузке может достигать 25–30 л/мин. Утечка жидкости в микрососудах легких происходит довольно быстро, и ЛС играют очень важную роль в балансе жидкости в тканях легких, сохраняя альвеолы «сухими» и обеспечивая оптимальный газообмен. Лимфатическая сеть легких представлена несколькими типами ЛС, заметно отличающимися друг от друга. У людей найдены обширные плевральные лимфатические сети, обеспечивающие дренаж плеврального пространства. Часть капилляров этой сети, расположенной в париетальной плевре, открыта непосредственно в плевральную полость, тем самым создается возможность беспрепятственного оттока избытка плевральной жидкости [25]. Непосредственно в ткани легких ЛК удалось обнаружить только после разработки новых маркеров, специфичных для лимфатического эндотелия (PROX-1, podoplanin и LYVE-1). ЛК были найдены в межальвеолярных перегородках в непосредственной близости от альвеол. Собственные ЛС легкого организованы в два сплетения: поверхностное – субплевральное, расположенное в висцеральной плевре и рядом с ней, и глубокое – перибронхо-сосудистое, локализованное в соединительной ткани, окружающей бронхи, бронхиолы, легочные артерии и вены [26]. Скорость лимфотока в легких хорошо коррелирует с микрососудистой фильтрацией. Таким образом, ЛС легких играют ключевую роль в клиренсе избытка жидкости, уравнивая микрососудистую утечку и обеспечивая устойчивое давление интерстициальной жидкости и защищая легкие от отеков.

Большая площадь поверхности эпителия легких ставит легкие в потенциально уязвимое положение по отношению к патогенам из внешней среды. Иммунная система дыхательных путей состоит из специализированной сети клеток, важнейшим представителем которой является альвеолярный макрофаг, обладающий мощными фагоцитарными свойствами. В паренхиме легких довольно много дендритных клеток. Находясь в слизистой оболочке дыхательных путей, дендритные клетки легких постоянно поглощают антигены из вдыхаемого воздуха и мигрируют по ЛС в дренирующие ЛУ, где представляют эти антигены наивным Т-клеткам. При воспалении наблюдается быстрое ремоделирование лимфатической сети легких, плотность мелких ЛС возрастает в несколько раз, обеспечивая эффективный отток избытка интерстициальной жидкости, вызванного воспалением, и сохраняя альвеолы «сухими» [27].

Механизмы транспорта лимфы по лимфатическим сосудам

Принципиально важным в организации лимфотока по ЛС является разделение столба лимфы на множество отсеков (лимфангионов), отделенных друг от друга вторичными клапанами (рис. 2). Подобное строение ЛС приводит к тому, что у стоящего человека в физиологических условиях в ЛС стопы среднее давление не превышает нескольких сантиметров H_2O [28]. Каждый из многих тысяч лимфангионов выполняет работу по перекачиванию лимфы только в следующий лимфангион. Для этого достаточно создания градиента давления в 0,5–1,5 см H_2O [29]. Эти данные, полученные *in vitro*, впоследствии были подтверждены при исследовании лимфотока с помощью неинвазивной визуализации ближнего инфракрасного диапазона *in vivo* и компьютерного моделирования [30].

Важным показателем, определяющим параметры насосной функции лимфангиона, является общее напряжение (сумма активного напряжения, создаваемого мышечным слоем, и пассивного напряжения стенки сосуда). Величина пассивного напряжения зависит от состава компонентов соединительной ткани (коллагена и эластина) в стенке ЛС, она различается даже в пределах одного лимфангиона, максимальная растяжимость регистрируется в области клапанного синуса. При типичных физиологических трансмуральных давлениях (1–5 см H_2O) стенка ЛС очень податлива, но выше этого диапазона она становится намного более жесткой [31].

В лимфатической системе для транспорта лимфы используются два вида насосов: 1) насосы, работающие за счет внешних сил, которые основаны на циклическом сжатии и расширении ЛС под действием окружающих тканевых сил; 2) насосы, работающие за счет внутренних сил – быстрых/фазных сокращений лимфатических гладких мышц. В органах, подвергающихся периодической компрессии (органы брюшной и грудной полости, скелетные мышцы) первый механизм выполняет важнейшую роль в обеспечении лимфотока. Этот механизм транспорта лимфы достаточно эффективен, однако он имеет один серьезный недостаток – никак не регулируется. Собственный лимфатический насос обеспечивает поток лимфы посредством быстрых координированных сокращений ГМК лимфангионов [29, 32]. ГМК лимфангиона, организованные в пучки и слои, имеют многочисленные плотные контакты, благодаря которым возбуждение передается с клетки на клетку и быстро охватывает всю мышечную массу лимфангиона, при этом развивается синхронное сокращение ГМК в пределах лимфангиона. Основная функция гладких мышц ЛС – ритмично и быстро сокращаться, чтобы обеспечить возможность эффективно удалять необходимое количество межклеточной жидкости, белков и липидов из интерстициального пространства с целью поддержания гомеостаза межклеточной жидкости. Сужение лимфангиона, создаваемое сокращением ГМК, повышает давление в просвете лимфангиона, закрывает дистальный и открывает проксимальный клапан и обеспечивает продвижение лимфы в следующий лимфангион [32, 33]. Процесс

перекачки лимфы, обеспечиваемый лимфангионами, представляет собой основной механизм продвижения лимфы по мелким и крупным лимфатическим сосудам. Вместе с тем ЛС, выполняя в лимфатической сосудистой сети функцию насосов, одновременно осуществляют и регуляцию гидродинамического сопротивления посредством изменения уровня тонуса ГМК и исходного диаметра сосудов.

ГМК ЛС имеют сложный и необычный набор сократительных и регуляторных белков. Установлено, что эти клетки экспрессируют несколько изоформ миозина и актина, которые фенотипически свойственны сосудистым и висцеральным миоцитам, а также клеткам миокарда [34]. Электромеханическое сопряжение в лимфатических гладких мышцах опосредовано, главным образом, концентрацией цитозольного $[Ca^{2+}]$. Фазные сокращения ГМК ЛС вызываются потенциалами действия (ПД) ГМК, приводящими к быстрым кратковременным увеличением концентрации $[Ca^{2+}]$ [35]. В интервалах между фазными сокращениями ГМК не полностью расслабляются, сохраняется определенный базальный тонус, формирующий гидростатическое сопротивление ЛС.

Генерация силы в лимфатических гладких мышцах демонстрирует схожесть с сокращениями как сердечной мышцы, так и гладких мышц. Скорость сокращений ГМК ЛС близка к скорости сокращения миокарда [36]. Полагают, что быстрые фазные сокращения лимфатических гладких мышц связаны с экспрессией тропонина С и I, которые обнаруживаются также в сердечной мышце [37]. Что касается сходства лимфатических гладких мышц с гладкими мышцами кровеносных сосудов, необходимо отметить реакцию на растяжение, схожую с реакциями сосудистых ГМК и эндотелийзависимую релаксацию [38]. Кроме того, подобно кровеносным сосудам, ЛС способны изменять и поддерживать тонус. Механизмы, контролирующие тонус, имеют сходство с гладкой мускулатурой кровеносных сосудов, такие как активация киназы легкой цепи миозина путем повышения уровня цитоплазматического $[Ca^{2+}]$ в интервалах между фазными сокращениями.

Важной характеристикой ГМК ЛС является величина мембранного потенциала (МП). МП лимфатических ГМК был зарегистрирован в нескольких работах и варьировал в пределах от (–80) до (–40) мВ [39]. Инициация фазных сокращений ГМК лимфангионов осуществляется посредством генерации ими ПД. ПД ГМК ЛС имеют специфические характеристики, отличные от ПД ГМК (сосудистых и висцеральных) других органов. Механизм их периодической генерации до настоящего времени точно не установлен. Из них наиболее широко изучено колебательное высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ и активация Ca^{2+} -каналов. Этот механизм лежит в основе спонтанной деполяризации в гладких мышцах ЛС, которые предшествуют ПД [40]. В то же время имеются данные, свидетельствующие о том, что в мембране ГМК ЛС есть механочувствительные ионные каналы, проводимость которых определяется степенью растяжения мембраны. При низком трансмуральном давлении, приближающемся к нулю, мембрана ГМК не

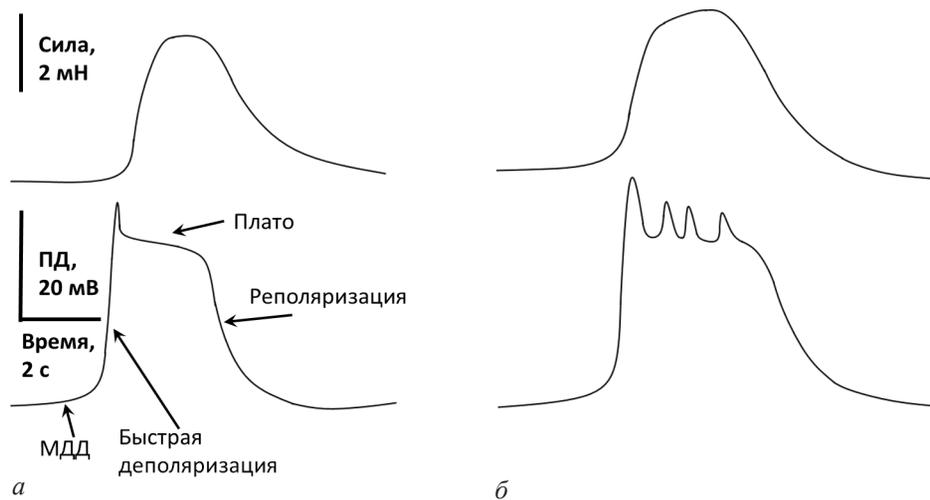


Рис. 3. Потенциалы действия (внизу) и фазные сокращения (вверху) гладкомышечных клеток лимфангиона брыжеечного лимфатического сосуда быка при трансмуральном давлении: а – 4 см H₂O; б – 10 см H₂O

Fig. 3. The action potentials (bottom) and phase contractions (top) of the smooth muscle cells of the lymphangion of the bovine mesenteric lymphatic vessel at transmural pressure: а – 4 cm H₂O, б – 10 cm H₂O

растянута, мембранный потенциал ГМК максимален и держится постоянным. Небольшое увеличение давления в просвете лимфангиона (которое растягивает мембрану ГМК) приводит к появлению медленного деполяризующего тока. В условиях, максимально приближенных к физиологическим, так же, как в клетках синоатриального сердца, МП ГМК ЛС медленно уменьшается (медленная диастолическая деполяризация). Скорость деполяризации коррелирует с величиной трансмурального давления: чем выше давление (и, соответственно, больше растяжение мембраны ГМК), тем больше скорость деполяризации. Медленная диастолическая деполяризация практически не зависит от активности нервных волокон и наличия эндотелия в стенке ЛС, т. е. этот процесс имеет миогенное происхождение [41]. Медленная диастолическая деполяризация приводит к уменьшению МП до критического уровня, при котором открываются быстрые Na⁺- и Ca²⁺-каналы и происходит быстрая деполяризация мембраны ГМК, приводящая к генерации ПД. ПД ГМК лимфатических сосудов имеют сложную структуру и включают в себя следующие фазы: 1) медленная диастолическая деполяризация (МДД), которая приводит к деполяризации мембраны до критического уровня; 2) быстрая деполяризация; 3) фаза плато; 4) быстрая реполяризация до максимальной уровня МП (рис. 3) [40]. Между ПД и фазными сокращениями ГМК лимфатических сосудов существует однозначная связь – каждый ПД запускает одиночное фазное сокращение [40].

Вопрос о локализации специализированных ГМК, выполняющих в лимфангионе функцию пейсмекеров, до конца не изучен. Имеются данные, что все ГМК потенциально способны выполнять функцию пейсмекеров [41]. В данной работе были изучены параметры сократительной активности колец ЛС шириной 2 мм, вырезанных в различных частях лимфангиона крупного брыжеечного ЛС быка. Было установлено, что при одинаковом растяжении максимальная частота фазных сокращений выявлялась в кольцах, вырезан-

ных из области клапанного синуса. Кольца, вырезанные из средней части лимфангиона, сокращались с меньшей частотой. Минимальная частота спонтанных фазных сокращений была зарегистрирована в кольцах, вырезанных их проксимальной части лимфангиона непосредственно перед следующим клапаном. Полагают, что подобный градиент автоматии обусловлен различным строением стенки лимфангиона. В области клапанного синуса стенка тонкая, в ее составе больше эластина и меньше коллагена. Как следствие, эта часть лимфангиона сильнее остальных растягивается при заполнении лимфой. Растяжение ГМК активирует механочувствительные ионные каналы в мембране ГМК, что ведет к деполяризации и генерации ПД. Возникнув в этой области, ПД быстро по мио-миоцитарным контактам распространяется по всей мышечной массе лимфангиона и вызывает синхронное сокращение ГМК. ГМК других частей лимфангиона потенциально способны генерировать ПД, однако в естественных условиях они генерируют ПД с ритмом, навязанным ГМК области клапанного синуса. Удаление клапанного синуса приводит к растормаживанию клеток, расположенных проксимальнее, и они генерируют ПД в своем, более медленном, ритме [41, 42].

Регуляция насосной функции лимфатических сосудов

При возрастании скорости метаболизма в тканях увеличивается кровоток (в тонкой кишке кровоток на пике пищеварения возрастает в 6 раз по сравнению с состоянием покоя), соответственно, повышается количество профильтрованной плазмы в интерстициальное пространство и возрастает количество лимфы. Чтобы регулировать транспорт лимфы, необходимо контролировать как тонические сокращения, которые изменяют сопротивление потоку (медленные, длительные сокращения), так и те, которые приводят к прокачиванию лимфы (быстрые и мощные сокращения). Поскольку, в сущности, ЛС должны работать как насосы и как коллекторы, они имеют характеристики как сердца,

так и кровеносных сосудов. Для регуляции этих разных функций используются различные механизмы.

Местные, нервные и гуморальные факторы (агонисты α -адренергических рецепторов, простаноиды, натрийуретические факторы, брадикинин, вещество P и др.) модулируют тонические сокращения, тем самым изменяя гидродинамическое сопротивление ЛС [43]. Однако более важной является регуляция активной транспортной функции ЛС, т. е. изменения частоты и амплитуды фазных сокращений лимфангионов, приводящие к изменению количества прокачиваемой ими лимфы. Эволюционно сформировались несколько механизмов регуляции активной транспортной функции ЛС, среди которых важнейшим является миогенная ауторегуляция.

Миогенный механизм регуляции лимфотока

В процессе исследования брыжеечных ЛС быка было показано, что ПД не только запускают фазные сокращения ГМК, но и управляют их параметрами – амплитудой и длительностью (рис. 3) [29, 40]. По мере увеличения растяжения стенки лимфангиона (и входящих в ее состав ГМК) возрастает длительность фазы плато ПД. Поскольку фаза плато ПД обусловлена входом в ГМК Ca^{2+} , длительное плато способствует повышению концентрации цитозольного Ca^{2+} и дополнительной активации сократительного аппарата ГМК, что приводит к увеличению амплитуды и длительности фазных сокращений [29], возрастанию систолического давления и систолического объема лимфангиона. С учетом повышения частоты фазных сокращений под действием растяжения значительно возрастает минутный объем лимфангиона [43]. Помимо этого, при значительном повышении трансмурального давления на плато ПД генерируются дополнительные пиковые потенциалы, которые имеют кальциевую природу, и при генерации каждого из них в клетки поступает дополнительная порция Ca^{2+} , которая стимулирует сократительный механизм. Установлена связь между величиной трансмурального давления и количеством пиковых потенциалов на плато ПД: чем выше давление, тем больше пиковых потенциалов, что приводит к увеличению амплитуды и продолжительности фазных сокращений [29, 44].

Эндотелийзависимая регуляция сокращений ЛС

Фазные сокращения и тонус гладких мышц ЛС в значительной степени зависят от веществ, продуцируемых эндотелием в ответ на механические, а также местные и циркулирующие химические факторы. Важнейшей сигнальной молекулой, выделяемой лимфатическими эндотелиоцитами, является оксид азота (NO). Его роль в регуляции, частоты и амплитуды фазных сокращений ЛС показана во многих работах [45, 46]. Ингибирование эндотелиальной NO-синтазы сопровождается повышением тонуса и гидродинамического сопротивления ЛС, а также увеличением частоты фазных сокращений. Установлено, что в ЛС NO так же, как и в кровеносных сосудах, стимулирует гуанилатциклазу в ГМК, что приводит к открыванию АТФ-чувствительных K^+ -каналов, гиперполяризации мембраны ГМК и их расслаблению [46].

Имуногистохимические исследования показали, что eNOS в брыжеечных лимфатических сосудах крысы экспрессируется преимущественно эндотелиоцитами стенки дистальной части лимфангиона и клапанов, в проксимальной части активность eNOS в несколько раз ниже [47]. Из фармакологических исследований известно, что расслабление лимфатических сосудов в основном зависит от высвобождения NO либо в ответ на фармакологическую активацию лимфатического эндотелия, либо в ответ на сдвиговые силы, когда лимфоток ускоряется [47]. Данные, полученные *in vivo*, также подтверждают, что как клапанные, так и коллекторные сегменты лимфангиона увеличивают образование NO при каждом фазовом сокращении.

Эндотелиальные клетки при воздействии некоторых биологически активных веществ продуцируют простагландины. В ряде случаев это простагландины, обладающие констрикторным эффектом на ГМК, но чаще – вазодилатирующие [48]. В последние годы показано, что при некоторых воздействиях эндотелиоциты ЛС продуцируют вещества, обладающие способностью гиперполяризовать ГМК ЛС, что приводит к их расслаблению [49]. Имеются данные, что одним из таких веществ может быть сероводород (H_2S) [50].

Другие виды регуляции сократительной функции ЛС

Сократительная функция ГМК ЛС, лежащая в основе их транспортной функции, подвержена многоконтурной регуляции. Помимо описанных выше миогенной и эндотелийзависимой регуляции, на ЛС также оказывают выраженное влияние биологические субстанции, образующиеся в физиологических условиях в окружающих ЛС тканях (в особенности в тучных клетках: гистамин, гепарин, серотонин), а также синтезируемые различными клетками при воспалении (интерфероны, интерлейкины и другие цитокины) [51]. Модулируют сократительную активность ЛС также гормоны, доставляемые кровью из других тканей, в частности – глюкокортикоиды и натрийуретический гормон [52, 53].

Определенную роль в модуляции лимфотока играет и нервная регуляция. При исследовании ЛС барана на мембране ГМК были обнаружены α_1 - и α_2 -адренорецепторы. Было установлено, что в стенке ЛС нижней конечности человека проходят многочисленные нервные волокна, большая часть которых является катехоламинергическими, а в части нервных окончаний был идентифицирован нейропептид Y (NPY). Действие экзогенного NPY на сегменты грудного протока человека приводило к возрастанию силы фазных сокращений и инициировало фазные сокращения в «молчащих» сегментах ЛС [54]. В стенках лимфатических сосудов человека и морских свинок были обнаружены также холинергические волокна [55]. Представляется интересным, что в первых исследованиях ацетилхолин (АХ) не оказывал влияния на тонус и параметры фазных сокращений ЛС. Однако позднее было установлено, что если воздействовать АХ на предварительно сокращенные ЛС, то он вызывает урежение или полное подавление сокращений ЛС. Также было показано, что дилатация ЛС при действии АХ зависит от эндотелия и опосредовано продукцией NO [56].

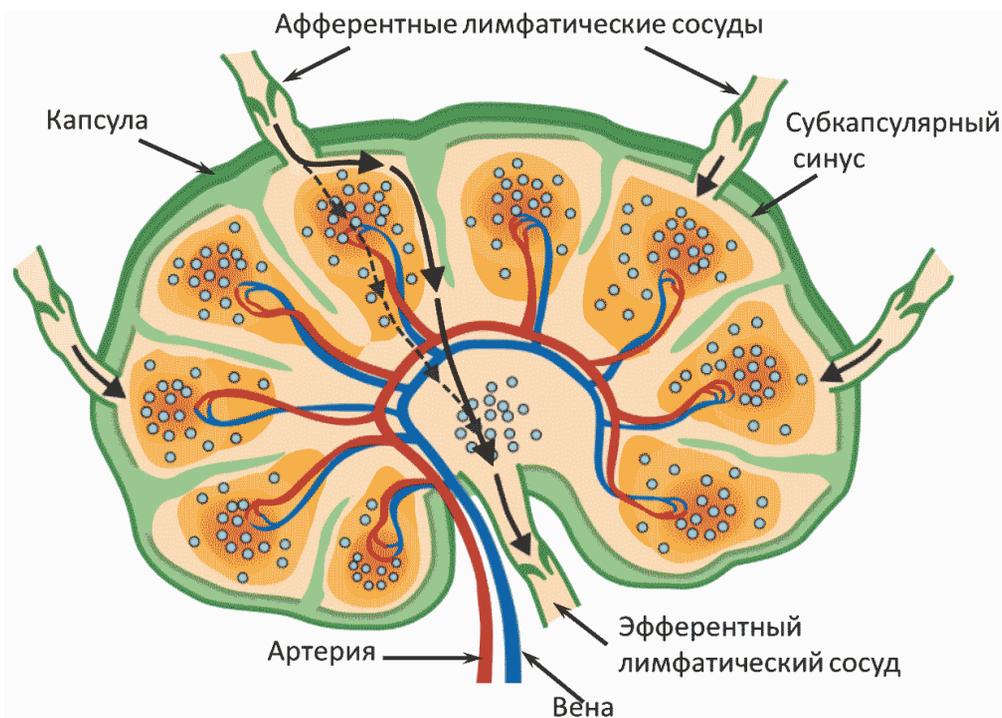


Рис. 4. Лимфатический узел (схема). Сплошными стрелками показано движение лимфы в ЛУ по пути: субкапсулярный синус – интерфолликулярный синус – медуллярный синус – эфферентный лимфатический сосуд. Пунктирные стрелки – движение лимфы через фолликулы

Fig. 4. Lymph node (scheme). Solid arrows show the movement of lymph in the LN along the path: subcapsular sinus – interfollicular sinus – medullary sinus – efferent lymphatic vessel. Dotted arrows – the movement of lymph through the follicles

Лимфатические узлы

У человека насчитывается от 450 до 600 ЛУ, рассеянных по всему организму. ЛУ представляют собой инкапсулированные органы, в которых основу капсулы составляет соединительнотканый каркас с неравномерно расположенными пучками ГМК, ориентированными в разных направлениях. Ультраструктура ГМК капсулы ЛУ принципиально не отличается от ультраструктуры миоцитов в ЛС: вытянутая клетка с центрально расположенным ядром, многочисленные митохондрии (подтверждающие способность клеток к высокой активности) располагаются в цитоплазме вблизи полюсов ядра. Тонкие филаменты, соответствующие миофибриллам, рассредоточены по всей длине саркоплазмы. Между соседними клетками часто выявляются плотные контакты (нексусы), позволяющие быстро передавать возбуждение с клетки на клетку, что создает условия для функционирования ГМК капсулы ЛУ как единого целого [57].

Основой структуры ЛУ являются стромальные клетки, формирующие трехмерную сеть, которая обеспечивает жесткий каркас для организации транспорта лимфы и создает пути для миграции лимфоцитов. В строме принято выделять субкапсулярный синус, синусы в глубокой коре, трабекулярные и медуллярные синусы. Губчатый каркас паренхимы узла состоит из коллагеновых и эластических волокон, на которых наложены ретикулярные клетки. В паренхиме выделяют три основные области: кору, где находятся В-клеточные фолликулы, область паракортекса с Т-фолликулами и корковыми синусами и мозговое вещество, в котором расположены медуллярные тяжи и синусы (рис. 4) [57]. Ретикулярные (лимфатические

эндотелиальные) клетки с прикрепленными к ним макрофагами образуют сложную трехмерную сеть, заполняющую просвет синусов. Рядом с синусами расположены высокоэндотелиальные венулы, через которые циркулирующие в крови лимфоциты попадают в паренхиму узла. Высокий эндотелий венул экспрессирует большое количество аквапоринов-1, участвующих в абсорбции воды из лимфы в кровь. Поступающая в узел жидкость и мигрирующие клетки протекают по узлу преимущественно в следующей последовательности: субкапсулярные синусы → трабекулярные синусы → медуллярные синусы. Жидкость и мигрирующие клетки могут также проникать в кору через щели между эндотелиальными клетками на дне субкапсулярного синуса и в дальнейшем через фолликулы, контактируя с большим количеством лимфоцитов [58]. Эндотелиальные клетки синусов ЛУ обеспечивают сортировку антигенов, переносимых лимфой в паренхиму ЛУ, и сами могут служить антигенпрезентирующими клетками. Эндотелиальные клетки синусов ЛУ также управляют органо-генезом ЛУ. При развитии адаптивных иммунных реакций под влиянием ряда сигнальных молекул, продуцируемых эндотелиальными клетками синусов ЛУ, происходит быстрое и обширное увеличение ЛУ. Объем и количество клеток в воспаленных ЛУ могут возрасти в 20 раз. При этом сохраняется сложная внутренняя структура органов, что свидетельствует о существовании механизмов, способных сбалансировать целостность ЛУ со структурной гибкостью [58].

ЛУ является критически важным элементом лимфатической системы. Именно здесь происходит контакт антигенпрезентирующих клеток и антигенов

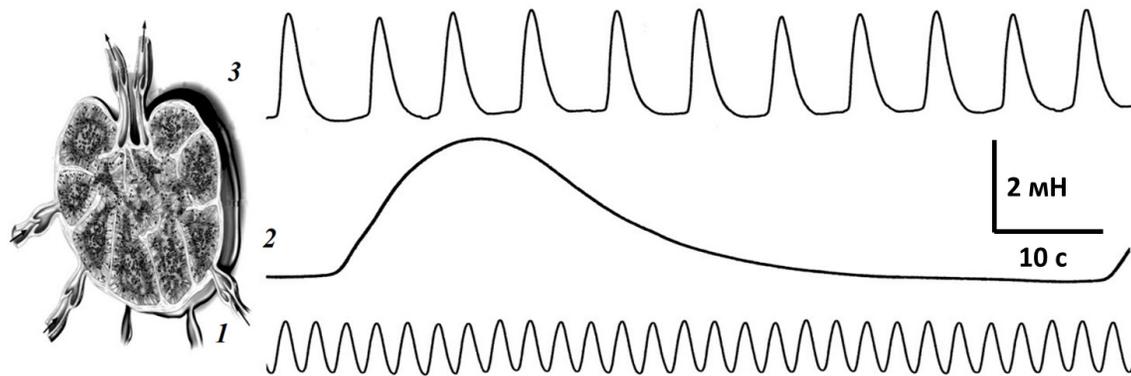


Рис. 5. Фазные сокращения гладких мышц: 1 – афферентного лимфатического сосуда; 2 – капсулы лимфатического узла; 3 – эфферентного лимфатического сосуда. Исходное натяжение соответствовало трансмуральному давлению 4 см H_2O

Fig. 5. Phase contractions of smooth muscles: 1 – afferent lymphatic vessel; 2 – capsule of the lymph node; 3 – efferent lymphatic vessel. The initial tension corresponded to transmural pressure 4 cm H_2O

из лимфы и лимфоцитов, рекрутированных в ЛУ из крови. Приток клеток и антигенов в дренирующие ЛУ происходит в субкапсулярный синус. Дно субкапсулярного синуса выстлано слоем макрофагов, которые настолько важны для развития иммунных реакций, что получили специальное название – макрофаги субкапсулярного синуса [58, 59]. Эти макрофаги являются первой линией иммунной защиты в узле, которая взаимодействует с антигенами, переносимыми лимфой. Они отбирают антигены, свободно плавающие в афферентной лимфе в течение нескольких минут после их поступления в субкапсулярный синус. При антимикробных реакциях эти макрофаги могут прямо или косвенно активировать другие клетки врожденного иммунитета в ЛУ для борьбы с патогенами, а также активировать Т- и В-клетки для адаптивного иммунитета. Макрофаги субкапсулярного синуса продуцируют несколько цитокинов, в том числе различные виды интерферонов [59].

Сложная организация ЛУ (синусы узлов имеют значительную протяженность и узкие просветы (20–60 мкм), они пронизаны отростками литоральных клеток [57]) приводит к значительному повышению их гидродинамического сопротивления по сравнению с ЛС. Соответственно, необходимы дополнительные силы, которые будут обеспечивать перемещение лимфы по синусам ЛУ к эфферентным ЛС. В литературе в основном представлены данные об иммунологической функции ЛУ и их роли в распространении опухолевых клеток. О том, что ЛУ принимают активное участие в транспорте лимфы, до последнего времени упоминалось лишь в нескольких работах [60]. Позднее сократительная функция капсулы ЛУ была изучена более детально [61, 62]. Было установлено, что капсула ЛУ в начальной стадии растяжения, соответствующего трансмуральному давлению от 0 до 5 см H_2O , обладает высокой растяжимостью, что облегчает приток лимфы в ЛУ по афферентным ЛС. Расчеты показали, что последние лимфангионы афферентных ЛС, развивающие в процессе фазных сокращений высокое трансмуральное давление, способны эффективно закачивать лимфу в ЛУ, но не могут прокачать ее в выносящие ЛС. Последнюю функцию выполняют гладкие мышцы капсулы ЛУ, которые развивают небольшие подъемы внутриузло-

вого давления (до 5–7 см H_2O), но с учетом их значительной продолжительности (до 70 с) обеспечивают эффективное перемещение лимфы по синусам узла от афферентных ЛС к воротам ЛУ (рис. 5) [62].

Активный транспорт лимфы по ЛУ модулируется несколькими механизмами. В первую очередь, это миогенная саморегуляция, реализуемая за счет высокой механочувствительности ГМК ЛУ: чем больше растяжение ГМК, тем большая сила развивается ими в процессе сокращения. Подобный механизм позволяет подстраивать активную транспортную функцию ЛУ в соответствии с объемом поступающей по афферентным ЛС лимфы. Важную роль в регуляции параметров фазных сокращений капсулы ЛУ играют эндотелиоциты субкапсулярного синуса, продуцирующие несколько веществ, изменяющих амплитуду и частоту ГМК капсулы ЛУ: NO, простагландины, цитокины [63, 64]. Продуцируемые клетками окружающих тканей физиологически активные вещества (гепарин, гистамин, брадикинин) также модулируют сократительную функцию ЛУ [65].

ЛУ являются не только местом развития иммунного ответа, но и его активным модулятором, обеспечивая транспортный механизм не только для антигенов, но и для эндогенных иммуномодуляторов, продуцируемых в воспаленных периферических тканях. Запуск и развитие адаптивных иммунных реакций в ЛУ приводят к их быстрому ремоделированию (значительному увеличению их объема с сохранением сложной внутренней структуры). Увеличение вместимости ЛУ для размещения увеличенного объема афферентной лимфы и рекрутирования наивных лимфоцитов и облегчения их встречи с антигенами и антигенпрезентирующими клетками имеет решающее значение для осуществления иммунного надзора. При этом одновременно с увеличением количества входящих в воспаленный ЛУ иммунных клеток блокируется выход из него лимфоцитов [66]. По завершении иммунного наблюдения наивные Т-клетки, а также активированные антигеном эффекторные клетки и клетки памяти выходят из ЛУ с эфферентной лимфой и по ЛС возвращаются в систему кровообращения и, в конечном итоге, поступают в места воспаления. Адаптивный иммунитет является сложным процессом, скорость его развития,

интенсивность иммунной реакции и ее продолжительность определяются множеством химических веществ, как постоянно циркулирующих в плазме крови, так и образующихся в процессе воспаления [67]. Среди множества естественных иммуномодуляторов особое место занимают глюкокортикоиды, обладающие мощными противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами и широко используемые для лечения как острых, так и хронических воспалительных заболеваний, а также в качестве иммуносупрессоров после трансплантации органов. Установлено, что глюкокортикоиды в терапевтических концентрациях приводят к повышению тонуса капсулы ЛУ, увеличению частоты и снижению амплитуды фазных сокращений. Раскрыты негеномные механизмы действия глюкокортикоидов на ЛУ: они активируют в ГМК сигнальный путь RhoA/ROCK и ингибируют синтез эндотелиоцитами NO и PGI₂. При хроническом воспалении и сепсисе эндогенные и экзогенные глюкокортикоиды существенно ослабляют экспрессию iNOS и COX-2 в ЛС и ЛУ и, таким образом, способствуют улучшению оттока лимфы от воспаленных органов [64].

Нарушения транспортной функции ЛС и ЛУ

Важность ЛС и ЛУ для баланса жидкости и макромолекул в ткани наиболее наглядно видна в случае развития лимфатической недостаточности, т. е. несоответствия объемов образующейся и оттекающей от ткани лимфы.

Лимфедема. Наиболее частым клиническим последствием неадекватного функционирования лимфатической системы является лимфедема. Это состояние представляет собой отек тканей, вызванный накоплением жидкости и белков вследствие нарушения оттока лимфы [68]. Лимфедема обычно классифицируется как первичная (врожденная), если в ЛС или ЛУ развиваются патологические изменения, препятствующие току лимфы, или как вторичная (приобретенная), если заболевание, затрудняющее или облитерирующее лимфатические пути, началось в другом месте. Развитие лимфедемы может быть результатом как анатомических проблем, так и функциональной недостаточности ЛС. Нарушение лимфодренажа способствует накоплению белков и клеточных метаболитов, что сопровождается повышением онкотического давления в тканях, увеличению содержания воды и повышению интерстициального давления. При переходе в хроническое состояние наблюдается увеличение количества фибробластов и адипоцитов в отечных тканях. Увеличивается содержание коллагена в сочетании с избыточным ростом жировой и соединительной ткани внутри и вокруг отечной ткани. В основе первичной лимфедемы лежат дефицит транскрипционного фактора FOXC2 или мутация, которая инактивирует передачу сигналов тирозинкиназы VEGFR-3, в основном в ЛС [69].

Вторичная лимфедема распространена значительно шире по сравнению с первичной. Она развивается после разрушения лимфатических путей воспалительными, опухолевыми и хирургическими процессами. Отек руки после удаления подмышечных ЛУ

и последующего облучения (классические процедуры при лечении рака молочной железы) – наиболее яркий пример вторичной лимфедемы в развитых странах. Но наиболее частой причиной вторичной лимфедемы является филяриатозы. Заболевание вызывается нитевидными нематодами, личинки которых развиваются во взрослых червей в афферентных ЛС и закупоривают их.

Воспалительная дисфункция ЛС. Хорошо известно, что острое воспаление обычно сопровождается увеличением лимфотока. Одной и, по-видимому, важнейшей из причин, приводящих к возрастанию лимфотока, является действие гистамина, высвобождаемого при воспалении из тучных клеток. Гистамин усиливает микрососудистую фильтрацию и проницаемость микрососудов, стимулируя увеличение образования лимфы [70]. По мере развития воспаления миелоидные клетки (моноциты, нейтрофилы и эозинофилы) экспрессируют iNOS, которая образует значительные количества NO, ингибирующего сократительную функцию ЛС и ЛУ [63, 64, 71]. Хроническое воспаление является фактором, способствующим дисфункции лимфатической системы, при этом выявляется дилатация ЛС и уменьшение частоты их сокращений. Причиной подобных изменений является длительно повышенная концентрация гистамина, а также появление и накопление в воспаленной ткани других компонентов воспалительного коктейля (простаноиды, NO, брадикинин). Кроме того, вещество P, кальцитонин-ген-связанный пептид (CGRP) и нейропептид Y, образующиеся в воспаленных тканях и являющиеся важными регуляторами иммунных и воспалительных реакций, оказывают значительное негативное влияние на сократительную способность ЛС [72].

Провоспалительные цитокины (интерлейкин (IL)-1 α и -1 β) также вызывают значительное ингибирование транспортной функции ЛС. Методом инфракрасной флуоресцентной визуализации *in vivo* было установлено, что введение липолисахарида, IL-1 β , TNF α или IL-6 через 4 ч приводило к прекращению сокращений ЛС [73]. Ингибирующее влияние вышеуказанных цитокинов обусловлено преимущественно гиперпродукцией NO и реализуется через активацию iNOS [74]. ЛС воспаленных тканей развивают меньшую силу сокращений также за счет снижения чувствительности миофиламентов их ГМК к Ca²⁺ по сравнению с миофиламентами ЛС контрольных животных.

Рассматривая изменения ЛС при воспалении, необходимо остановиться также на воспалительном лимфангиогенезе. Поскольку основной функцией ЛС является отвод избыточной жидкости из периферических тканей в виде лимфы, лимфангиогенез с сопутствующим увеличением оттока лимфы может быть важной ответной реакцией на повреждение. Было обнаружено, что лимфангиогенез встречается при хронических воспалительных заболеваниях, таких как псориаз, хроническое воспаление дыхательных путей, воспалительные заболевания тонкой и толстой кишки и почек и ревматоидный артрит. Кроме того, лимфангиогенез часто ассоциируется с отторжением трансплантатов почки и легких.

Принято выделять клеточные и гуморальные медиаторы воспалительного лимфангиогенеза. Наиболее важным клеточным медиатором являются макрофаги. В-клетки являются критическими для раннего лимфангиогенеза, на более поздней стадии к ним присоединяются нейтрофилы. Из гуморальных факторов, стимулирующих воспалительный лимфангиогенез, необходимо отметить VEGF-A и VEGF-C, которые вырабатываются кератиноцитами, фибробластами и макрофагами [75]. Однако, помимо VEGF-C, в процесс активации лимфангиогенеза вовлечено много дополнительных факторов, таких как IL-17, IL-8 и др. Ряд цитокинов оказывают ингибирующий эффект на лимфангиогенез: IL-4 и IL-13, интерферон- γ .

На ранних стадиях воспаления лимфангиогенез может представлять собой положительный ответ на повреждение путем увеличения оттока лимфы и, следовательно, дренажа медиаторов воспаления и иммунных клеток из воспаленных тканей в ЛУ. Следует отметить, что, в отличие от кровеносных сосудов, которые быстро регрессируют после исчезновения воспаления, новообразованные ЛС могут сохраняться длительно и даже пожизненно [75]. Биологическое значение этого персистирования ЛС к настоящему времени неясно. При этом необходимо отметить, что длительное функционирование большого количества новых ЛС, поддерживая транспорт антигенов и лейкоцитов, может способствовать чрезмерной активации иммунной системы.

Заключение

Публикуемые в последние годы в значительном количестве новые данные значительно расширяют наши знания о физиологии и патологии лимфатической системы. Недавние успехи в понимании физиологии ЛС и ЛУ во многом объясняются новым пониманием механизмов развития лимфатических сетей и их окончательной анатомической структуры в различных органах тела. Большие надежды на раскрытие тонких механизмов функционирования лимфатической системы и выявление возможных точек медикаментозного воздействия с целью оптимизации лимфотока возлагаются на исследования с использованием генетически модифицированных мышей. Продолжение исследования физиологии лимфатической системы является важным приоритетом для дальнейшего понимания развития многих болезней [76].

Все рисунки, использованные в настоящей статье, являются интеллектуальной собственностью авторского коллектива.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Bernardin JF, Kambouchner M, Lacave R. Lymphatic vascular system, development and lymph formation. *Review. Rev Pneumol Clin.* 2013;69(2):93–101. Doi: 10.1016/j.pneumo.2013.01.005.

2. Plog BA, Nedergaard M. The Glymphatic System in Central Nervous System Health and Disease: Past, Present, and Future. *Annu Rev Pathol.* 2018;13:379–394. Doi: 10.1146/annurev-pathol-051217-111018.

3. Park PJ, Chang M, Garg N, Zhu J, Chang JH, Shukla D. Corneal lymphangiogenesis in herpetic stromal keratitis. *Surv Ophthalmol.* 2015;60(1):60–71. Doi: 10.1016/j.survophthal.2014.06.001.

4. Mendoza E, Schmid-Schonbein GW. A model for mechanics of primary lymphatic valves. *J Biomech Eng.* 2003;125:407–414. Doi: 10.1115/1.1568128.

5. Leak LV, Burke JF. Ultrastructural studies on the lymphatic anchoring filaments. *J Cell Biol.* 1968;36(1):129–149.

6. Aukland K, Reed RK. Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume. *Physiol Rev.* 1993;73(1):1–78. Doi: 10.1152/physrev.1993.73.1.1.

7. Michel CC. Starling: the formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. *Exp Physiol.* 1997;82:1–30. Doi: 10.1113/exp-physiol.1997.sp004000.

8. Bert JL, Reed RK. Flow conductivity of rat dermis is determined by hydration. *Biorheology.* 1995;32(1):17–27. Doi: 10.3233/bir-1995-32102.

9. Schmid-Schonbein GW. Microlymphatics and lymph flow. *Physiol Rev.* 1990;70(4):987–1028. Doi: 10.1152/physrev.1990.70.4.987.

10. Dixon JB, Raghunathan S, Swartz MA. A tissue-engineered model of the intestinal lacteal for evaluating lipid transport by lymphatics. *Biotechnol Bioeng.* 2009;103(6):1224–1235. Doi: 10.1002/bit.22337.

11. Bohlen HG, Unthank JL. Rat intestinal lymph osmolarity during glucose and oleic acid absorption. *Am J Physiol.* 1989;257(3 Pt 1):G438–G446. Doi: 10.1152/ajpgi.1989.257.3.G438.

12. Fadnes HO. Colloid osmotic pressure in interstitial fluid and lymph from rabbit subcutaneous tissue. *Microvasc Res.* 1981;21(3):390–392. Doi: 10.1016/0026-2862(81)90022-4.

13. Dzieciatkowska M, Wohlaer MV, Moore EE, Damle S, Peltz E, Campsen J, Kelher M, Silliman C, Banerjee A, Hansen KC. Proteomic analysis of human mesenteric lymph. *Shock.* 2011;35(4):331–338. Doi: 10.1097/SHK.0b013e318206f654.

14. Vinuesa CG, Chang PP. Innate B cell helpers reveal novel types of antibody responses. *Nat Immunol.* 2013;14(2):119–126. Doi: 10.1038/ni.2511.

15. Borisov AV. Functional anatomy of lymphangion. *Morfologija.* 2005;128(6):18–27.

16. D'Andrea V, Panarese A, Taurone S, Coppola L, Cavallotti C, Artico M. Human Lymphatic Mesenteric Vessels: Morphology and Possible Function of Aminergic and NPY-ergic Nerve Fibers. *Lymphat Res Biol.* 2015;13(3):170–175. Doi: 10.1089/lrb.2015.0018.

17. Borisov AV. The theory of the design of the lymphangion. *Morfologija.* 1997;112(5):7–17.

18. Mazzoni MC, Skalak TC, Schmid-Schonbein GW. Structure of lymphatic valves in the spinotrapezius muscle of the rat. *Blood Vessels.* 1987;24(6):304–312. Doi: 10.1159/000158707.

19. Riquet M, Le Pimpec Barthes F, Souilamas R, Hidden G. Thoracic duct tributaries from intrathoracic organs. *Ann Thorac Surg.* 2002;73(3):892–898; discussion 898–899. Doi: 10.1016/s0003-4975(01)03361-6.

20. Granger DN. Intestinal microcirculation and transmucosal fluid transport. *Am J Physiol.* 1981;240(5):G343–G349. Doi: 10.1152/ajpgi.1981.240.5.G343.

21. Kohan AB, Yoder SM, Tso P. Using the lymphatics to study nutrient absorption and the secretion of gastrointestinal hormones. *Physiol Behav.* 2011;30;105(1):82–88. Doi: 10.1016/j.physbeh.2011.04.056.

22. Azzali G. Structure, lymphatic vascularization and lymphocyte migration in mucosa-associated lymphoid tissue. *Immunol Rev.* 2003;195:178–189. Doi: 10.1034/j.1600-065x.2003.00072.x.
23. Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(10):679–691. Doi: 10.1038/nri2622.
24. Wang XN, McGovern N, Gunawan M, Richardson C, Windebank M, Siah TW, Lim HY, Fink K, Li JL, Ng LG, Ginhoux F, Angeli V, Collin M, Haniffa M. A three-dimensional atlas of human dermal leukocytes, lymphatics, and blood vessels. *J Invest Dermatol.* 2014;134(4):965–974. Doi: 10.1038/jid.2013.481.
25. Leak LV, Jamuar MP. Ultrastructure of pulmonary lymphatic vessels. *Am Rev Respir Dis.* 1983;128(2 Pt 2):S59–65. Doi: 10.1164/arrd.1983.128.2P2.S59.
26. Weber E, Sozio F, Borghini A, Sestini P, Renzoni E. Pulmonary lymphatic vessel morphology: a review. *Ann Anat.* 2018;218:110–117. Doi: 10.1016/j.aanat.2018.02.011.
27. Лобов Г. И. Роль лимфатической системы в гомеостазе интерстициальной жидкости в легких и плевральной жидкости // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 104–112. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-1-104-112. [Lobov GI. The role of the lymphatic system in the homeostasis of the interstitial fluid in the lung and pleural liquid. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2019;18(1):104–112. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-1-104-112u.
28. Zweifach BW, Prather JW. Micromanipulation of pressure in terminal lymphatics in the mesentery. *Am J Physiol.* 1975;228(5):1326–1335. Doi: 10.1152/ajplegacy.1975.228.5.1326.
29. Лобов Г. И., Орлов Р. С. Саморегуляция насосной функции лимфангиона // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. – 1988. – Т. 74, № 7. – С. 977–986. [Lobov GI, Orlov RS. Self-regulation of the pumping function of the lymphangion. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova.* 1988;74(7):977–986. (In Russ.)].
30. Razavi MS, Nelson TS, Nepiyushchikh Z, Gleason RL, Dixon JB. The relationship between lymphangion chain length and maximum pressure generation established through in vivo imaging and computational modeling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2017;313(6):H1249–H1260. Doi: 10.1152/ajpheart.00003.2017.
31. Lobov GI. The Rheological Properties of the Large Lymphatic Vessels. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova.* 1990;76(3):371–377. (In Russ.).
32. Crowe MJ, von der Weid PY, Brock JA, Van Helden DF. Coordination of contractile activity in guinea-pig mesenteric lymphatics. *J Physiol.* 1997;500(Pt 1):235–244. Doi: 10.1113/jphysiol.1997.sp022013.
33. Breslin JW. Mechanical forces and lymphatic transport. *Microvasc Res.* 2014;96:46–54. Doi: 10.1016/j.mvr.2014.07.013.2014.
34. Zawieja DC. Contractile Physiology of Lymphatics. *Lymphat Res Biol.* 2009;7(2):87–96. Doi: 10.1089/lrb.2009.0007.
35. Orlov RS, Lobov GI. Ionic mechanisms of the electrical activity of the smooth-muscle cells of the lymphatic vessels. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova.* 1984;70(5):712–721. (In Russ.).
36. Zhang R, Taucer AI, Gashev AA, Muthuchamy M, Zawieja DC, Davis MJ. Maximum shortening velocity of lymphatic muscle approaches that of striated muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;305(10):H1494–1507. Doi: 10.1152/ajpheart.00898.2012.
37. Muthuchamy M, Zawieja D. Molecular regulation of lymphatic contractility. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1131:89–99. Doi: 10.1196/annals.1413.008.
38. von der Weid PY, Crowe MJ, Van Helden DF. Endothelium-dependent modulation of pacemaking in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery. *J Physiol.* 1996;493(Pt 2):563–575. Doi: 10.1113/jphysiol.1996.sp021404.
39. von der Weid PY, Rahman M, Intiaz MS, van Helden DF. Spontaneous transient depolarizations in lymphatic vessels of the guinea pig mesentery: pharmacology and implication for spontaneous contractility. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295(5):H1989–2000. Doi: 10.1152/ajpheart.00007.2008.
40. Лобов Г. И. Электрофизиологические свойства мембраны гладкомышечных клеток лимфатических сосудов быка // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. – 1985. – № 3. – С. 271–276. [Lobov GI. Electrophysiological properties of the membrane of smooth muscle cells from bovine lymphatic vessels. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimi i fiziologii.* 1985;21(3):271–276. (In Russ.)].
41. Лобов Г. И. Локализация и свойства пейсмекерных клеток лимфангиона // Докл. Акад. наук. – 1987. – Vol. 294, № 2. – С. 353–359. [Lobov GI. Location and properties of the pacemaker cells of the lymphangion. *Doklady Biological Sciences.* 1987;294(2):353–359. (In Russ.)].
42. Mizuno R, Koller A, Kaley G. Regulation of the vasomotor activity of lymph microvessels by nitric oxide and prostaglandins. *Am J Physiol.* 1998;274(3):R790–R796. Doi: 10.1152/ajpregu.1998.274.3.R790.
43. Wong BW, Zecchin A, Garcia-Caballero M, Carmeliet P. Emerging Concepts in Organ-Specific Lymphatic Vessels and Metabolic Regulation of Lymphatic Development. *Dev Cell.* 2018;45(3):289–301. Doi: 10.1016/j.devcel.2018.03.021.
44. von der Weid PY. Lymphatic Vessel Pumping. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1124:357–377. Doi: 10.1007/978-981-13-5895-1_15.
45. Koller A, Mizuno R, Kaley G. Flow reduces the amplitude and increases the frequency of lymphatic vasomotion: role of endothelial prostanoids. *Am J Physiol.* 1999;277(6):R1683–R1689. Doi: 10.1152/ajpregu.1999.277.6.R1683.
46. Leak LV, Cadet JL, Griffin CP, Richardson K. Nitric oxide production by lymphatic endothelial cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;217(1):96–105. Doi: 10.1006/bbrc.1995.2750.
47. von der Weid PY, Crowe MJ, van Helden DF. Endothelium-dependent modulation of pacemaking in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery. *J Physiol.* 1996;493(Pt 2):563–575. Doi: 10.1113/jphysiol.1996.sp021404.
48. Rehal S, von der Weid PY. Experimental ileitis alters prostaglandin biosynthesis in mesenteric lymphatic and blood vessels. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2015;116–117:37–48. Doi: 10.1016/j.prostaglandins.2014.11.001.
49. Lobov GI, Dvoretzki DP. Endothelium-dependent hyperpolarization-mediated relaxation pathway in bovine mesenteric lymph nodes. *Doklady Biological Sciences.* 2019;484(1):10–12.
50. Лобов Г. И. Роль сероводорода в дилатации брыжеечных лимфатических сосудов быка. *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 2020. – Т. 169, № 3. – С. 272–276. [Lobov GI. The role of hydrogen sulfide in the dilatation of the bovine mesenteric lymphatic vessels. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2020;169(3):272–276. (In Russ.)].
51. Unt DV, Lobov GI. Inhibitory effect of interferons on contractive activity of bovine mesenteric lymphatic vessels and nodes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2017;164(2):123–126.
52. Лобов Г. И., Панькова М. Н., Абдрешов С. Н. Фазные и тонические сокращения лимфатических сосудов и узлов при действии предсердного натрийуретического пептида // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. –

2015. – Т. 14, № 3. – С. 72–77. [Lobov GI, Pankova MN, Abdreshov SN. Phase and tonic contractions of the lymphatic vessels and nodes under the action of the atrial natriuretic peptide. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2015;14(3):72–77. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2015-14-3-72-77.

53. Lobov GI, Unt DV. Protective effect of dexamethasone on lipopolysaccharide-induced inhibition of contractile function of isolated lymphatic vessels and nodes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;165(5):602–605. Doi: 10.1007/s10517-018-4222-7.

54. D'Andrea V, Panarese A, Taurone S, Coppola L, Cavallotti C, Artico M. Human lymphatic mesenteric vessels: morphology and possible function of aminergic and NPY-ergic nerve fibers. *Lymphat. Res Biol*. 2015;13(3):170–175. Doi: 10.1089/lrb.2015.0018.

55. Telinius N, Baandrup U, Rumessen J, Pilegaard H, Hjortdal V, Aalkjaer C, Boedtker DB. The human thoracic duct is functionally innervated by adrenergic nerves. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;15;306(2):H206–213. Doi: 10.1152/ajpheart.00517.2013.

56. Hashimoto S, Kawai Y, Ohhashi T. Effects of vasoactive substances on the pig isolated hepatic lymph vessels. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;269(2):482–488.

57. Ohtani O, Ohtani Y. Structure and function of rat lymph nodes. *Arch Histol Cytol*. 2008;71(2):69–76. Doi: 10.1679/aohc.71.69.

58. Louie DAP, Liao S. Lymph Node Subcapsular Sinus Macrophages as the Frontline of Lymphatic Immune Defense. *Front Immunol*. 2019;10:347. Doi: 10.3389/fimmu.2019.00347.

59. Angel CE, Chen CJ, Horlacher OC, Winkler S, John T, Browning J, MacGregor D, Cebon J, Dunbar PR. Distinctive localization of antigen-presenting cells in human lymph nodes. *Blood*. 2009 Feb 5;113(6):1257–1267.

60. Thornbury KD, McHale NG, Allen JM, Hughes G. Nerve-mediated contractions of sheep mesenteric lymph node capsules. *J Physiol*. 1990 Mar;422:513–522. Doi: 10.1113/jphysiol.1990.sp017998.

61. Hughes GA, Allen JM. Neural modulation of bovine mesenteric lymph node contraction. *Exp Physiol*. 1993;78(5):663–674. Doi: 10.1113/expphysiol.1993.sp003714.

62. Lobov GI, Pankova MN. Mechanical properties of lymph node capsule. *Bull Exp Biol Med*. 2011;151(1):5–8. Doi: 10.1007/s10517-011-1246-7.

63. Лобов Г. И., Панькова М. Н. NO-зависимая модуляция сократительной функции гладких мышц капсулы лимфатических узлов // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2010. – Т. 96, № 5. – С. 489–497. [Lobov GI, Pan'kova MN. NO-dependent Modulation of Contractile Function in Capsule of Lymph Nodes. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I. M. Sechenova*. 2010;96(5):489–497. (In Russ.)].

64. Лобов Г. И., Унт Д. В. Дексаметазон предотвращает сепсис-индуцированное угнетение сократительной функции лимфатических сосудов и узлов посредством ингибирования индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы-2 // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2019. – Т. 105, № 1. – С. 76–88. [Lobov GI, Unt DV. Dexamethasone prevents sepsis-induced inhibition of the contractile function of the lymphatic vessels and nodes by inhibiting inducible NO synthase and cyclooxygenase-2. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I. M. Sechenova*. 2019;105(1):76–88. (In Russ.)].

65. Pan'kova MN, Lobov GI. Effect of heparin on contractile activity of lymph node capsule. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2015;159(5):632–634.

66. Acton SE, Reis E Sousa C. Dendritic cells in remodeling of lymph nodes during immune responses. *Immunol Rev*. 2016;271(1):221–229. Doi: 10.1111/immr.12414.

67. Holdsworth SR, Gan PY. Cytokines: Names and Numbers You Should Care About. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(12):2243–2254. Doi: 10.2215/CJN.07590714.

68. Dayan JH, Ly CL, Kataru RP, Mehrara BJ. Lymphedema: Pathogenesis and Novel Therapies. *Annu Rev Med*. 2018 Jan 29;69:263–276. Doi: 10.1146/annurev-med-060116-022900.

69. von der Weid P-Y. Lymphatic Vessel Pumping. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1124:357–377. Doi: 10.1007/978-981-13-5895-1_15.

70. von der Weid PY. Review article: lymphatic vessel pumping and inflammation – the role of spontaneous constrictions and underlying electrical pacemaker potentials. *Aliment Pharmacol Ther*. 200115(8):1115–1129. Doi: 10.1046/j.1365-2036.2001.01037.x.

71. Liao S, Cheng G, Conner DA, Huang Y, Kucherlapati RS, Munn LL, Ruddle NH, Jain RK, Fukumura D, Padera TP. Impaired lymphatic contraction associated with immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(46):18784–18789. Doi: 10.1073/pnas.1116152108.

72. von der Weid PY, Muthuchamy M. Regulatory mechanisms in lymphatic vessel contraction under normal and inflammatory conditions. *Pathophysiology*. 2010;17(4):263–276. Doi: 10.1016/j.pathophys.2009.10.005.

73. Aldrich MB, Sevick-Muraca EM. Cytokines are systemic effectors of lymphatic function in acute inflammation. *Cytokine*. 2013;64(1):362–369. Doi: 10.1016/j.cyto.2013.05.015.

74. Chen Y, Rehal S, Roizes S, Zhu HL, Cole WC, von der Weid PY. The pro-inflammatory cytokine TNF-alpha inhibits lymphatic pumping via activation of the NF-kappaB-iNOS signaling pathway. *Microcirculation*. 2017;24(3):10.1111/micc.12364. Doi: 10.1111/micc.12364.

75. Schwager S, Detmar M. Inflammation and Lymphatic Function. *Front Immunol*. 2019;26(10):308. Doi: 10.3389/fimmu.2019.00308.

76. Breslin JW, Yang Y, Scallan JP, Sweat RS, Adderley SP, Murfee WL. Lymphatic Vessel Network Structure and Physiology. *Compr Physiol*. 2018;9(1):207–299. Doi: 10.1002/cphy.c180015.

Информация об авторах

Лобов Геннадий Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова» РАН, Санкт-Петербург, e-mail: gilobov@yandex.ru.

Непиюших Жанна Вячеславовна – научный сотрудник лаборатории физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова» РАН, Санкт-Петербург, e-mail: nezhanha@gmail.com.

Author information

Lobov Gennady I. – MD, Professor, Head Laboratory of Physiology of Cardiovascular and Lymphatic Systems, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, e-mail: gilobov@yandex.ru.

Nepiyushchikh Zhanna V. – MD, Research Scientist II, Laboratory of Physiology of Cardiovascular and Lymphatic Systems, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, e-mail: nezhanha@gmail.com.

УДК 611.42

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-19-24

А. Л. АКОПОВ, Г. В. ПАПАЯН, А. А. ИЛЬИН

Прижизненное изучение направления оттока лимфы при раке легкого с помощью индоцианина зеленого

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
E-mail: Akopovand@mail.ru

Статья поступила в редакцию 25.05.20; принята к печати 17.07.20

Резюме

Введение. Точное знание особенностей и направления лимфооттока от органов особенно важно с точки зрения комплексной диагностики и лечения онкологических заболеваний. **Цель.** Изучение особенностей оттока лимфы от легких при помощи инфракрасной флуоресценции у больных раком легкого. **Материалы и методы.** Методика инфракрасной флуоресцентной лимфографии реализована путем перитуморальной инъекции раствора индоцианина зеленого (ИЦЗ) в процессе анатомических резекций легких у 92 больных немелкоклеточным раком легкого. Достоверно визуализировать флуоресценцию ИЦЗ, как минимум, в 1 регионарном лимфатическом узле (ЛУ) корня легкого или средостения удалось у 70 (76 %) пациентов, которые явились материалом исследования. **Результаты.** Накопление ИЦЗ выявлено у 63 % больных в ЛУ и корня и средостения, в 27 % случаев – только в ЛУ средостения, у 10 % больных – только в прикорневых группах ЛУ. Отсутствовала четкая закономерность поражения различных групп ЛУ в зависимости от инъекции ИЦЗ в ту или иную долю легкого. **Выводы.** У больных раком легкого ток лимфы от разных долей легких характеризуется вариабельностью, может быть направлен в различные лимфатические узлы, как корня легкого, так и средостения.

Ключевые слова: лимфоотток, лимфатические узлы, инфракрасная флуоресцентная визуализация, индоцианин зеленый, рак легкого

Для цитирования: Акопов А. Л., Папаян Г. В., Ильин А. А. Прижизненное изучение направления оттока лимфы при раке легкого с помощью индоцианина зеленого. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):19–24. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-19-24.

UDC 611.42

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-19-24

А. Л. АКОПОВ, Г. В. ПАПАЯН, А. А. ИЛИН

Intravital study of lymphatic drainage in lung cancer using indocyanine green

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: Akopovand@mail.ru

Received 25.05.20; accepted 17.07.20

Summary

Introduction. The knowledge of lymph efflux and its features seems to be significant for diagnosis and treatment of cancer diseases. The purpose of this paper is exploration of the lymph efflux from lungs by infrared fluorescence in patients with lung cancer. **Materials and methods.** Indocyanine green (ICG) was injected peritumorally during the lung resection in 92 patients with non-small cells lung cancer (NSCLC). We managed to reliably visualize ICG fluorescence in at least 1 regional lymph node (LN) of the lung root or mediastinum in 70 patients (76%), they are included in the study. **Results.** The accumulation of ICG was detected in 63% of patients in the LN of the root and mediastinum, in 27% of cases - in the mediastinum only, in 10% of patients - in the hilar nodes only. There was no correlation between lesion of lymph node group and ICG injection in any lung lobe. **Conclusions.** The lymph efflux from different lung lobe is variable in patients with lung cancer. The lymph can run toward the nodes of both lung root and mediastinum.

Keywords: lymph flow, lymph nodes, infrared fluorescence, indocyanine green, lung cancer

For citation: Akopov A. L., Papayan G. V., Ilin A. A. Intravital study of lymphatic drainage in lung cancer using indocyanine green. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):19–24. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-19-24.

Введение

Точное знание особенностей и направления лимфооттока от органов особенно важно с точки зрения комплексной диагностики и лечения онкологических заболеваний. Уточнение степени распространенности злокачественной опухоли в регионарные лимфатические узлы обязательно для стадирования, на основании чего принимается решение о выборе метода лечения и последующей оценке динамики процесса. Знание путей лимфооттока от пораженного опухолью органа позволяет сконцентрировать внимание и диагностические ресурсы на определенных лимфоколлекторах, регламентирует объем лимфодиссекции при оказании хирургического пособия [1, 2].

Долгое время пути лимфооттока исследовались лишь на трупном материале с использованием различного рода красителей, информативность таких анатомических исследований невысока [3, 4]. Технологии прижизненной визуализации лимфатической системы появились относительно недавно, методы отличаются физическим принципом, используемой аппаратурой и контрастным веществом. Принято считать, что наиболее информативный метод – лимфосцинтиграфия с использованием радиоактивных маркеров. Однако реализация этой технологии трудоемка, связана с целым рядом ограничений, дорогостоящей аппаратурой, небезопасна для больного и медицинского персонала.

В последнее время с целью прижизненного изучения лимфооттока используются оптические методы, основанные на флуоресценции, суть которой состоит в поглощении света одной длины волны и ответном излучении света другой длины волны. Применение в качестве возбуждающего излучения ближнего инфракрасного спектра позволяет рассчитывать на наиболее глубокое проникновение в биологические ткани. К преимуществам можно также отнести отсутствие необходимости в дорогостоящем

и громоздком оборудовании, высоком пространственном и временном разрешении, позволяющем проводить исследование *in vivo* в режиме реального времени, абсолютную безвредность для пациентов и персонала [4, 5]. Наиболее изученным препаратом для флуоресцентной диагностики в ближнем инфракрасном спектре является индоцианин зеленый (ИЦЗ). Флуоресценция ИЦЗ возбуждается при длине волны 750–810 нм, а эмиссия регистрируется на длинах волн выше 820 нм. Глубина визуализации при этом может достигать 2–3 см [6].

Целью исследования явилось изучение закономерностей оттока лимфы у больных раком легкого при помощи инфракрасной флуоресценции.

Материалы и методы исследования

Проспективное исследование проводили в отделе торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины ПСПбГМУ с одобрения этического комитета ПСПбГМУ. Принципы Хельсинкской 2013 г. декларации соблюдены в полном объеме. Перед включением в исследование получено письменное информированное согласие пациентов.

В исследовании использована созданная в Центре лазерной медицины ПСПбГМУ с участием Российского научного центра в Сеуле (Республика Корея) и компании «ВОЛО» (Санкт-Петербург, Россия) система FLUM – 808, подробная характеристика которой опубликована ранее [7]. В качестве флуоресцирующего агента применяли лиофилизат ИЦЗ (*Pulsion medical systems, AG, Германия*), растворенный в дистиллированной воде и смешанный с 20 %-м альбумином человека (АЧ) в пропорции, обеспечивавшей соотношение масс АЧ/ИЦЗ не менее 90, что по соотношению числа молекул соответствует 1:1 [8].

С сентября 2015 г. по январь 2019 г. методика индоцианиновой флуоресценции реализована в процессе анатомических резекций легких у 92 больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Сразу после торакотомии или введения в плевральную полость троакаров при торакокопии раствор ИЦЗ в смеси с АЧ в количестве 3 мл и концентрации 0,2 мг/мл вводился перитуморально в 3–4 точках на глубину примерно 1–1,5 см. Выделение элементов корня легкого, тем самым пересечение путей лимфооттока, начиналось через 5 мин после инъекции ИЦЗ, затем выполнялась стандартная резекция легкого в необходимом объеме и ипсилатеральная лимфодиссекция. В операционной, сразу же после удаления препарата, проводилась тщательная оценка флуоресценции зоны первичной опухоли, легочной паренхимы, всех удаленных ЛУ и жировой клетчатки (рис. 1). Удаленные ЛУ маркировали и подвергали плановому патоморфологическому исследованию.

Наличие флуоресценции в ЛУ свидетельствовало о попадании в него введенного перитуморально ИЦЗ (рис. 1). Соответственно, устанавливая локализацию флуоресцирующих ЛУ, можно определить путь оттока лимфы, содержащей ИЦЗ, от мест введения ИЦЗ вокруг опухоли. Так как перитуморальную инъекцию раствора ИЦЗ во всех наблюдениях проводили в долю легкого, в которой локализовалась первичная

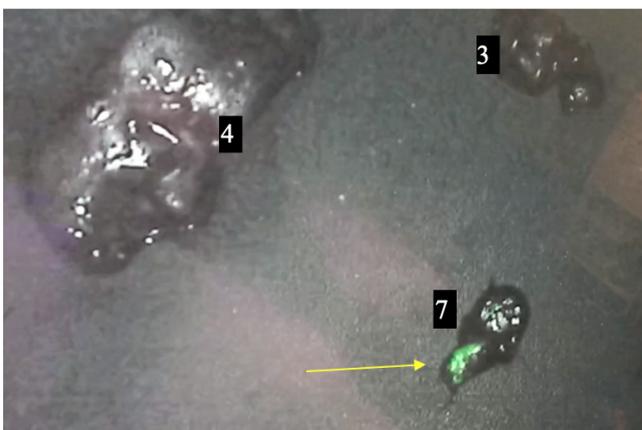


Рис. 1. Удаленные регионарные ЛУ в свете флуоресценции. Регистрация флуоресценции ИЦЗ в ЛУ группы 7 (стрелкой отмечено место накопления ИЦЗ и его флуоресценция в ближнем инфракрасном свете) и отсутствие флуоресценции в других ЛУ (группы 3 и 4). Цифрами обозначен номер группы ЛУ

Fig. 1. Regional LN resected in the light of fluorescence are presented, ICG fluorescence in the LN of group 7 (the arrow indicates the accumulation of ICG and its fluorescence in the near infrared light) and the absence of fluorescence in other LNs (groups 3 and 4). The figures indicate the number of the group of LNs

опухоль, сопоставление путей лимфооттока с локализацией первичной опухоли позволяло исследовать путь тока лимфы у каждого больного.

Внутригрудные ЛУ классифицировались по группам согласно рекомендациям Международной ассоциации по изучению рака легкого (IASLC) [9], подразумевающим выделение следующих групп ЛУ – *медиастинальных N2* (верхних (2) и нижних (4) пара-трахеальных, превазальных (3), аортопульмонального окна (5 и 6), бифуркационных (7), пищеводных (8), легочной связки (9)) и *прикорневых N1* (10 и 11). Если флуоресценцию фиксировали в нескольких ЛУ одной группы, то это расценивали как один ЛУ, так как в большинстве наблюдений удалялись не ЛУ изолированно, а жировая клетчатка той или иной группы с содержащимися в ней ЛУ. При всех правосторонних операциях лимфодиссекция включала в себя группы 2R, 3R, 4R, 7, 8, 9R, 10, 11; при всех левосторонних операциях – группы 5,6,7,8,9L,10,11. У части больных, оперированных на левом легком, удаляли и ЛУ группы 4L (только при наличии увеличенных размеров этих ЛУ на компьютерных томограммах).

Результаты исследования и их обсуждение

Достоверно визуализировать флуоресценцию ИЦЗ, как минимум, в 1 регионарном ЛУ корня легкого или средостения удалось у 70 (76 %) пациентов. Соответственно, особенности лимфогенного распространения ИЦЗ изучались только у этих пациентов. При патоморфологическом исследовании Ia стадия НМРЛ диагностирована у 23 (33 %) больных, Ib стадия – у 9 (13 %) больных, IIa стадия – у 12 (17 %) больных, IIb стадия – у 5 (7 %) больных, IIIa стадия – у 17 (26 %) больных, IIIb стадия – у 4 (6 %) больных. Плоскоклеточный рак легкого диагностирован у 25 (36 %) пациентов, аденокарцинома – у 36 (52 %) больных, другие варианты НМРЛ – у 9 (12 %) пациентов. Лобэктомию выполнена 49 (70 %) пациентам, билобэктомию – 5 (7 %) пациентам, пневмоэктомию – 16 (23 %) пациентам.

Общее число удаленных групп ЛУ составило 312, в среднем 4, 5 групп ЛУ у каждого больного. Флуоресцирующими являлись 171 ЛУ (55 %), в среднем 2,4 ЛУ у 1 больного. У 14 (20 %) больных флуоресценция зарегистрирована в одном ЛУ, у 18 (26 %)



Рис. 2. Флуоресценция в лимфатических узлах
Fig. 2. Fluorescence in lymph nodes

больных – в 2 ЛУ, у 20 (28 %) больных – в 3 ЛУ, у 12 (18 %) больных – в 4 ЛУ, у 5 (7 %) больных – в 5 ЛУ, и у 1 (1 %) больного – в 7 регионарных ЛУ. Накопление ИЦЗ выявлено у 63 % больных в ЛУ и корня легкого и средостения, у 27 % больных – только в ЛУ средостения, у 10 % больных – только в прикорневых группах ЛУ (рис. 2).

При локализации опухоли в верхней доле правого легкого (24 больных) наиболее часто, в 71 % наблюдений, флуоресцирующие ЛУ локализовались в 4 группе ЛУ, в 58 % наблюдений – в 10 и 11 группах ЛУ, в 50 % случаев зафиксирована флуоресценция в 7 группе, в 30 % – в 3 группе (таблица). У 9 (38 %) из 24 пациентов ИЦЗ не попал в прикорневые группы лимфоузлов, а его накопление зарегистрировано в 4 группе, а у 4 (45 %) из этих 9 – и в 7 группе ЛУ (рис. 4).

Учитывая небольшое количество пациентов с опухолевым поражением средней и нижней доли правого легкого, полученные данные регистрации попадания флуоресцирующего вещества в ЛУ от этих долей суммированы, общее число больных – 16 (23 %). Наиболее часто, в 63 % наблюдений, флуоресценция зарегистрирована в ЛУ 10 и 11 групп, в 44 % наблюдений – в 7 группе, у 38 % больных – в 4 группе и у 25 % больных – в 3 группе ЛУ (таблица). Флуоресценция в 3 и 7 группах у 3 из 4 пациентов (75 %) выявлена при отсутствии флуоресценции в 10 группе ЛУ (рис. 3).

Частота накопления ИЦЗ в регионарных ЛУ в зависимости от локализации зон инъекции препарата в легкое (указаны значения более 30 %)

The frequency of ICG accumulation in regional LN depending on the localization of the ICG injection site (values more than 30 % are indicated)

Группа	Верхняя доля правого легкого, n=24 (34 %), n (%)	Средняя и нижняя доли правого легкого, n=16 (23 %), n (%)	Верхняя доля левого легкого, n=18(26 %), n (%)	Нижняя доля левого легкого, n=12 (17 %), n (%)
10/11	14 (58)	10 (63)	12 (67)	7 (58)
9				5 (42)
7	12 (50)	7 (44)	8 (44)	7 (58)
6			6 (33)	6 (50)
5			5 (28)	
4	17 (71)	6 (38)		
3	7 (30)	4 (25)		

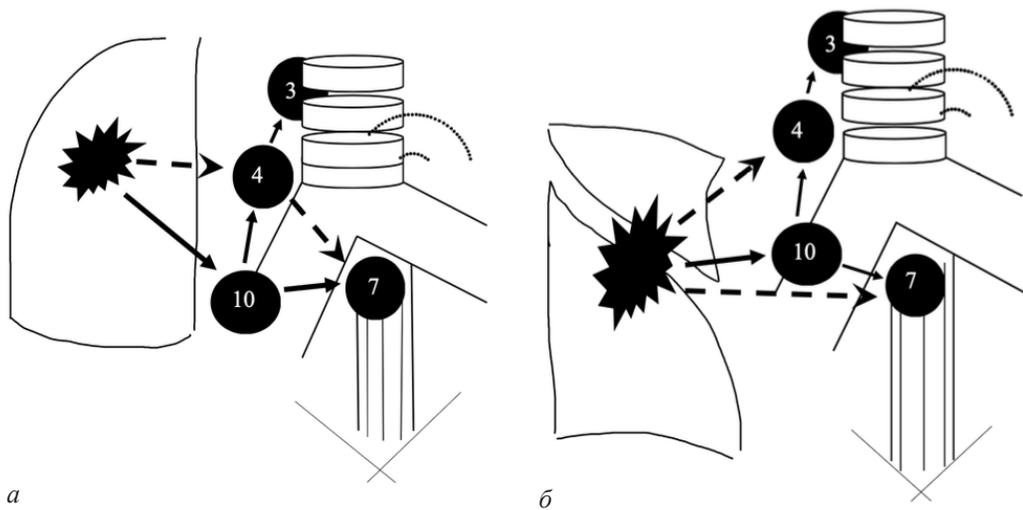


Рис. 3. Направление тока лимфы правого легкого: *а* – от верхней доли правого легкого; *б* – от средней и нижней долей правого легкого; сплошная стрелка – основной путь лимфооттока; пунктирная стрелка – дополнительный путь лимфооттока

Fig. 3. Direction of lymph flow, right lung: *a* – from the upper lobe; *b* – from the middle and lower lobes; the solid arrow is the main path of lymph outflow; the dashed arrow is an additional path of lymph outflow

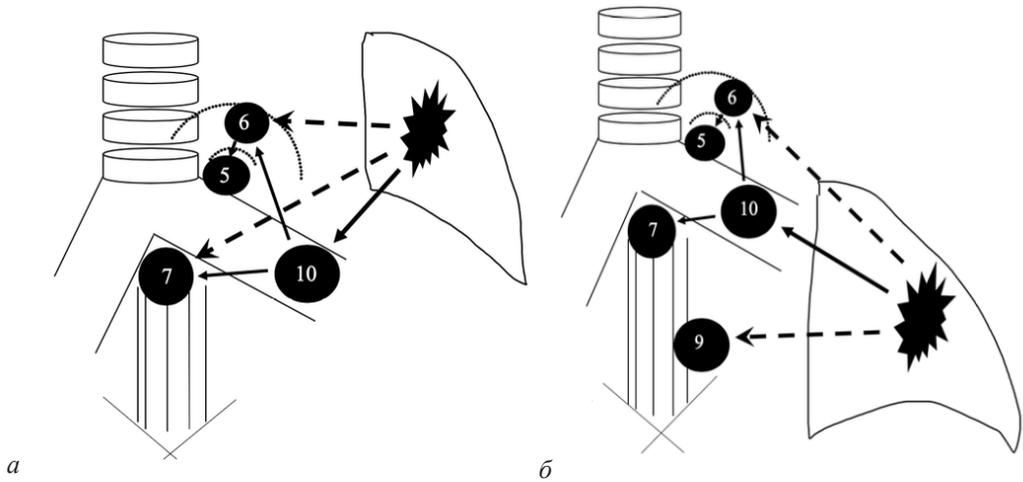


Рис. 4. Направление тока лимфы от долей левого легкого: *а* – от верхней доли левого легкого; *б* – от нижней доли левого легкого; сплошная стрелка – основной путь лимфооттока; пунктирная стрелка – дополнительный путь лимфооттока

Fig. 4. Direction of lymph flow, left lung: *a* – from the upper lobe; *b* – from the lower lobe; the solid arrow is the main path of lymph outflow; the dashed arrow is an additional path of lymph outflow

При локализации опухоли в верхней доле левого легкого (18 пациентов) наиболее часто, в 67 % наблюдений, зоны флуоресценции локализовались в 10 и 11 группах ЛУ, в 44 % наблюдений – в 7 группе ЛУ, у 33 % исследуемых отмечалось наличие флуоресцирующих ЛУ в 6 группе и у 28 % больных – в 5 группе ЛУ (таблица). У 5 (28 %) из 18 больных накопление ИЦЗ не было зарегистрировано в прикорневых группах ЛУ, при этом у 3 (60 %) из этих 5 пациентов ИЦЗ накопился в 6 группе ЛУ, а у 2 больных – в 7 группе ЛУ.

При первичном поражении опухолью нижней доли левого легкого (12 пациентов) флуоресценция зафиксирована в 58 % наблюдений в 10 и 11 группах ЛУ, в 58 % наблюдений – в 7 группе ЛУ, в 50 % наблюдений – в 6 группе ЛУ, в 42 % наблюдений – в 9 группе ЛУ (таблица). Накопление ИЦЗ в медиастинальных ЛУ (группы 6, 9) у 2 больных имело место при отсутствии накопления в прикорневых ЛУ (рис. 4).

При плановом патоморфологическом исследовании метастазы в ЛУ диагностированы у 32 (46 %)

из 70 больных, степень регионарного лимфогенного метастазирования N1 (только в прикорневых ЛУ) имела место в 15 (47 %) наблюдениях, N2 (поражение медиастинальных ЛУ) – в 17 (53 %) наблюдениях. Причем ЛУ только групп N2 (без N1) были поражены у 9 (53 %) больных из 17.

Клиническое значение знания путей оттока лимфы из легкого, пораженного злокачественной опухолью, чрезвычайно велико и связано, в первую очередь, с необходимостью удаления во время операции всех групп внутригрудных ЛУ, которые не только уже поражены, но и могут быть вовлечены в метастатический процесс [1]. Результаты самого тщательного предоперационного обследования, включающего в себя выполнение позитронно-эмиссионной томографии, не позволяют точно выделить пораженные группы ЛУ. Принципы выполнения резекций легких при раке основаны на результатах гистологического исследования удаленного регионарного лимфатического аппарата, которое информативно только в

случае поражения ЛУ метастазами [9]. К сожалению, как в норме, так и при патологических состояниях определить направление лимфооттока легких практически не удавалось, хотя предпринимались попытки анализа изменений во внутригрудных ЛУ при компьютерной томографии, в том числе у больных грибковыми заболеваниями легких [10]. Современная классификация регионарных внутригрудных ЛУ, применяемая в торакальной онкологии, предусматривает точное разграничение различных групп ЛУ корня легкого и средостения, причем необходимость удаления разных групп определяется локализацией первичной опухоли в той или иной доле легкого [11, 12], что объясняется большей частотой поражения метастазами именно этих групп ЛУ. По мнению некоторых авторов, систематическая лимфодиссекция, т. е. удаление всех групп ЛУ со стороны операции независимо от локализации опухоли в той или иной доле легкого, позволяет выявить большее число метастатического поражения в удаленных ЛУ и тем самым обеспечить больший радикализм операции [13–15]. Следует, однако, признать, что степень доказательности необходимого объема лимфодиссекции крайне невысока.

Более того, нередко у больных раком легкого имеет место поражение метастазами ЛУ средостения, в то время как прикорневые ЛУ остаются интактными, что с позиции анатомической последовательности оттока лимфы в регионарные ЛУ объяснить непросто [14, 16].

Именно в связи с этим в данной работе на основе новой методики ИЦЗ лимфографии мы попытались определить группы ЛУ, куда наиболее часто оттекает лимфа от каждой доли легкого у больных НМРЛ. Эта технология открывает все больше возможностей для визуализации скрытых от невооруженного глаза изменений и анатомических деталей [6, 7, 17].

Описываемая в данной статье методика выявления флуоресцирующих внутригрудных ЛУ позволила установить некоторые закономерности тока лимфы в зависимости от локализации первичной опухоли. Например, при локализации первичной опухоли в верхней доле правого легкого наиболее часто флуоресцировали трахеобронхиальные лимфоузлы (у 70 % больных), затем прикорневые (65 %) и бифуркационные лимфоузлы (50 %). При локализации опухоли в верхней доле левого легкого – прикорневые (65 %) и бифуркационные лимфоузлы (45 %). Интересно, что попадание ИЦЗ зарегистрировано в ЛУ и средостения, и корня легкого у 63 %, только в медиастинальные ЛУ – 27 %, только в прикорневые ЛУ – 10 %. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии четкой закономерности поражения различных групп ЛУ в зависимости от локализации опухоли в той или иной доле легкого, а также о возможности попадания опухолевых клеток с током лимфы в медиастинальные ЛУ, минуя прикорневые. Так, у 53 % больных метастазы в ЛУ групп N2 выявлены при патоморфологическом исследовании при отсутствии метастатического поражения ЛУ групп N1. Возможно, это связано с первичным поражением различных сегментов одной доли, лимфоотток от

которых может быть разным, этот вопрос ранее не изучался [3]. Другой вероятной причиной вариабельности лимфооттока могут являться индивидуальные анатомические особенности строения лимфатической системы, а также приобретенные изменения в ней, накопленные в течение жизни пациентов.

Таким образом, говорить об одном пути оттока лимфы от каждой доли легкого не приходится (рис. 4). Напротив, исходя из полученных данных, наиболее часто лимфоотток направлен сразу в несколько групп ЛУ, как прикорневых, так и медиастинальных, что подтверждает необходимость систематической лимфодиссекции при хирургическом лечении больных раком легкого.

Выводы

1. Технология инфракрасной флуоресценции позволяет изучать лимфоотток от внутренних органов, в том числе и в условиях опухолевой патологии.

2. У больных раком легкого ток лимфы от разных долей легких характеризуется вариабельностью, может быть направлен в различные лимфатические узлы, как корня легкого, так и средостения.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. De Leyn P, Lardinois D, Van Schil P et al. European Trends in Preoperative and Intraoperative Nodal Staging: ESTS Guidelines. *Journal of Thoracic Oncology*. 2007;2(4):357–361. Doi: 10.1097/01.jto.0000263722.22686.1c.
2. Ndiaye A, Dimarino V, Ndiaye A, Gaye M, Ba PS, Nazarian S. Variations in lung lymphatic drainage into the inferior tracheobronchial lymph nodes junction: Applications in lung cancer. *Clin Anat*. 2016;29(7):955–962. Doi: 10.1002/ca.22751.
3. Topol M, Mastoń A. The problem of direct lymph drainage of the bronchopulmonary segments into the mediastinal and hilar lymph nodes. *Clin Anat*. 2009;22(4):509–516. Doi: 10.1002/ca.20790.
4. Sevick-Muraca EM, Kwon S, Rasmussen JC. Emerging lymphatic imaging technologies for mouse and man. *J. Clin. Invest*. 2014;124(3):905–914. Doi: 10.1172/JCI71612.
5. Bollinger A, Amann-Vesti BR. Fluorescence microlymphography: diagnostic potential in lymphedema and basis for the measurement of lymphatic pressure and flow velocity. *Lymphology*. 2007;40(2):52–62.
6. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A et al. Review of Indocyanine Green Fluorescent Imaging in Surgery. *Inter. J. Biomed. Imaging*. 2012;(1):940585. Doi: 10.1155/2012/940585.
7. Papayan G, Akopov A. Potentials of Indocyanine Green Near-Infrared Fluorescence Imaging in Experimental and Clinical Practice. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2018;24:292–299. Doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.10.011.
8. Папаян Г. В., Чегу С. Г., Петрищев Н. Н. и др. Возможность использования конъюгата индоцианина зеленого с альбумином для инфракрасной флуоресцентной диагностики патологических процессов в эксперименте // Вопросы онкологии. – 2016. – Т. 6. – С. 839–844. [Papayan GV, Chegu SG, Petrishchev NN, Ilin AA, Akopov AL. *Vozmozhnost ispolzovanya konyugata indocianina zelenogo s albuminom dlya infrakrasnoi flourescentnoi diagnostiki patologicheskikh processov v eksperimente. Voprosi onkologii*. 2016;6:839–844. (In Russ.)].

9. Rusch VW, Asamura H, Watanabe H, Giroux DJ, Rami-Porta R, Goldstraw P. The IASLC Lung Cancer Staging Project: A Proposal for a New International Lymph Node Map in the Forthcoming Seventh Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. Elsevier BV. 2009;4(5):568–577. Doi: 10.1097/jto.0b013e3181a0d82e.

10. Takahashi K, Stanford W, Van Beek E, Thompson B, Mullan B, Sato Y. Mediastinal lymphatic drainage from pulmonary lobe based on CT observations of histoplasmosis: implications for minimal N2 disease of non-small-cell lung cancer. *Radiat Med*. 2007;25:393–401. Doi: 10.1007/s11604-007-0156-0.

11. Asamura H, Nakayama H, Kondo H et al. Lobe-specific extent of systematic lymph node dissection for non-small cell lung carcinomas according to a retrospective study of metastasis and prognosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1999;117(6):1102–1111.

12. Hishida T, Saji H, Watanabe SI et al. A randomized phase III trial of lobe-specific vs. systematic nodal dissection for clinical stage I-II non-small cell lung cancer (JCOG1413). *Jpn J Clin Oncol*. 2018;48(2):190–194. Doi: 10.1093/jco/hyx170.

13. Riquet M, Rivera C, Pricopi C et al. Is the lymphatic drainage of lung cancer lobe-specific? A surgical appraisal. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2015;47(3):543–549. Doi: 10.1093/ejcts/ezu226.

14. Bille A, Woo KM, Ahmad U et al. Incidence of occult pN2 disease following resection and mediastinal lymph node dissection in clinical stage I lung cancer patients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2017;51(4):674–679. Doi: 10.1093/ejcts/eww400.

15. Han H, Chen H. Selective lymph node dissection in early-stage non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis*. 2017;9(7):2102–2107. Doi: 10.21037/jtd.2017.06.04.

16. Fang L, Xu J, Ye B, Yu G, Chen G, Yang J. Is lobe specific lymph node dissection adequate for cN0–1 non-small cell lung cancer? *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2020;15:46. Doi: 10.1186/s13019-020-1087-4.

17. Meacci E, Nachira D, Chiappetta M, Congedo MT, Petracca-Ciavarella L, Ferretti G, Margaritora S. Editorial on Long-term outcomes after near-infrared sentinel lymph node mapping in non-small cell lung cancer. *Journal of thoracic disease*. 2018;10(33):3922–3926. Doi: 10.21037/jtd.2018.09.19.

Информация об авторах

Акопов Андрей Леонидович – д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: Akopovand@mail.ru.

Папаян Гарри Вазгенович – канд. техн. наук, старший научный сотрудник центра лазерной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, старший научный сотрудник НИЛ микроциркуляции ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: pgarry@mail.ru.

Ильин Андрей Андреевич – врач – торакальный хирург онкологического отделения № 4 (торакальной хирургии) НИИ хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: Andrewilyin@icloud.com.

Authors information

Akopov Andrey L. – MD, professor, Head of the Department of thoracic surgery, Research Institute for Surgery and Emergency Medicine, Pavlov University, Saint Petersburg, e-mail: Akopovand@mail.ru.

Papayan Garry V. – PhD, Pavlov University, Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, e-mail: pgarry@mail.ru.

Ilin Andrey A. – Department of thoracic surgery, Research Institute for Surgery and Emergency Medicine, Pavlov University, Saint Petersburg, e-mail: Andrewilyin@icloud.com

УДК 612.15

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-25-30

Е. Н. ГЛАГОЛЕВА¹, В. В. СИДОРОВ²,
Н. Д. ПОДОПЛЕКИНА¹, Д. Р. ФАЙЗУЛЛИНА³

Оценка микроциркуляторно-тканевых систем после косметологических процедур, направленных на коррекцию возрастных изменений

¹ ООО «КомМод», Санкт-Петербург, Россия

191014, Россия, Санкт-Петербург, ул. Парадная, д. 3, корп. 2, литер А, пом. 282Н

² ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия

123458, Россия, Москва, ул. Твардовского, д. 8, Технопарк «Строгино»

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

E-mail: lasmed@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 24.06.20; принята к печати 31.07.20

Резюме

Введение. Инволюционные процессы затрагивают не только сосуды микроциркуляторного русла или дерму, они приводят к изменениям функции и структуры всех компонентов кожи. В связи с чем целесообразно говорить о нарушениях микроциркуляторно-тканевой системы. **Целью** данной работы было проведение сравнительной оценки аппаратной, инъекционной и наружной терапии у пациентов косметологического профиля по функциональному состоянию микроциркуляторно-тканевой системы кожи лица. **Материалы и методы.** В исследовании участвовали 62 женщины, которым были проведены процедуры инъекционной терапии, аппаратной косметологии и профессиональной наружной терапии кожи лица. Для оценки результатов воздействия на микроциркуляцию, лимфоток и коферменты окислительного метаболизма были использованы методы лазерной доплеровской флоуметрии и лазерной флуоресцентной спектроскопии. **Результаты.** Периферический кровоток значимо не менялся, как и показатель лимфотока в контрольной и экспериментальных группах. Нутритивный кровоток значимо возрастал до 12,11 [11,17; 14,17] и 11,88 [10,59; 12,28] у пациентов, которым была проведена инъекционная и наружная терапии ($p < 0,001$ и $p = 0,010$ соответственно). Амплитуды флуоресценции никотинамид аденин динуклеотида (НАДН) значимо снижались во всех группах, по сравнению с контролем ($p < 0,001$, $p = 0,002$, $p = 0,008$), а ФАД – только после проведения инъекционной терапии ($p = 0,022$). **Заключение.** Применение инъекционных методик для коррекции возрастных изменений сопровождается улучшением трофики, нормализацией метаболических процессов в тканях. Исследование функциональных показателей микроциркуляции и окислительного метаболизма кожи лица может быть использовано для сравнительной оценки различных методов косметологического лечения, направленного на коррекцию возрастных изменений.

Ключевые слова: микроциркуляторно-тканевые системы, косметология, лазерная доплеровская флоуметрия, лазерная флуоресцентная спектроскопия

Для цитирования: Глаголева Е. Н., Сидоров В. В., Подоплека Н. Д., Файзуллина Д. Р. Оценка микроциркуляторно-тканевых систем после косметологических процедур, направленных на коррекцию возрастных изменений. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):25–30. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-25-30.

UDC 612.15

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-25-30

GLAGOLEVA E. N.¹, SIDOROV V. V.², PODOPLEKINA N. D.¹,
FAIZULLINA D. R.³

Evaluation of microcirculatory tissue systems after cosmetic procedures

¹ «KomMod» Ltd, Saint Petersburg, Russia

3, corp. I, lit. A, of. 282H, Paradnaya str., Saint Petersburg, Russia, 191014

² «LAZMA» SPE Ltd, Moscow, Russia

8, Tvardovskogo str., Industrial park «STROGINO», Moscow, Russia, 125252

³ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

6-8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

E-mail: lasmed@yandex.ru

Received 24.06.20; accepted 31.07.20

Summary

Relevance. Not only microvasculature and derma are involved in the involution processes. The involution also effects on the all components of skin resulting in its function and structure alterations. By this reason we can speak about the

disturbances of microcirculatory tissue system. The aim of this work was a comparative assessment of cosmetic equipment (PDL, IPL), mesotherapy and external skin care therapy in cosmetology patients by the functional state of microcirculatory tissue system of facial skin. *Materials and methods.* 62 women after mesotherapy, equipment cosmetology and professional external therapy of facial skin were involved in the exploration. We used the laser Doppler flowmetry and laser fluorescence spectroscopy for assessment the microcirculation, lymph flow and the oxidative metabolism coenzymes. *Results.* Peripheral blood flow did not change significantly, as the lymph flow rate in the control and experimental groups. Nutritional blood flow increased significantly to 12,11 [11,17; 14,17] and 11,88 [10,59; 12,28] in patients after injection and external therapy ($p < 0,001$ and $p = 0,010$, respectively). The NADH fluorescence amplitudes significantly decreased in all groups compared with the control ($p < 0,001$, $p = 0,002$, $p = 0,008$), and FAD decreased only after injection therapy ($p = 0,022$). *Conclusions.* The injections for correction the age-related skin changes improve the nutrition and normalize tissue metabolism. Our results can be useful in comparative assessment of different ways of the age-related skin changes cosmetic treatment.

Keywords: microcirculatory-tissue systems, cosmetology, laser Doppler flowmetry, laser fluorescence spectroscopy

For citation: Glagoleva E. N., Sidorov V. V., Podoplekina N. D., Faizullina D. R. Evaluation of microcirculatory tissue systems after cosmetic procedures. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2020;19(3):25–30. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-25-30.

Введение

Коррекция возрастных изменений – одно из основных направлений косметологии [1]. Разнообразие современных средств наружной терапии, инъекционных препаратов, лазерных приборов и других способов воздействия позволяет достигать высоких результатов, которые могут выступать даже в качестве альтернативы некоторым видам оперативных вмешательств пластической хирургии. Важным преимуществом медицинских косметологических процедур является то, что для устранения эстетических дефектов кожи используются воздействия, направленные на стимуляцию синтетической функции фибробластов, улучшение кровоснабжения и лимфооттока, гидратацию соединительно-тканых структур дермы, нормализацию функционирования сальных желез, восстановление барьерных функций эпидермиса [2–4].

Наиболее востребованными являются процедуры, направленные на коррекцию кожи лица и шеи. Отчасти это связано с тем, что она в большей степени подвержена негативному влиянию факторов внешней среды – ультрафиолетовому облучению, воздействию низких и высоких температур, химических веществ и многим другим [5]. Поэтому изучение сравнительных эффектов различных видов терапевтического воздействия целесообразно проводить именно в данной анатомической области.

Инволюционные процессы затрагивают не только сосуды микроциркуляторного русла или дерму, они приводят к изменениям функции и структуры всех компонентов кожи [6]. В связи с чем целесообразно говорить о нарушениях микроциркуляторно-тканевой системы (МТС). МТС – это структурно-функциональная единица органа, объединенная регуляторными механизмами, состоящая из специализированных клеток паренхимы, соединительной ткани, внеклеточного компонента, кровеносных и лимфатических микрососудов, окончаний нервных волокон. Результаты проводимых косметологических процедур целесообразно оценивать только при помощи неинвазивных методов диагностики. Одним из таких удобных, комплексных методов функциональной оценки МТС является лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), дополненная флуоресцентной спектрометрией мар-

керов окислительного метаболизма – восстановленного никотинамид аденин динуклеотида (НАДН) и окисленного флавинаденин динуклеотида (ФАД) [7]. ЛДФ позволяет получить информацию о динамике как кровотока, так и лимфотока сосудов микроциркуляторного русла [8]. Нуклеотиды находятся в митохондриях и цитоплазме клеток, их эндогенная флуоресценция регистрируется во многих тканях и, в частности, в коже [9]. Также данные коферменты выступают в качестве регуляторных молекул сигнальных путей, клеточной гибели, экспрессии генов и гомеостаза кальция [10–13]. В частности, в процессе старения рассматривается роль сиртуинов – НАД⁺-зависимых деацетилаз – в процессе старения [14]. Доказано участие НАДН в обеспечении внутриклеточной антиоксидантной функции, или, напротив, в образовании активных форм кислорода с развитием окислительного стресса [15]. Усиление флуоресценции НАДН в ткани в целом свидетельствует о сдвиге клеточного метаболизма в сторону гликолиза и/или снижения митохондриального дыхания [16].

Необходимо учитывать, что кожа лица имеет анатомо-физиологические особенности, которые определяют результаты косметологических процедур. Значительное влияние на их эффективность оказывает строение кожи данной области и, в частности, крово- и лимфоснабжение. Область лица имеет хорошее кровоснабжение за счет нескольких проходящих в данной области крупных сосудисто-нервных пучков и, как следствие, наличия большого количества коллатералей и анастомозов между ними. При проведении измерений *in vivo* принципиальным является получение диагностической информации из одной и той же области биоткани. Исследование выполняли в подглазничных областях. Данный участок выбран из-за анатомических особенностей топографии кровеносных сосудов лица. Ввиду близлежащих крупных анастомозирующих артерий и вен (*a. facialis*, *v. facialis*, *a. angularis*, *v. angularis*), а также расположения в проекции данной области *foramen infraorbitalis*, из которого выходят *a. infraorbitalis* и *v. infraorbitalis*, мы предположили, что данная область будет наиболее информативной для оценки выбранных нами диагностических показателей [17].

Современные методы медицинской косметологии, используемые для коррекции возрастных изменений, можно разделить на несколько основных направлений: инъекционная (биревитализация гиалуроновой кислотой, мезотерапия, плазмолифтинг и др.), аппаратная косметология (лазерная, микроотоковая, фототерапия, ультразвуковая кавитация и др.) и использование профессиональных косметических средств наружной терапии (кремы, сыворотки, химические пилинги и др.) [18, 19].

Целью работы было проведение сравнительной оценки аппаратной, инъекционной и наружной терапии у пациентов косметологического профиля по функциональному состоянию микроциркуляторно-тканевой системы кожи лица.

Материалы и методы исследования

В исследовании принимали участие 62 женщины, в возрасте от 26 до 50 лет (средний возраст составил $34 \pm 5,4$ года), до менопаузы, без признаков острой патологии дерматологического профиля. Все пациенты обратились в дерматокосметологическую клинику с жалобами на возрастные изменения кожи. Исключали женщин в периоде беременности и лактации. Пациентов разделили на следующие группы: 1-я – контроль ($n=20$); 2-я – пациенты, которым проводились процедуры аппаратной косметологии ($n=20$); 3-я – пациенты, которым проводили инъекционную терапию ($n=16$); 4-я – пациенты, которые получали профессиональную наружную терапию ($n=6$).

Инъекционная терапия проводилась при помощи препаратов гиалуроната натрия и смеси аминокислот (глицин, L-пролин, L-лизин моногидрохлорид, L-лейцин) *Jalupro (Jalupro, Италия)*, плазмотерапии с факторами роста *Endoret PRGF (Endoret, Испания)*, плазмотерапии *RegenACR (Regenlab, Швейцария)*. Было проведено от 2 до 4 процедур с промежутком между ними в 1–2 недели. Во время каждой процедуры объем вводимых препаратов составлял от 3 до 4 мл. Инъекции производили субдермально, в соответствии с реперными точками, а также в зонах депрессии кожи лица, которые являются индивидуальными у каждого пациента ввиду анатомических особенностей. Аппаратная косметология включала в себя использование импульсного лазера на красителе (pulsed dye laser – PDL) с длиной волны 595 нм *V-beam perfecta (Syneron Candela, US)* и интенсивного импульсного света (intensive pulse light – IPL) с длиной волны ~560 нм *Venus Versa (Venus Concept, Canada)*. Использовали следующие параметры лазерного воздействия: диаметр пятна – 10 мм, длина импульса – 10 мс, плотность энергии – 4 Дж/см²; интенсивного импульсного света: площадь – 10×30 мм, длина импульса – 20 мс, плотность энергии – 15 Дж/см². Терапия на PDL- и IPL-оборудовании проводилась в объеме от 2 до 4 процедур с промежутком между ними в 3–4 недели. Наружная терапия включала в себя использование химического пилинга на основе смеси кислот *BioRePeelC13 (CMED Aesthetics S.R.L., Италия)*. Было проведено от 2 до 4 процедур с промежутком 1–2 недели.

Диагностика состояния МТС пациентов проводилась через 10–14 дней после последней выполненной

процедуры для оценки отсроченного результата терапевтического воздействия. Обследование пациентов выполняли методами лазерной доплеровской флоуметрии микрогемо- и лимфоциркуляции и лазерной флуоресцентной спектроскопии. Регистрация диагностических показателей проводилась в положении лежа, в стандартных температурных условиях (22 ± 2 °C), после 15-минутного отдыха. Наложение датчика производили на кожу в подглазничной области.

В предлагаемом методе контроля состояния МТС, включающей в себя микроциркуляцию кровотока и лимфотока и окислительный метаболизм, совмещены ЛДФ и лазерная флуоресцентная спектроскопия. ЛДФ кровотока основана на анализе рассеянного и отраженного сигнала от движущихся эритроцитов, полученного при зондировании ткани лазерным излучением. Оценка лимфотока осуществляется также после регистрации излучения, отраженного от белковых макромолекул лимфы. Разделение соответствующих сигналов проводится путем частотной фильтрации для соответствующих диапазонов скоростей движения эритроцитов и частиц лимфотока. Для оценки окислительного метаболизма измеряют флуоресценцию коферментов на длинах волн излучения 460 и 510 нм – НАДН и ФАД соответственно. Исследование проводили при помощи диагностического лазерного аппарата «ЛАЗМА-СТ», состоящего из анализатора «ЛАЗМА-Д» и блока «ЛАЗМА-ТЕСТ» (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия).

Анализ проводили в соответствии с рекомендуемым в руководстве по эксплуатации протоколом. В ходе исследования оценивались следующие характеристики компартментов МТС.

1. Показатель периферического кровотока (МПП). Данный показатель пропорционален произведению числа эритроцитов на среднюю скорость их движения. Определяется методом ЛДФ в перфузионных единицах (пф. ед.).

2. Показатель нутритивного кровотока ($M_{\text{НУТР}}$). Это та часть объема кровотока, которая находится в капиллярах и регулируется работой прекапилляров. Определяется методом ЛДФ в перфузионных единицах (пф. ед.).

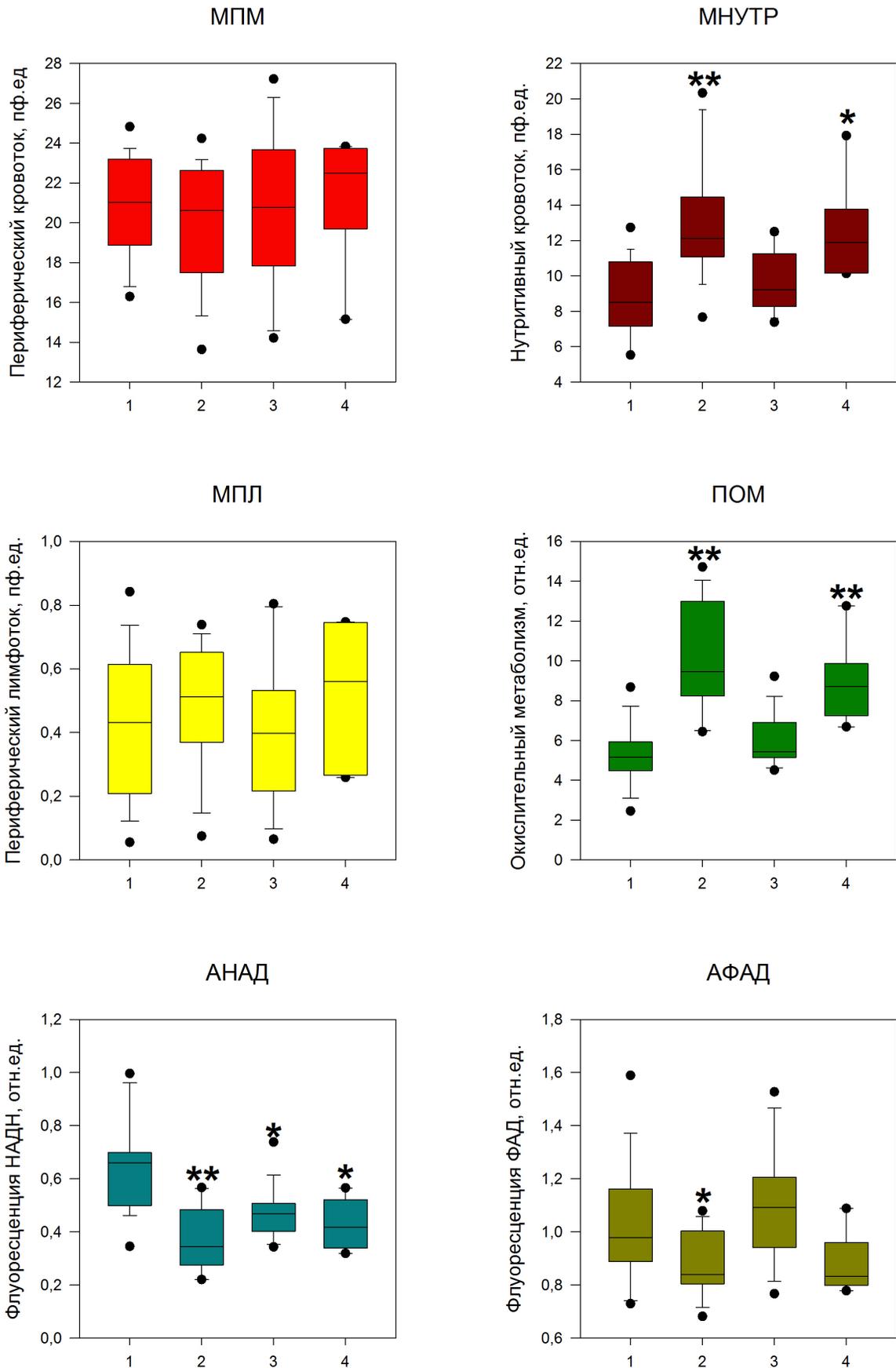
3. Показатель лимфотока (МПЛ). Данный показатель пропорционален произведению числа рассеивателей в лимфотоке на среднюю скорость их движения. Определяется методом ЛДФ в относительных единицах (отн. ед.).

4. Амплитуды флуоресценции НАДН (АНАДН) и ФАД (АФАД). Коферменты являются биомаркерами состояния окислительного метаболизма в исследуемой ткани. Определяются в относительных единицах (отн. ед.).

5. Показатель окислительного метаболизма (ПОМ), комплексный параметр, зависящий как от величины нутритивного кровотока в микроциркуляторном русле, так и от амплитуд флуоресценции коферментов. Определяется в относительных единицах (отн. ед.) и рассчитывается по формуле

$$\text{ПОМ} = M_{\text{НУТР}} \cdot (\text{АНАДН} + \text{АФАД}).$$

Характер распределения указанных величин проводили с помощью критерия Колмогорова – Смирнова.



Результаты анализа показателей кровотока, лимфотока и окислительного метаболизма у пациентов после различных косметологических процедур, Me [Q1; Q3]: 1 – группа контроля; 2 – инъекционная терапия; 3 – аппаратная косметология; 4 – наружная терапия. Различия статистически значимы в сравнении с контролем (критерий Манна – Уитни): * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$

Blood flow, lymph flow and oxidative metabolism results of analys in patients after various cosmetic procedures, Me [Q1; Q3]: 1 – control group; 2 – injection therapy; 3 – equipment cosmetology; 4 – professional external therapy. Differences are statistically significant in comparison with control (Mann–Whitney test): * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$

Поскольку распределение всех изучаемых показателей было отличным от нормального, для оценки различий между исследуемыми группами использовали проверку статистических гипотез с помощью критерия Манна – Уитни. Результаты представлены как медиана (Me), нижний (Q1) и верхний (Q3) квартили. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Периферический кровоток кожи лица в подглазничной области в контрольной группе составил 21,03 [18,99; 23,19] пф. ед. У пациентов, получавших различную терапию, показатель периферического кровотока значимо не менялся.

Нутритивный кровоток значимо возрастал у пациентов в группах инъекционной и наружной терапии ($p < 0,001$ и $p = 0,010$ соответственно) по сравнению с контролем. В соответствии с классификацией микроциркуляторных расстройств, данные изменения можно расценивать как умеренное усиление кровотока. Показатели лимфотока значимо не менялись в группах инъекционной, лазерной и наружной терапии. Амплитуды флуоресценции НАДН снижались во всех экспериментальных группах, ФАД – только после проведения инъекционной терапии. Показатель окислительного метаболизма значимо возрастал после инъекционной и наружной терапии ($p < 0,001$). Таким образом, у пациентов с усилением нутритивного кровотока и снижением коферментов будет отмечаться снижение данного показателя. Данная корреляция наблюдается во всех экспериментальных группах.

Показатели кровотока кожи демонстрируют умеренный положительный эффект после всех проводимых процедур. Однако, с точки зрения усиления кровотока, снижения окислительного стресса и митохондриальной дисфункции, наибольший прирост показателей наблюдался у пациентов после проведения инъекционной терапии.

Основное направление в эстетической косметологии – это профилактика и компенсация инволюционных изменений кожи. Терапевтические воздействия, направленные на достижение данной цели, крайне разнообразны, однако наибольшее распространение получили наружная терапия, инъекционные методики и аппаратная косметология. Необходимо отметить, что даже в рамках аппаратных методов фотоомоложения изменение параметров воздействия (длина волны, плотность мощности, длина импульса и др.) может приводить к различным клиническим результатам, в частности, является значимой разница между абляционным и неабляционным воздействием [20]. В данном исследовании наше внимание было сосредоточено на широко распространенных и современных вмешательствах, применение которых в практике врача-косметолога не сопряжено с высоким риском осложнений или нежелательных побочных реакций. Высокая востребованность данных процедур определяет необходимость обоснования их применения с позиций доказательной медицины. Среди неинвазивных методов оценки микроциркуляции ЛДФ занимает особое место и используется в научных целях и в настоящее время [21]. Однако дополнительные

измерения, такие как оценка лимфотока, нутритивного кровотока, флуоресценции коферментов окислительного метаболизма, используются не всегда и являются важными показателями при сравнительном изучении лекарственных или физических воздействий в норме и при патологии.

Исходя из полученных данных, можно говорить о том, что применение инъекционных методик препаратами для аминокислотно-заместительной терапии (Jalupro) и плазмотерапии (Endoret, Regenlab) значительно улучшает нутритивный кровоток в исследуемой области, и отмечается снижение амплитуд НАДН и ФАД. При этом повышение ПОМ в данной группе свидетельствует о снижении окислительного метаболизма МТС кожи лица пациентов. При проведении неабляционного фотоомоложения (IPL, PDL) мы наблюдали, что воздействие с выбранными параметрами значимо не влияет на кровоток и лимфоток через 2 недели после последней процедуры, однако селективно воздействует на метаболические процессы, снижая АНАДН. Также положительный эффект с позиций окислительного стресса отмечен в группе пациентов, которым проводили профессиональную наружную терапию.

Выявленные изменения положительно влияют на микроциркуляцию кожи в зоне воздействия, что сопровождается усилением трофических процессов и, следовательно, способствует поставленным клиническим целям. Нивелирование повреждающего действия активных форм кислорода оказывает положительное влияние на метаболические процессы в коже пациентов. Данные изменения были наиболее выражены в группе пациентов, получавших инъекционную терапию. Кроме того, необходимо отметить отсутствие отрицательной динамики по всем показателям и во всех группах, подвергшихся коррекции возрастных изменений. Важным является также то, что процедуры, которые выполнялись пациентам, не являются взаимозаменяемыми, поэтому для достижения максимально эффективного результата необходимо использовать комбинированные протоколы коррекции инволюционных изменений кожи.

Заключение

Таким образом, если рассматривать сосуды микроциркуляторного русла как основную мишень при коррекции возрастных изменений в косметологии, достижение максимальных результатов требует применения комбинированных методов воздействия. Наблюдаемое усиление нутритивного кровотока, антиоксидантное действие через 14 дней после последней процедуры позволяют говорить о пролонгированном влиянии неабляционного фотоомоложения, аминокислотно-заместительной терапии и плазмотерапии. Преимущественное воздействие отдельных процедур на конкретные компартменты МТС позволяет индивидуально подходить к выбору терапевтического воздействия.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Farage MA, Miller KW, Bernardesca E, Maibach HI. Clinical implications of aging skin: cutaneous disorders in the elderly. *Am J Clin Dermatol*. 2009;10(2):73–86. Doi: 10.2165/00128071-200910020-00001.
2. Касаева Г. Р., Юнси Г. А., Василенко С. А. Фибробласты и их применение в современных методах омоложения кожи // Синергия наук. – 2019. – Т. 31. – С. 1438–1448. [Kasaeva GR, Yunsi GA, Vasilenko SA. Fibroblasts and their use in modern methods of skin rejuvenation. *Synergy journal*. 2019;31:1438–1448. (In Russ.)].
3. Gao F, Liu Y, He Y, Yang C, Wang Y, Shi X, Wei G. Hyaluronan oligosaccharides promote excisional wound healing through enhanced angiogenesis. *Matrix Biol*. 2010;29(2):107–116. Doi: 10.1016/j.matbio.2009.11.002.
4. Trelles MA, Allones I, Velez M. Non-ablative facial skin photorejuvenation with an intense pulsed light system and adjunctive epidermal care. *Lasers Med Sci*. 2003;18(2):104–111. Doi: 10.1007/s10103-003-0257-7.
5. Yaar M, Gilchrist BA. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol*. 2007;157(5):874–887. Doi: 10.1111/j.1365-2133.2007.08108.x.
6. Kohl E, Steinbauer J, Landthaler M, Szeimies RM. Skin ageing. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25(8):873–884. Doi: 10.1111/j.1468-3083.2010.03963.x.
7. Сидоров В. В., Рыбаков Ю. А., Гукасов В. М. Метод и приборная реализация контроля микроциркуляторно-тканевой системы *in vivo* // Медицина и высокие технологии. – 2018. – Т. 3. – С. 27–33. [Sidorov VV, Rybakov YL, Gukasov VM. Method and instrumental implementation of control of microcirculator-tissue system *in vivo*. *Medicine and High Technologies*. 2018;3:27–33. (In Russ.)].
8. Дремин В. В., Козлов И. О., Жеребцов Е. А. и др. Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке состояния микрогемолимфоциркуляции // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 42–49. [Dremin VV, Kozlov IO, Zherebtsov EA, Makovik IN, Dunayev AV, Sidorov VV, Krupatkin AI. The capabilities of laser Doppler flowmetry in assessment of lymph and blood microcirculation. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2017;16(4):42–49. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-42-49.
9. Balu M, Mazhar A, Hayakawa CK, Mittal R, Krasieva TB, König K, Venugopalan V, Tromberg BJ. *In vivo* multiphoton NADH fluorescence reveals depth-dependent keratinocyte metabolism in human skin. *Biophys J*. 2013;104(1):258–267. Doi: 10.1016/j.bpj.2012.11.3809.
10. Anderson KA, Madsen AS, Olsen CA, Hirschey MD. Metabolic control by sirtuins and other enzymes that sense NAD⁺, NADH, or their ratio. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 2017;1858(12):991–998. Doi: 10.1016/j.bbabi.2017.09.005.
11. Alano CC, Ying W, Swanson RA. Poly(ADP-ribose) polymerase-1-mediated cell death in astrocytes requires NAD⁺ depletion and mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem*. 2004;279(18):18895–902. Doi: 10.1074/jbc.M313329200.
12. Rutter J, Reick M, Wu LC, McKnight SL. Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors. *Science*. 2001;293(5529):510–514. Doi: 10.1126/science.1060698.
13. Ziegler M. New functions of a long-known molecule. Emerging roles of NAD in cellular signaling. *Eur J Biochem*. 2000;267(6):1550–1564. Doi: 10.1046/j.1432-1327.2000.01187.x.
14. Imai S, Guarente L. NAD⁺ and sirtuins in aging and disease. *Trends Cell Biol*. 2014;24(8):464–471. Doi: 10.1016/j.tcb.2014.04.002.
15. Ying W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(2):179–206. Doi: 10.1089/ars.2007.1672.
16. Schaefer PM, Kalinina S, Rueck A, von Arnim CAF, von Einem B. NADH Autofluorescence – A Marker on its Way to Boost Bioenergetic Research. *Cytometry A*. 2019;95(1):34–46. Doi: 10.1002/cyto.a.23597.
17. Netter FH. *Atlas of human anatomy*. 7th edition. Elsevier, Philadelphia, PA, 2019:640.
18. Руководство по дерматовенерологии / под ред. Е. П. Аравийской и Е. В. Соколовского. – СПб.: Фолиант, 2008. – 632 с. [Dermatovenerology Guide. Eds. Aravijskaja ER, Sokolovskij EV. St. Petersburg, Foliant, 2008:632. (In Russ.)].
19. Atiyeh BS, Ibrahim AE, Dibo SA. Cosmetic mesotherapy: between scientific evidence, science fiction, and lucrative business. *Aesthetic Plast Surg*. 2008;32(6):842–849. Doi: 10.1007/s00266-008-9195-x.
20. Карабут М. М., Гладкова Н. Д., Фельдштейн Ф. И. Фракционный лазерный фототермолиз в лечении кожных дефектов: возможности и эффективность (обзор) // Современные технологии в медицине. – 2016. – Т. 8, № 2. – С. 98–108. [Karabut MM, Gladkova ND, Fel'dshtejn FI. Fractional laser photothermolysis in the treatment of skin defects: possibilities and effectiveness (review). *Modern technologies in medicine*. 2016;8(2):98–108. (In Russ.)]. Doi: 10.17691/stm2016.8.2.14.
21. Rajan V, Varghese B, van Leeuwen TG, Steenbergen W. Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry. *Lasers Med Sci*. 2009;24(2):269–283. Doi: 10.1007/s10103-007-0524-0.

Информация об авторах

Глаголева Екатерина Николаевна – главный врач клиники ООО «КомМод», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lekate@yandex.ru.

Сидоров Виктор Васильевич – канд. техн. наук, генеральный директор ООО «Научно-производственное предприятие "ЛАЗМА"», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lazma@plusnet.ru.

Подоплека Наталья Дмитриевна – врач-косметолог, дерматовенеролог клиники ООО «КомМод», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: nbcomesout@gmail.com.

Файзуллина Динара Рафаэлевна – ассистент кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Authors information

Glagoleva Ekaterina N. – head physician of medical clinic «KomMod», Saint Petersburg, Russia, e-mail: lekate@yandex.ru.

Sidorov Viktor V. – PhD in Engineering sciences, general director of SPE «LAZMA» Ltd, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lazma@plusnet.ru.

Podoplekina Natalya D. – cosmetologist, dermatovenerologist; medical clinic «KomMod», Saint Petersburg, Russia, e-mail: nbcomesout@gmail.com.

Faizullina Dinara R. – assistant of the Department of Pathophysiology with a course of Clinical Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lasmed@yandex.ru.

УДК 616.24-002-07

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-31-38

В. П. ЗОЛОТНИЦКАЯ

Лучевая диагностика нарушений микроциркуляции в легких у больных с внебольничной пневмонией

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
E-mail: zolotnitskaja68@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 11.03.20; принята к печати 24.07.20

Резюме

Введение. В патогенезе развития внебольничной пневмонии расстройства микроциркуляции играют важную роль, определяя клиническое течение и развитие осложнений. **Цель** – оценить изменения микроциркуляции в легких на этапах развития внебольничной пневмонии и дифференцировать внебольничную пневмонию от инфаркт-пневмонии. **Материалы и методы.** Проанализированы результаты комплексного клинико-рентгенорадиологического исследования 135 пациентов с клиническими признаками воспаления, направленных в радиологическое отделение для оценки изменений микроциркуляции на фоне выявления пневмонической инфильтрации. **Результаты.** Прослежены этапы развития пневмонии по данным радиологического исследования. Выявлены и количественно рассчитаны в автоматическом режиме изменения микроциркуляции у больных с внебольничной пневмонией. На формирование остаточных изменений в легочной паренхиме у пациентов без патологии органов дыхания влияло наличие плеврального выпота ($r=0,71$) и расположение зон пневмонической инфильтрации (задние отделы легких (0,74) и язычковые сегменты ($r=0,64$)). У больных с хроническим воспалением бронхов достоверно чаще наблюдались остаточные изменения. Значение скринингового маркера активации гемокоагуляционных способностей крови D-димера было не патогномонично, однако у пациентов с развившейся тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) он был значимо, достоверно ($p<0,05$) выше. **Выводы.** При неоднозначной трактовке дисковидных ателектазов, аваскулярных участков и зон пневмонической инфильтрации легочной ткани при мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) необходимо выполнение ОФЭКТ или совмещенного ОФЭКТ-КТ исследований, при которых выявляются четкие треугольной формы дефекты микроциркуляции, характерные для ТЭЛА. На развитие участков пневмосклероза влияет местоположение воспалительной инфильтрации: в верхних долях, в заднебазальных и в язычковых сегментах достоверно чаще выявляются зоны фиброза. Разработанная методика автоматической обработки результатов радиологических исследований легких в сравнении с нормой позволяет количественно оценить нарушения микроциркуляции и рассчитать дефицит перфузии, что необходимо при оценке тяжести, динамики патологического процесса и эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: микроциркуляция, пневмония, лучевая диагностика, ОФЭКТ

Для цитирования: Золотницкая В. П. Лучевая диагностика нарушений микроциркуляции в легких у больных с внебольничной пневмонией. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):31–38. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-31-38.

UDC 616.24-002-07

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-31-38

V. P. ZOLOTNITSKAIA

Radiation diagnosis of pulmonary microcirculation in patients with community-acquired pneumonia

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: zolotnitskaja68@yandex.ru

Received 11.03.20; accepted 24.07.20

Summary

The microcirculatory dysfunction plays an important role in the development of pneumonia, determining the clinical course and development of complications. The *purpose* of the study is the assessment of lung microcirculation disturbance on the different stages of the community-acquired pneumonia and distinguishing it from a post heart attack pneumonia. **Materials and methods.** 135 patients were radiologically explored. They were admitted to the radiological department with inflammatory signs for the assessment of microcirculation disturbances caused by the pneumonia. We investigated the obtained results. **Results.** The paper elucidates the stages of community-acquired pneumonia by the results of radiological exploration. In the absence of respiratory diseases, the alterations of lung parenchyma structure were caused by pleural effusion ($r=0.71$) and pneumonic infiltration zones (posterior parts of the lungs (0.74) and lingular segments ($r=0.64$)). The microcirculatory disturbances were elicited and counted in automatic mode. The residual alterations were

reliably more often observed in the patients with chronic bronchitis. The level of D-dimer was not pathognomic but it was reliably higher in the patients with the PATE ($p < 0.05$). *Conclusions.* The ambiguous interpretation of disk-shaped atelectasis, avascular sites and areas of pneumonic infiltration of lung tissue with MSCT, requires the SPECT or combined SPECT-CT studies allowing to detect clear triangular microcirculation defects characteristic of pulmonary embolism. The site of inflammatory infiltration effects on the appearance of pulmonary fibrosis. So, the zones of fibrosis can be found in the upper lobes, posterior parts of the lungs and lingular segments reliably more often. The technique for automatic processing of radiological lung exploration allows to get the quantitative assessment the microcirculatory disfunction and the lack of perfusion. It is essential for evaluation of the pathology dynamics and severity and for assessment of the treatment efficiency.

Keywords: *microcirculation, pneumonia, radiation diagnostics, SPECT*

For citation: *Zolotnitskaia V. P. Radiation diagnosis of pulmonary microcirculation in patients with community-acquired pneumonia. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):31–38. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-31-38.*

Введение

Пневмония является одним из наиболее распространенных острых воспалительных заболеваний легких у человека. В структуре заболеваемости органов дыхания внебольничная пневмония (ВП) находится на 3-м месте, уступая по распространенности острому бронхиту и вирусным инфекциям, характеризуется вариабельностью клинических проявлений и высоким показателем летальных исходов, особенно среди пожилых людей, детей младшего возраста и пациентов с сопутствующей патологией [1–6].

Начальные изменения при развитии очага воспаления, независимо от вида возбудителя ВП, возникают на стыке проводящей воздух и респираторной зон легких [7]. При развитии пневмонии неоспоримым фактом является нарушение целостности и морфофункциональной достаточности, прежде всего, аэрогематического барьера. В процессе развития воспалительной реакции в органах дыхания происходит широкое и многообразное вовлечение системы кровообращения легких. Возникают изменения в микрососудах диаметром от 20 до 250 мкм и окружающих тканях, которые обеспечивают в них гемодинамический и метаболический гомеостазис. Причем нарушения аэрогематического и бронховаскулярного барьеров выявляются и вне фокуса воспаления в близлежащих структурах, где классические гистологические методики не выявляют значимых морфологических изменений, однако увеличивается относительный объем доли капилляров с отечной стенкой, что отражается на морфофункциональном состоянии эндотелия, прилежащих альвеолоцитах II типа и на функциональной активности альвеолярных макрофагов [8, 9].

Несмотря на то, что нарушения кровообращения в легких играют немаловажную роль в развитии заболевания, определяя в значительной мере клиническое течение и прогрессирование патологического процесса, лучевой диагностике нарушений кровообращения уделяется мало внимания. Основное значение придается изменениям в паренхиме легких, и, таким образом, результатам рентгенологических методов исследования – флюорографии, рентгенографии органов грудной клетки в двух проекциях, компьютерной томографии. Основные рентгенологические признаки пневмонии хорошо известны: в первые дни болезни выявляется усиление легочного рисунка в очаге поражения, бесструктурность корня

легкого, затем гомогенное затемнение с инфильтратами преимущественно долевого характера, и при своевременном начале адекватного лечения происходит рассасывание инфильтрации, и на момент выписки больного из стационара сохраняются рентгенологические признаки периваскулярной и перибронхиальной инфильтрации в виде усиления и деформации легочного рисунка на месте воспаления и плевральные спайки.

Радиологические методы диагностики (перфузионная сцинтиграфия, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ)) являются вспомогательными для диагностики пневмонии, и их применение имеет значение у больных при несоответствии клинических и рентгенологических данных; при затяжной или рецидивирующей пневмонии, при проведении дифференциального диагноза и оценке последствий воспаления на функциональное состояние легких.

В настоящее время для выявления нарушений микроциркуляции в легких применяются перфузионная сцинтиграфия, однофотонная эмиссионная компьютерная томография с использованием МАА Тс-99м и вентиляционно-перфузионная сцинтиграфия с Хе-33 (используется в ограниченном количестве изотопных лабораторий). При выполнении ОФЭКТ появилась возможность визуальной оценки изображений множественных аксиальных, коронарных, сагиттальных срезов; выполнения объемной трехплоскостной реконструкции, а при обработке результатов исследования – количественного расчета нарушений перфузионной функции легких [10, 11].

Цель исследования – оценить изменения микроциркуляции в легких на этапах развития внебольничной пневмонии и дифференцировать внебольничную пневмонию от инфаркт-пневмонии.

Материалы и методы исследования

Проанализированы результаты комплексного клиничко-рентгенорадиологического исследования 135 пациентов с клиническими признаками воспаления (женщин – 56; мужчин – 79; средний возраст – $52,1 \pm 9,1$ года), направленных в радиологическое отделение для оценки изменений микроциркуляции на фоне выявления пневмонической инфильтрации при выполнении рентгенологических исследований. 17 пациентов были обследованы дважды (на стадии опеченения и разрешения пневмонии). 62 пациента имели сопутствующую патологию (хронический бронхит).

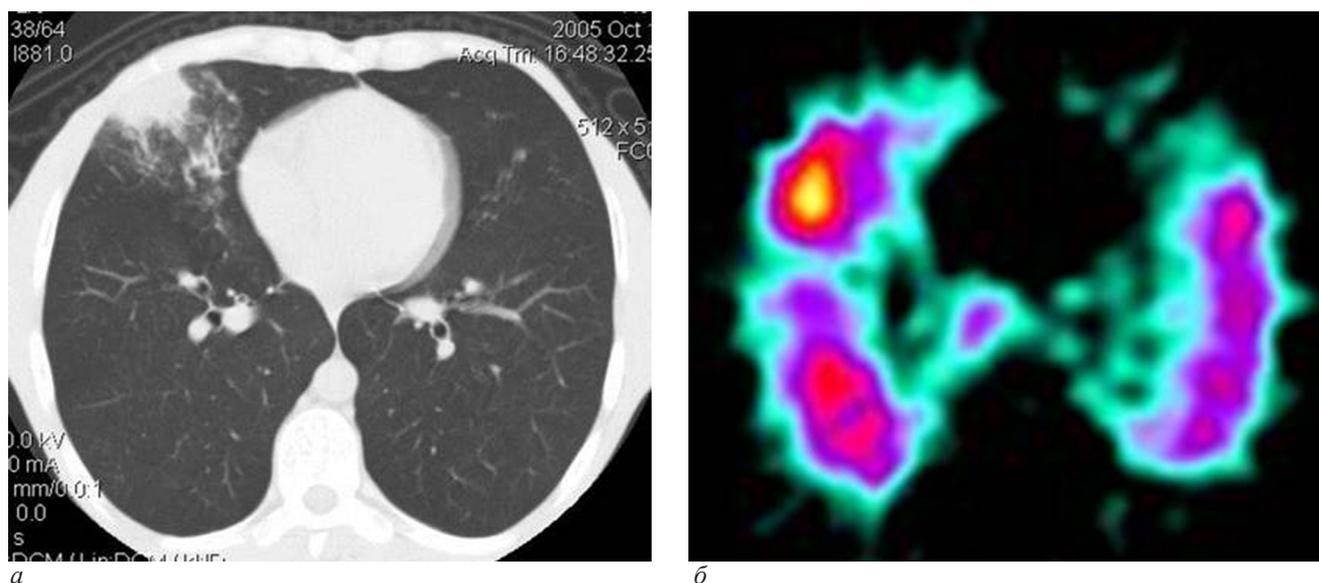


Рис. 1. Наблюдение больного Д., 1946 г. р. Диагноз: «Внебольничная пневмония»: *a* – МСКТ-томограмма легких, выявлен участок инфильтрации легочной ткани; *б* – ОФЭКТ-томограмма легких, выявлен участок гиперперфузии, соответствующий зоне инфильтрации (острая фаза воспаления)

Fig. 1. Observation of patient D., born in 1946. The diagnosis of community-acquired pneumonia: *a* – MSCT-tomogram of the lungs, revealed a site of lung tissue infiltration; *б* – SPECT tomogram of the lungs, revealed a section of hyperperfusion corresponding to the infiltration zone (acute phase of inflammation)

Пациенты поступали первично в клиники Университета с жалобами на нарастание одышки, изменение характера кашля, снижение толерантности к физической нагрузке, лихорадку разной степени выраженности. При лабораторном исследовании крови отмечалось повышение содержания С-реактивного белка, нейтрофилов, увеличение СОЭ.

Оценивали результаты комплексного лучевого исследования – рентгенологического исследования органов грудной клетки, компьютерной томографии (МСКТ), однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, а также показатели вентиляционной функции легких, ЭХО-КГ сердца, расчетного систолического давления в легочной артерии и результаты лабораторного теста – Д-димер (маркера активации гемокоагуляционных способностей крови). Лучевые методы диагностики применялись строго по показаниям и по назначению лечащего врача. Больными или их законными представителями, подписывалось информированное согласие на проведение исследования.

Основной задачей радиологического исследования легких у больных являлось исключение тромбоэмболии легочной артерии с развитием инфаркт-пневмонии, так как ее диагностика затруднена в тех случаях, когда выявляются изменения скрининга коагуляционного гемостаза, пневмония осложняется плевральным выпотом или развитием бронхообструктивного синдрома.

Статистической анализ проводили с использованием пакета «SPSS-20.0». Рассчитывали двусторонний точный теста Фишера (p) (результаты считали достоверными при $p < 0,05$) и методы относительной статистики (выборочное среднее (M), стандартное отклонение (m)).

Радиологическое исследование (ОФЭКТ) проводили на двухдетекторной гамма-камере Philips Forte 2005 (USA). Пациенту в положении сидя внутривен-

но вводили радиофармацевтический препарат (РФП) в дозе 1,–1,5 мБк на 1 кг веса. Пациента обследовали в положении лежа в течение 10–12 мин по программе Lung Spect, в положении детекторов 180°, орбита эллиптическая, 32 азимута, 40 с на угол. Двухдетекторное сканирование позволяло получить полипозиционную, трехплоскостную реконструкцию. Обработка исследования проводилась с использованием высокочастотного фильтра Fugye, трансформации по методу Henning или Batterword. Для автоматической обработки информации скинтиграфического исследования использовали компьютерную программу «Анализатор изображений перфузионной скинтиграфии легких (LungScintAnalyser)», позволяющую получать информацию по трем основным составляющим изменения кровообращения: обширности, точной локализации нарушений и гемодинамическому состоянию больного, а также выполнять количественную оценку изменений (степень изменения кровотока в % к норме). Расчет показателей накопления радиофармпрепарата проводился в 36 участках каждого легкого. В используемой программе границы нормы приняты в пределах от 0,85 до 1,15, границы условной нормы – от 0,7 до 0,85 и от 1,15 до 1,3. Синий цвет (снижение интенсивности от 0,7 нормы и ниже) указывает на участки снижения кровотока – гипоперфузии. Красный цвет – от 1,3 нормы и выше – указывает на участки компенсаторной гиперперфузии. Гипоперфузия — от 0,3 до 0,7, гиперперфузия – от 1,3 и выше. Значения меньше 0,3 принимались как дефект накопления.

Результаты исследования и их обсуждение

Нарушение микроциркуляции в очаге воспаления характеризуется изменением тонуса микроциркуляторных сосудов, сосудистую реакцию можно разделить на четыре стадии: кратковременный спазм сосудов, артериальная гиперемия, венозная гиперемия

Изменения в легких на стадиях развития внебольничной пневмонии

Changes in the lungs at the stages of community-acquired pneumonia

Показатель	Стадия					
	прилива		опеченения		разрешения	
	без патологии ОД (n=2)	сопутствующая патология ОД (n=0)	без патологии ОД (n=39)	сопутствующая патология ОД (n=48)	без патологии ОД (n=27)	сопутствующая патология ОД (n=36)
Изменение кровотока, % к норме	98,4±4,9	–	64,8±7,5*	56,9±6,9*#	89,4±8,7	74,5±8,6#
Гипоперфузия, число зон)	7,0±2,0	–	16,8±3,6*	23,6±2,8*#	9,3±2,9	14,7±3,1
Гиперперфузия, число зон)	17,0±1,0*	–	6,8±4,6	4,9±1,9	8,1±2,2	6,1±2,7
Д-димер, нг/мл	1300±128*	–	750±115*	840±105*	258±98	369±87
СДЛА, мм рт. ст.	27,8±2,9	–	26,2±3,1	33,3±2,6	28,3±2,8	31,3±2,5
Инд. Тиффно, %	74,8± 2,2	–	72,6± 8,1	62,1±4,2*#	74,8±3,7	68,1±2,8
Жидкость в плевральной полости, п/%	–	–	2/5,1	11/22,9*#	–	–
Пневмосклероз, п/%	–	–	–	–	4/14,8*	23/63,8*#
Бронхоэктазы, п/%	–	–	–	–	–	6/16,6#
Утолщение междолевой и реберной плевры, п/%	–	–	–	–	1/3,7	8/22,2#

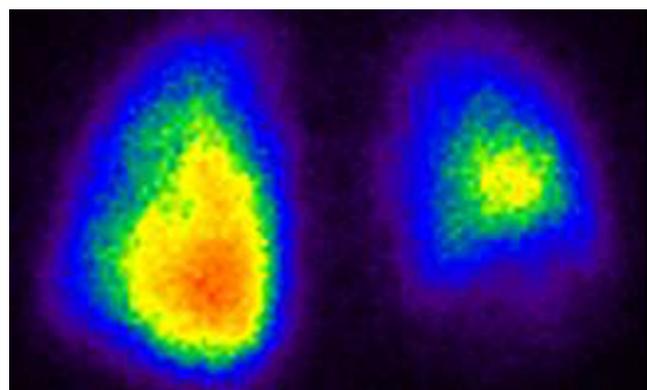
* – достоверность по критерию Манна – Уитни $p < 0,05$, различия достоверны с показателями нормы; # – достоверность по критерию Манна – Уитни $p < 0,05$, различия достоверны между группами.

и стаз. По данным лучевых методов исследования выявить кратковременную фазу спазма сосудов не представляется возможным. Стадия артериальной гиперемии занимает 1–2 суток – также является достаточно кратковременной, и пациенты редко попадают на лучевое обследование для выявления пневмонии. В нашей работе встретилось 2 случая, когда удалось провести рентгенологическое (МСКТ) и радиологическое (ОФЭКТ) исследования в течение 1 дня в этот период развития заболевания (рис. 1; таблица). Пациент поступил в клинику Университета с клиническими признаками пневмонии. При проведении МСКТ *in vivo* выявлена зона инфильтрации в правом легком, широким основанием прилежащая к костальной плевре, по форме близкая к треугольной форме. Учитывая, что у пациента выявлено повышение уровня Д-димера до 1300 нг/мл, было назначено в этот же день выполнение радиологического исследования для исключения инфаркт-пневмонии. По данным ОФЭКТ выявлен участок гиперперфузии, соответствующий зоне инфильтрации на МСКТ. Диагноз «Тромбоэмболия легочной артерии с развитием инфаркт-пневмонии» был отвергнут, больному назначена антибактериальная терапия.

Фаза артериальной гиперемии сменяется развитием венозной гиперемии. Скорость кровотока в микроциркуляторных сосудах падает. Причинами этого состояния являются сдавление венул накапливающимся экссудатом, повышение тонуса их стенок под влиянием гистамина, действующего на H1-рецепторы, немаловажную роль играет повышение вязкости крови при экссудации и «сладжирования» форменных элементов. Накопление лейкоцитов у стенок посткапилляров и венул также способствует замедлению тока крови. Развитие воспаления переходит в стадию красного, а затем серого опеченения. Именно на этих стадиях развития

болезни чаще всего выполняются рентгенорадиологические исследования легких. На МСКТ-томограммах наблюдаются инфильтративные изменения, а при радиологическом исследовании – значительное снижение микроциркуляции (таблица). На примере больного В., 63 лет, с правосторонней нижнедолевой пневмонией была проведена оценка изменений микроциркуляции в легких под влиянием антибактериальной терапии. При КТ-исследовании выявлены характерные изменения в паренхиме правого легкого (инфильтрация, видимость воздушных просветов бронхов) (рис. 2, б). По данным ОФЭКТ наблюдается значительное диффузно неравномерное снижение микроциркуляции в нижней доле правого легкого, с общим снижением перфузии до 54,6 % (рис. 2, а; в).

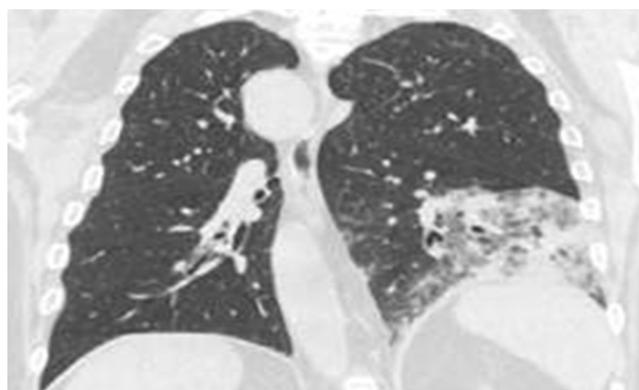
При завершении воспаления и восстановлении бронхиальной проходимости, как правило, происходит нормализация функций ряда клеточных элементов – эндотелиоцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, клеток соединительной ткани и др. Восстановление легочной ткани, поврежденной или даже разрушенной воспалительной альтерацией, проявляется снижением интенсивности инфильтративных изменений и восстановлением перфузии в пораженном участке легкого и в последующем полным исчезновением инфильтративных изменений легочной ткани, т. е. выздоровлением пациента. Формирование остаточных изменений в легочной паренхиме (утолщение междолевой плевры, локальные зоны пневмосклероза) у пациентов без патологии органов дыхания коррелировало в высокой степени с наличием плеврального выпота ($r=0,71$) и расположением зон пневмонической инфильтрации (язычковые сегменты ($r=0,64$), задневерхний ($r=0,73$), задний базальный сегмент ($r=0,78$) и задний сегмент ($r=0,8$)). Необходимо отметить, что у больных с хроническим воспалением



a

0,47	0,68	0,71	0,5
0,5	0,76	0,85	0,77
0,58	0,97	1,11	0,82
0,51	1,07	1,4	0,92
0,48	1,15	2,15	1,03
0,38	1,44	2,11	1,11
0,47	1,33	1,47	1,08
0,37	1,07	1,33	0,82
0,21	0,3	0,21	0,2

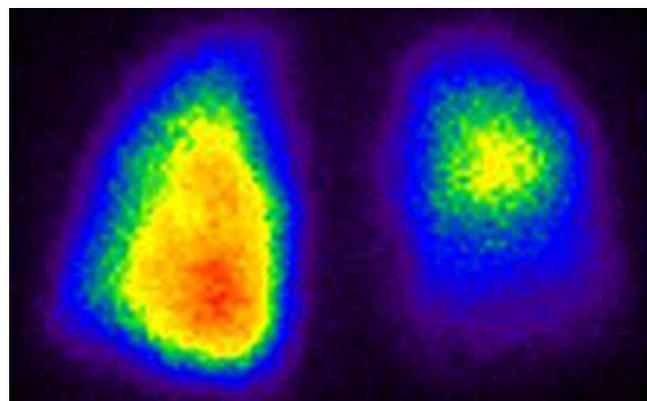
в Среднее – 0,870278



б

0,33	0,29	0,3	0,36
0,47	0,68	0,71	0,5
0,56	0,82	0,5	0,43
0,61	1,19	0,92	0,42
0,76	1,39	1,19	0,35
0,47	0,79	0,63	0,39
0,23	0,39	0,47	0,38
0,19	0,4	0,33	0,21
0,21	0,3	0,22	0,19

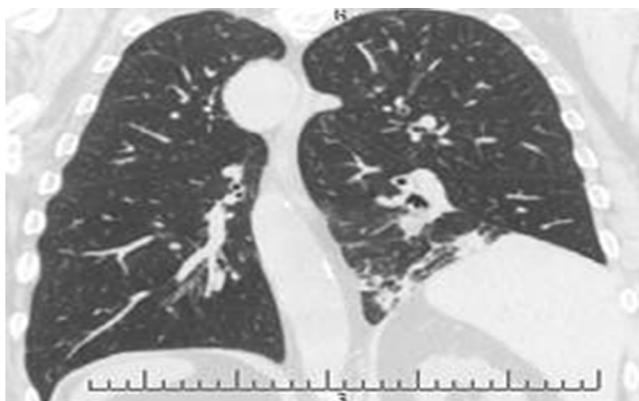
Среднее – 0,546296



з

0,47	0,68	0,71	0,5
0,5	0,76	0,85	0,77
0,58	0,97	1,11	0,82
0,51	1,07	1,4	0,92
0,48	1,15	2,15	1,03
0,51	1,44	2,11	1,11
0,47	1,33	1,47	1,08
0,53	1,07	1,33	0,82
0,46	0,68	0,71	0,8

е Среднее – 0,926389



д

0,6	0,69	0,7	0,71
0,68	0,68	0,71	0,5
0,76	0,82	0,8	0,85
0,97	1,19	0,92	0,75
1,07	1,39	1,19	0,58
0,85	1,07	0,85	0,55
0,51	0,97	0,75	0,54
0,48	0,82	0,75	0,6
0,38	0,4	0,48	0,4

Среднее – 0,765185

Рис. 2. Наблюдение больного В., 63 лет. Диагноз: «Правосторонняя нижнедолевая пневмония»: *a, б, в* – рентгенорадиологические исследования, проведенные при поступлении больного в клинику; *a* – ОФЭКТ-томограмма легких, фронтальный срез (задняя проекция). Определяются значительные локальные нарушения микроциркуляции в обоих легких. Перфузия остается относительно сохранной только в над диафрагмальных отделах; *б* – МСКТ-томограмма, легочное окно, фронтальный срез (инверсия). В верхних долях легких – центриацинарная эмфизема, в нижней доле правого легкого – участок инфильтрации, с видимыми просветами бронхов; *в* – компьютерная обработка результатов радиологического исследования. Микроциркуляция в левом легком составляет 87 %, в правом – 54,6, %; *з, д, е* – рентгенорадиологические исследования, проведенные после 10 дней антибактериальной терапии; *з* – ОФЭКТ-томограмма легких, фронтальный срез (задняя проекция). Определяется положительная динамика в виде увеличения перфузии в нижней доле правого легкого и в плащевом отделе верхней доли левого легкого; *д* – МСКТ-томограмма, легочное окно, фронтальный срез (инверсия). Положительная динамика. Уменьшение зоны инфильтрации; *е* – компьютерная обработка результатов радиологического исследования. Микроциркуляция в левом легком составляет 92,6 %, в правом – 76,5 %

Fig. 2. Observation of patient В., 63 years old. The diagnosis is right-sided lower lobe pneumonia: *a, б, в* – radiological studies conducted upon admission of the patient to the clinic; *a* – SPECT-tomogram of the lungs, frontal section (rear projection). Significant local disturbances of microcirculation in both lungs are determined. Perfusion remains relatively intact only in the above diaphragmatic regions; *б* – MSCT-tomogram, pulmonary window, frontal section (inversion). In the upper lobes of the lungs is centriacinar emphysema, in the lower lobe of the right lung is an infiltration site, with visible bronchovascular bundles; *в* – computer processing of the results of radiological studies. microcirculation in the left lung is 87 %, and in the right – 54,6 %; *з, д, е* – radiological studies conducted after 10 days of antibiotic therapy; *з* – SPECT-tomogram of the lungs, frontal section (rear projection). Positive dynamics is determined in the form of an increase in perfusion in the lower lobe of the right lung and in the cloak section of the upper lobe of the left lung; *д* – MSCT-tomogram, pulmonary window, frontal section (inversion). Positive dynamics. Reduced infiltration zone; *е* – computer processing of the results of radiological studies. microcirculation in the left lung is 92.6 %, in the right – 76.5 %

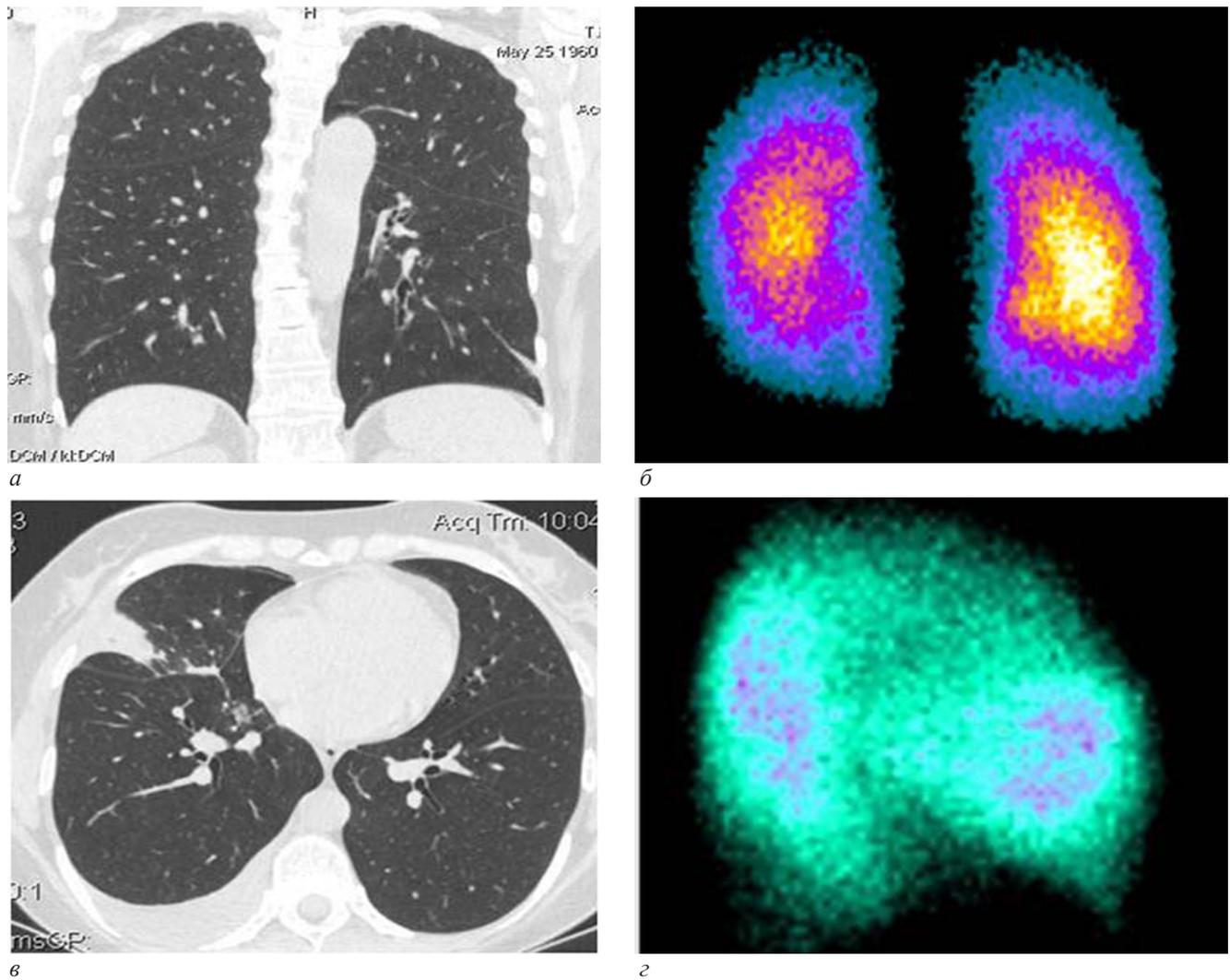


Рис. 3. Наблюдения больных, направленных на радиологическое исследование для исключения ТЭЛА: *a, б* – наблюдение больной Б., 56 лет. Диагноз направления: “Инфаркт-пневмония”; *a* – МСКТ-томограмма легких, корональный срез. В левом легком в нижней доле выявляется участок локального пневмосклероза; *б* – скintiграмма легких, задняя проекция, определяется дефект перфузии неправильной формы (указано стрелкой); *в, г* – наблюдение больной В., 41 г. Диагноз направления инфаркт-пневмония; *в* – МСКТ-томограмма легких, аксиальный срез. В правом легком в нижней доле выявляется участок инфильтрации, широким основанием прилежащий к костальной плевре; *г* – скintiграмма легких, правая боковая проекция, определяется дефект перфузии треугольной формы (указано стрелкой). Снижена перфузия в близлежащих отделах

Fig. 3. Observations of patients sent for radiological examination to exclude pulmonary embolism: *a, б* – observation of patient B., 56 years old. The diagnosis of the direction of heart attack pneumonia; *a* – MSCT tomogram of the lungs, coronal section. In the left lung in the lower lobe, a site of local pneumosclerosis is detected; *б* – scintigram of the lungs, rear projection, defect of perfusion of irregular shape (indicated by arrow) is determined; *в, г* – observation b-th V., 41 g. Diagnosis of the direction of heart attack pneumonia; *в* – MSCT-tomogram of the lungs, axial section. In the right lung in the lower lobe, an infiltration site is revealed, with a wide base adjacent to the costal pleura; *г* – scintigram of the lungs, right lateral projection, a defusion of perfusion of a triangular shape (indicated by an arrow) is determined. Perfusion in nearby departments is reduced

bronхов достоверно чаще наблюдались остаточные изменения в виде развития локального постпневмонического пневмосклероза (рис. 3) или рубцовых изменений, утолщение междолевой и реберной плевры, возникающих при значительном дефекте на месте воспаления и замещении его соединительной тканью, а также возникало неравномерное расширение просветов бронхов, уплотнение их стенок и даже развитие бронхоэктазов (таблица).

Наиболее часто больные с остаточными изменениями в паренхиме легких в виде локальных пневмосклерозов, прилежащих к костальной плевре (рис. 3, *a*), направляются на радиологическое исследование для исключения последствий тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА). Основным признаком, исключающим ТЭЛА является выявление на скintiграммах дефектов перфузии неправильной формы (рис. 3, *б*).

В дифференциальной диагностике пневмонии и инфаркт пневмонии также анализировались результаты МСКТ, учитывались форма, локализация и протяженность инфильтративных изменений, наличие распадов в инфильтратах, изменение плотностных характеристик инфильтратов в артериальную фазу контрастного усиления и отсроченном сканировании. Обращали внимание на признак «полоски», отражающий наличие кровоснабжаемой легочной ткани в субплевральных отделах, что позволяло проводить радиологическую дифференциальную диагностику пневмонии и инфаркт-пневмонии. По данным МСКТ диагноз пневмонии не вызывал сомнений при наличии пневмонической инфильтрации с воздушными просветами бронхов, неоднородно усиленным кровотоком и сниженной вентиляции.

Необходимо отметить, что значения скринингового маркера активации гемокоагуляционных способностей крови – D-димера – в нашем исследовании были не столь патогномичны, так как при воспалении в крови повышается уровень нерастворимого фибрина, что существенно затрудняет и даже останавливает местное кровообращение в воспалительном очаге, при этом активируется фибринолитическая система, повышается уровень плазмина, расщепляющего фибрин, что приводит также к повышению уровня D-димера, однако у пациентов с развившейся ТЭЛА он был значимо, достоверно ($p < 0,05$) выше.

При дифференциальной лучевой диагностике инфильтративных изменений при пневмонии следует учитывать плотность воспалительной инфильтрации, ее локализацию (обычно преобладает в субплевральных отделах и не достигает корня) ($r=0,92$), особенности кровообращения (гиперперфузия в стадии артериальной гиперемии ($r=0,96$)), локальное снижение микроциркуляции (дефекты перфузии неправильной формы ($r=0,81$)), в дальнейшем приводящее к развитию пневмосклероза на месте инфильтративных изменений ($r=0,67$). При неоднозначной трактовке дисковидных ателектазов, аваскулярных участков и зон пневмонической инфильтрации легочной ткани при МСКТ необходимо выполнение ОФЭКТ или совмещенного ОФЭКТ-КТ исследований, при которых выявляются четкие треугольной формы дефекты микроциркуляции, характерные для ТЭЛА.

Лучевая диагностика пневмонии необходима для своевременного выявления воспаления легких и лечения этого грозного заболевания, однако на практике даже рентгеновский снимок в двух проекциях выполняется лишь у 20 % больных перед началом лечения, что приводит к поздней диагностике пневмонии. Известным фактом является то, что около 30 % случаев пневмонии диагностируются поздно или вообще не диагностируются [12].

При локализации процесса воспаления в органах дыхания происходит широкое и многообразное вовлечение в патогенез системы кровообращения, влияя на течение заболевания и развитие остаточных изменений в виде развития постпневмонических пневмосклерозов, характеризующихся уменьшением объема пораженного участка легкого и неравномерным уплотнением пораженных сегментов. Основной причиной исхода острой пневмонии в пневмосклероз является дисбаланс в свертывающей системе крови, а также способности макрофагов стимулировать пролиферацию фибробластов и оказывать влияние на пролиферативные процессы [13, 14]. При анализе результатов лучевых методов исследования достоверно чаще ($p < 0,05$) постпневмонические участки пневмосклероза выявлялись у пациентов, которые поздно начинали принимать антибактериальную терапию, отмечалось повышение уровня фибриногена, при этом уровень D-димера сохранялся в пределах нормальных значений. Кроме этого, на развитие участков пневмосклероза влияло местоположение ($r=0,67$) воспалительной инфильтрации: в верхних долях, заднебазальных и в язычковых сегментах достоверно чаще выявлялись зоны фиброза ($p < 0,05$).

Развитие выраженных склеротических поство-спалительных процессов в легких приводит не только к нарушениям микрогемодинамики, но и, в конечном счете, к повышению нагрузки на правые отделы сердца и повышению давления в легочной артерии.

Таким образом, коррекция нарушений в системе кровообращения у этих больных может играть, безусловно, важную роль в процессе их лечения.

Выводы

1. При неоднозначной трактовке дисковидных ателектазов, аваскулярных участков и зон пневмонической инфильтрации легочной ткани при МСКТ необходимо выполнение ОФЭКТ или совмещенного ОФЭКТ-КТ исследований, при которых выявляются четкие треугольной формы дефекты микроциркуляции, характерные для ТЭЛА.

2. На развитие участков пневмосклероза влияет местоположение воспалительной инфильтрации: в верхних долях, в заднебазальных и в язычковых сегментах достоверно чаще выявляются зоны фиброза.

3. Разработанная методика автоматической обработки результатов радиологических исследований легких в сравнении с нормой является оптимальной для целого ряда заболеваний. Позволяет количественно оценить нарушения микроциркуляции и рассчитать дефицит перфузии, что необходимо при оценке тяжести, динамики патологического процесса и эффективности проводимой терапии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Шаймуратов Р. И., Визель А. А. Факторы риска летального исхода у пациентов с внебольничной пневмонией // Фарматека. – 2019. – Т. 26, № 5. – С. 79–84. [Shaimuratov RI, Wiesel AA. Risk factors for fatal outcome in patients with community-acquired pneumonia. *Bionika Media*. 2019 May 21;5:79–84. (In Russ.)]. Doi: 10.18565.
2. Казанцев В. А. Внебольничная пневмония: рук. для практикующих врачей. – М.: ГЭОТАР – Медицина, 2016. – 112 с. [Kazanitsev VA. *Community-acquired pneumonia: a guide for practicing doctors*. Moscow, GEOTAR Medicine, 2016:112. (In Russ.)].
3. Блюменталь И. Я. Внебольничная пневмония: актуальная проблема или рутинная патология? // *Вестн. соврем. клин. медицины*. – 2011. – Т. 4, № 1. – С. 52–55. [Blumenthal IY. *Extrahospital pneumonia: an actual problem or a routine pathology?* *Herald of modern clinical medicine*. 2011;4(1):52–55. (In Russ.)].
4. Титова О. Н., Кузубова Н. А., Александров А. Л. и др. Особенности центральной гемодинамики у больных внебольничной пневмонией в зависимости от течения заболевания и сердечно-сосудистой коморбидности // *Терапевт. арх.* – 2019. – Т. 12. – С. 29–34. [Titova ON, Kuzubova NA, Aleksandrov AL, Perley VE, Volchkova EV, Baryshnikova KA. *Features of central hemodynamics in patients with community - acquired pneumonia depending on the course of the disease and cardiovascular comorbidity*. *Therapeutic archive*. 2019;12:29–34. (In Russ.)]. Doi: 10.26442/00403660.2019.12.000441.

5. Чучалин А. Г. Пневмонии: актуальная проблема XXI века // *Терапевт. арх.* – 2016. – Т. 88, № 3. – С. 4–2. [Chuchalin AG. *Pneumonia: an actual problem of the 21st century. Therapeutic Archive.* 2016;88(3):4–12. (In Russ.)]. Doi: 10.17116/terarkh20168834-12.
6. Herold C, Franquet T. *Pulmonary infections. The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine.* 2018 Dec;409–411. Doi: 10.1093/med/9780198784906.003.0080.
7. Цинзерлинг В. Д., Цинзерлинг А. В. *Патологическая анатомия острых инфекций разной этиологии.* – Л.: Медгиз, 1963. – 174 с. [Zinserling VD, Zinserling AV. *The pathological anatomy of acute infections of various etiologies. Leningrad, MEDGIZ, 1963:174. (In Russ.)*].
8. Федосеев Г. Б. *Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия.* – СПб.: Нормедиздат, 1998. – С. 429–440. [Fedoseev GB. *Mechanisms of inflammation of the bronchi and lungs and anti-inflammatory therapy.* SPb., Normedizdat, 1998:429–440. (In Russ.)].
9. Hoenderdos K, Lodge KM, Hirs RA et al. *Hypoxia upregulates neutrophil degranulation and potential for tissue injury. Thorax.* 2016;71(11):1030–1038. Doi: 10.1136/thoraxjnl-2015-207604.
10. Meyer G, Collignon MA, Guinet F et al. *Comparison of perfusion lung scanning and angiography in the estimation of vascular obstruction in acute pulmonary embolism. Eur J Nucl Med.* 1990;17(6–8):315–319. Doi: 10.1007/BF01268022.
11. Золотницкая В. П., Тишков А. В., Агафонов А. О. и др. *Новые возможности обработки результатов радиологического исследования легких // REJR.* – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 98–106. [Zolotnitskaia VP, Tishkov AV, Agaphonov AO, Strach LV, Amosova OV. *New possibilities of processing the results of lungs radiological studies. REJR.* 2019;9(2):98–106. (In Russ.)]. Doi: 10.21569/2222-7415-2019-9-2-98-106.
12. Тюрин И. Е. *Рентгенодиагностика тяжелой пневмонии и гриппа // Лучевая диагностика и терапия.* – 2016. – Т. 1, № 7. – С. 13–16. [Tyurin IE. *X-RAY radiology of severe pneumonia and flu. Diagnostic radiology and radiotherapy.* 2016;(1):13–16. (In Russ.)]. Doi:10.22328/2079-5343-2016-1-13-16.
13. Kotton DN, Morrisey EE. *Lung regeneration: Mechanisms, applications and emerging stem cell populations. Nat. Med.* 2014;20(8):822–832. Doi: 10.1038/nm.3642.
14. McQualter JL. *Endogenous lung stem cells for lung regeneration. Expert. Opin. Biol. Ther.* 2019;19(6):539–546. Doi: 10.1080/14712598.2019.1596256.

Информация об авторе

Золотницкая Валентина Петровна – д-р биол. наук, старший научный сотрудник НИИ пульмонологии, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: zolotnitskaja68@yandex.ru.

Author information

Zolotnitskaia Valentina P. – PhD, Senior Scientific Researcher and Scientific Institute of Pulmonology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: zolotnitskaja68@yandex.ru.

УДК 616-005; 616.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-39-45

Е. Е. ЛАДОЖСКАЯ-ГАПЕЕНКО, К. Н. ХРАПОВ

Возможности лазерной доплеровской флоуметрии с использованием ортостатической пробы в оценке функционального состояния микроциркуляции

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
E-mail: ulfkote@mail.ru

Статья поступила в редакцию 29.05.20; принята к печати 24.07.20

Резюме

Цель. При помощи лазерной доплеровской флоуметрии, с одновременной регистрацией микрокровотока в пяти точках и с применением ортостатической пробы выявить паттерны амплитудно-частотного спектра, характерные для всех относительно здоровых индивидов. **Материалы и методы.** В исследование включены 114 человек (69 женщин, 45 мужчин), средний возраст – 26±6 лет. Критерии включения: добровольцы от 18 до 40 лет, считающие себя здоровыми, ведущие активный образ жизни, хорошо переносящие физическую нагрузку. Всем пациентам выполнялась лазерная доплеровская флоуметрия при помощи мобильных флоуметров «ЛАЗМА-ПФ» (Россия) с применением ортостатической пробы. Регистрация измерений проводилась одновременно в пяти точках (медиальные надлодыжечные области, внутренняя поверхность предплечий, надбровная область). **Результаты.** Выявлены характерные паттерны амплитудно-частотного спектра (АЧС) в области двух крупных бассейнов – дуги аорты и верхней поллой вены, а также нисходящей аорты и нижней поллой вены. Данные изменения происходят в ответ на изменения положения в пространстве. В положении клиностаза в паттернах амплитудно-частотного спектра сигнала, полученного с области верхних конечностей и надбровной области, преобладала гармоника миогенного диапазона (0,047–0,145 Гц), а гармоника нейрогенного диапазона (0,02–0,046 Гц) была менее выражена. В паттерне амплитудно-частотного спектра сигнала с нижних конечностей преобладала гармоника нейрогенного диапазона (0,02–0,046 Гц), гармоника миогенного диапазона (0,047–0,145 Гц) была менее выражена. В положении ортостаза определялись следующие изменения: в области верхних конечностей и надбровья амплитуда гармоники нейрогенного диапазона увеличивалась относительно амплитуды миогенного спектра, а в области нижних конечностей амплитуда гармоники миогенного диапазона увеличивалась относительно амплитуды нейрогенного диапазона. **Выводы.** Одновременное использование нескольких датчиков в области нижней и верхней частей тела повышает диагностическую значимость метода лазерной доплеровской флоуметрии. У относительно здоровых испытуемых выявлены характерные паттерны медленноволновой части АЧС в области верхней и нижней частей тела, в ортостазе и клиностазе. При перемене положения тела паттерны верхней и нижней частей тела изменяются противоположно. Выполнение поструральной пробы позволяет оценивать сохранность механизмов регуляции вазомоторной функции микроциркуляторного русла. Использованный метод и полученные результаты нуждаются в дальнейшем исследовании с целью определения возможности объективного выявления функциональных и патологических изменений, а также компенсаторных возможностей микроциркуляции в норме и при патологии.

Ключевые слова: лазерная доплеровская флоуметрия, системная микроциркуляция, поструральная проба, паттерн амплитудно-частотного спектра

Для цитирования: Ладожская-Гапеевко Е. Е., Храпов К. Н. Возможности лазерной доплеровской флоуметрии с использованием ортостатической пробы в оценке функционального состояния микроциркуляции. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):39–45. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-39-45.

UDC 616-005; 616.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-39-45

Е. Е. LADOZHSKAYA-GAPEENKO, K. N. KHRAPOV

Possibilities of Laser-Doppler Flowmetry in assessment of functional state of microcirculation

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: ulfkote@mail.ru

Received 29.05.20; accepted 24.07.20

Summary

Aim. In the present study we evaluate the amplitude-frequency spectrum patterns of the relatively healthy individuals using the laser Doppler flowmetry with simultaneous registration of micro-flow in five points and application of orthostatic sample. **Materials and methods.** 144 healthy volunteers (69 women, 45 men) from 18 to 40 years old (the average age

is 26 ± 6) in a good physical condition were included in the exploration. The mobile flowmeters LAZMA-PF (Russia) was used to record blood flow. All patients were carried out by laser Doppler flowmetry with the use of orthostatic test. Measurements were recorded at the same time in five points (medial overhead areas, inner surface of forearms, overhead area). *Results.* We observed typical patterns of amplitude-frequency spectrum in the regions of arcs of aorta and upper hollow vein, as well as descending aorta and lower hollow vein. The changes are due to the body position alteration. By the monitoring blood flow in the upper extremity and the supercilium regions the spectral harmonic of the myogenic range (0.047–0.145 Hz) dominated in the clinostatic position and the harmonic of the neurogenic range (0.02–0.046 Hz) was less noticed. In the signal spectrum obtained from the lower limbs the harmonic of the neurogenic range (0.02–0.046 Hz) dominated and the harmonic of the myogenic range (0.047–0.145 Hz) was less noticed. In the orthostatic position in the region of upper extremities and supercilium, the harmonic amplitude of the neurogenic range increased regarding to the amplitude of the myogenic spectrum, and in the region of lower extremities, the harmonic amplitude of the myogenic range increased regarding to the amplitude of the neurogenic range. *Conclusions.* Using of the several sensors in the different body parts by the same time is improving the technique relevance. The healthy volunteers showed the typical patterns of slow wave part of ACS in the upper and lower parts of the body in clinostatic and orthostatic positions. The body position changing is reversing the patterns in the upper and lower body parts. Getting the postural test allows to assess the integrity of regulation mechanisms of microcirculation. The method used and the results need further investigation to determine the possibility to detect the functional and pathological changes, as well as compensatory possibilities of microcirculation in normal and in pathology.

Keywords: Laser Doppler flowmetry, systemic microcirculation, orthostatic sample, amplitude-frequency spectrum pattern

For citation: Ladozhskaya-Gapeenko E. E., Khrapov K. N. Possibilities of Laser-Doppler Flowmetry in assessment of functional state of microcirculation. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2020;19(3):39–45. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-39-45.

Введение

В последние годы проблеме микроциркуляции в научных исследованиях и практической медицине уделяется все больше внимания, появилось различное оборудование для прижизненной визуализации и функциональной оценки состояния сосудов микроциркуляторного русла: электронные капилляроскопы, лазерные флоуметры, ультразвуковые доплерографы, позитронно-эмиссионные томографы. Лабораторное определение маркеров эндотелиальной дисфункции также позволяет получить важную информацию о состоянии микроциркуляции. Однако в мировой клинической практике до сих пор не существует единого протокола оценки состояния системной микроциркуляции. Многие диагностические методы используются ограничено. Оценка функционального состояния микроциркуляции чрезвычайно важна для клиницистов, так как микроциркуляторное русло является местом конечной реализации насосной функции сердца и обеспечивает необходимый тканевой гомеостаз, кроме того, оно обладает высокой степенью защиты в виде совершенной многоуровневой системы регуляции, позволяющей адаптироваться к различным экзогенным и эндогенным факторам, влияющим на кровоток и метаболизм [1]. Объективный анализ функционального состояния микроциркуляторного русла в целом может быть мощным инструментом не только для выявления этиологии нарушений регуляции, но и для оценки резервных возможностей организма. Наиболее информативным неинвазивным способом изучения состояния функционального состояния микроциркуляции считается метод лазерной доплеровской флоуметрии, разработанный R. Bonner в 1980 г. и широко применяющийся за рубежом с середины 80-х гг. [2]. При этом исследовании определяется средний показатель микроциркуляции, прямо пропорциональный произведению скорости движения эритроцитов на их число в зондируемом объеме ткани. Кроме того, при помощи амплитудно-частотного преобразования

полученного сигнала оценивается вклад флуктуаций различных частотных диапазонов [3]. В исследованиях используют различные функциональные пробы, провоцирующие направленные изменения тканевого кровотока для оценки регуляторных механизмов, одной из них является ортостатическая проба [4–6]. Функциональные пробы позволяют оценить как резервы системы, так и реактивность микрососудов и степень вовлечения их в реакции [7]. Как правило, для регистрации микрокровотока используют 1–2 точки.

Стоит отметить, что определяемый показатель микроциркуляции (ПМ) зависит от множества факторов: пола, возраста, наличия заболеваний, психологического статуса, температуры окружающей среды, питания, положения тела в пространстве, волеми, места крепления датчика, приема лекарственных препаратов и т. д. Показатели амплитудно-частотного спектра (АЧС), так называемые активные и пассивные флаксомии, оцениваются в числовых значениях, в виде нормированных по показателю микроциркуляции амплитуд, однако пока еще не определены референтные значения, позволяющие различать допустимые функциональные и патологические изменения микроциркуляции крови.

В итоге, на сегодняшний день единый алгоритм оценки функционального состояния микроциркуляторного русла, который мог бы быть использован для диагностики в условиях клиники, в том числе и для скрининга, пока не разработан. При этом стоит отметить, что в последнее время растет число исследовательских работ с применением лазерной доплеровской флоуметрии, но важной опорой для клиницистов метод так и не стал, несмотря на неинвазивность, простоту использования и высокую чувствительность.

Цель – при помощи лазерной доплеровской флоуметрии, с одновременной регистрацией микрокровотока в пяти точках и применением ортостатической пробы выявить паттерны амплитудно-частотного

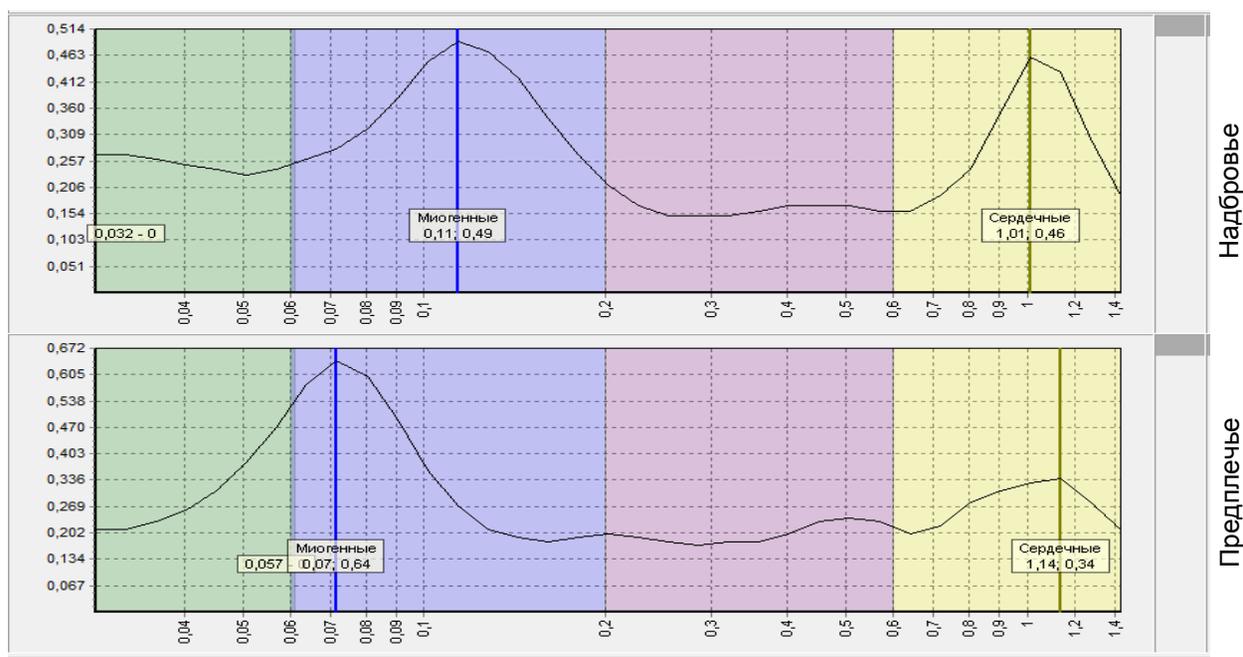


Рис. 1. Вейвлет-преобразование сигнала, зарегистрированного в положении клиностаза

Fig. 1. Wavelet transform of the signal recorded in the clinostasis position

спектра, характерные для всех относительно здоровых индивидов.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 114 человек (69 женщин, 45 мужчин), средний возраст – 26 ± 6 лет. Критерии включения: добровольцы от 18 до 40 лет, считающие себя здоровыми, ведущие активный образ жизни, хорошо переносящие физическую нагрузку. Критерии исключения: наличие постоянной электрокардиостимуляции, протезов конечностей. Всем пациентам выполнялась лазерная доплеровская флоуметрия при помощи мобильных флоуметров «ЛАЗМА-ПФ» (Россия) с применением ортостатической пробы. Накожные датчики фиксировались в пяти точках (в области надбровья, предплечий и голени). После 5-минутной стабилизации кровотока в положении лежа выполнялась 3-минутная регистрация сигнала. Далее пациент самостоятельно переходил в положение ортостаза, при этом положение датчиков не изменялось. После стабилизации кровотока выполнялось повторное измерение. Полученные сигналы подвергались вейвлет-преобразованию. Далее проводился качественный анализ амплитудно-частотного спектра (АЧС) сигналов, полученных с вышеуказанных регионов, сопоставление и сравнение паттернов медленноволновой части (области активных вазомоций) в диапазоне от 0,02 до 0,145 Гц. Были проанализированы гармоники нейрогенного (0,02–0,046 Гц) и миогенного (0,047–0,145 Гц) спектров. Статистический анализ результатов (после проверки на нормальность распределения, тест Колмогорова – Смирнова) проводили с использованием параметрических методов: для сравнения средних амплитуд гармоник нейрогенного и миогенного спектров применяли t-критерий Стьюдента для независимых выборок, для сравнения соотношения амплитуд гармоник нейрогенного и миогенного спектров

использовали t-критерий Стьюдента для зависимых выборок. Обработку данных проводили при помощи программы «SPSS 13».

Результаты исследования и их обсуждение

Качественный анализ медленноволновой части (0,02–0,145 Гц) амплитудно-частотного спектра позволил выявить феномен, ранее не описанный ни в отечественной, ни в зарубежной литературе. В положении клиностаза паттерны медленноволнового диапазона АЧС сигналов, полученных с области верхних конечностей и надбровной области, были идентичны, представлены четкой гармоникой миогенного диапазона (0,047–0,145 Гц), гармоника нейрогенного диапазона (0,02–0,046 Гц) не выражена (рис. 1).

Паттерн медленноволнового диапазона АЧС сигналов, полученного с нижних конечностей в положении клиностаза, представлял собой отчетливую гармонику нейрогенного диапазона (0,02–0,046 Гц) и менее выраженный зубец в миогенном диапазоне (0,047–0,145 Гц) и представлял собой практически зеркальное отражение паттерна амплитудно-частотного спектра сигнала надбровья (рис. 2).

В положении ортостаза определялись следующие изменения: медленноволновый диапазон АЧС сигналов, полученных с области верхней части тела, был представлен гармоникой нейрогенного диапазона и менее выраженной гармоникой миогенного диапазона, а сигналов, полученных с голени, – гармоникой миогенного диапазона и менее выраженной гармоникой нейрогенного диапазона (рис. 3).

Примечательно, что у 83 (72,8 %) паттерны медленноволнового диапазона АЧС, полученные с верхней и нижней частей туловища, имели зеркальное строение относительно друг друга, как в положении ортостаза, так и в положении клиностаза (частота максимальной амплитуды гармоник АЧС сигнала с верхней конечности и надбровной области

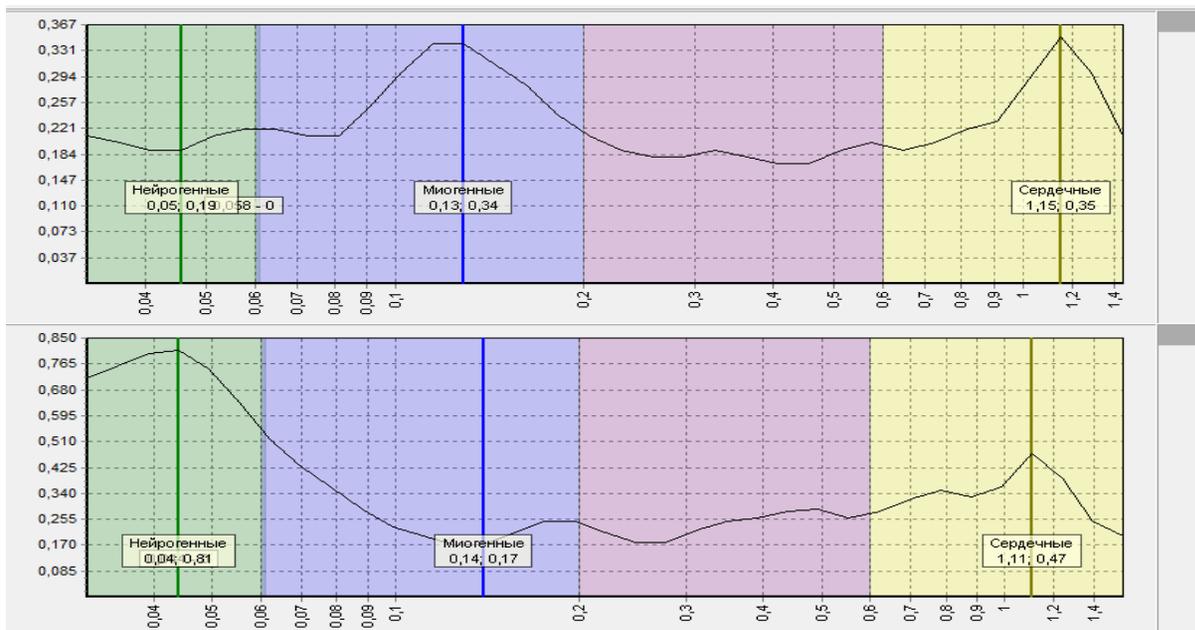


Рис. 2. Вейвлет-преобразование сигналов, зарегистрированных в положении клиностаза
 Fig. 2. Wavelet transform of the signal recorded in the clinostasis position

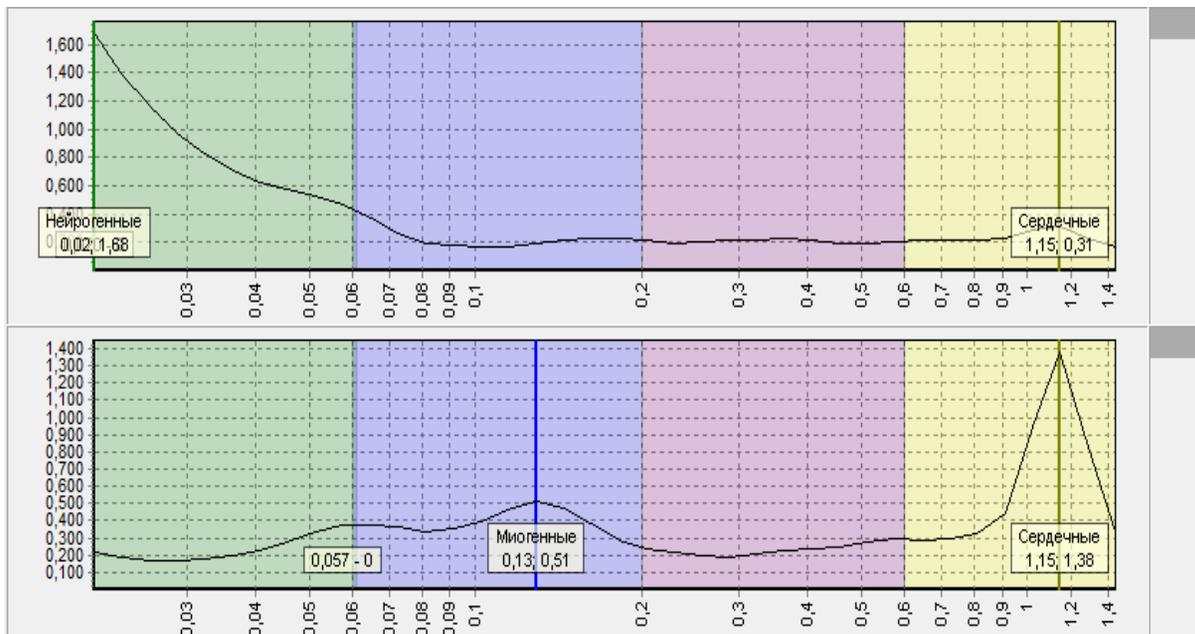


Рис. 3. Вейвлет-преобразование сигналов, зарегистрированных в положении ортостаза
 Fig. 3. Wavelet transform of signals recorded in the orthostasis position

Таблица 1

Средние значения амплитуд нейрогенной и миогенной гармоник

Table 1

Average values of the amplitudes of the neurogenic and myogenic harmonics

Амплитуда гармоники		Клиностаз			Ортостаз			P
		надбровье	предплечье	голень	надбровье	предплечье	голень	
Нейрогенный диапазон	Mean	0,4049	0,4601	0,3971	0,5965	0,7769	0,2714	<0,01*
	SD	0,24498	0,23879	0,23666	0,27949	0,24249	0,22503	<0,01*
Миогенный диапазон	Mean	0,7069	0,7749	0,2344	0,3724	0,4638	0,2344	<0,01*
	SD	0,35356	0,32727	0,18090	0,22996	0,18477	0,20769	<0,01*

* – при сравнении средних амплитуд нейрогенного и миогенного спектров в области одной локализации.

Таблица 2

Средние значения амплитуд нейрогенной и миогенной гармоник, нормированные по среднеквадратичному отклонению (A/3σ)

Table 2

Average values of the amplitudes of neurogenic and myogenic harmonics, normalized by the standard deviation (A/3σ)

Диапазон		Клиностаз			Ортостаз			P
		надбровье	предплечье	голень	надбровье	предплечье	голень	
Нейрогенный	Mean	9,15438	8,38275	10,24225	16,31933	16,87152	12,50566	<0,01*
	SD	4,46272	4,26139	5,167000	8,13578	8,69256	6,22741	<0,01*
Миогенный	Mean	7,01612	6,98951	9,54250	21,14125	20,93240	10,51200	<0,01*
	SD	3,62171	3,78992	4,82577	10,02948	9,46453	4,78564	<0,01*

* – при сравнении нормированных амплитуд нейрогенного и миогенного спектров в области одной локализации

Таблица 3

Средние значения коэффициента соотношения амплитуд нейрогенной и миогенной гармоник (An/Am)

Table 3

Average values of the ratio of the amplitudes of neurogenic and myogenic harmonics (An/Am)

Локализация		Клиностаз	Ортостаз	P
Надбровье	Mean	0,5706	1,7790	<0,01*
	SD	0,1501	0,4199	<0,01*
Предплечье	Mean	0,5848	1,7780	<0,01*
	SD	0,0122	0,0443	<0,01*
Голень	Mean	1,9461	1,3033	<0,01*
	SD	0,0692	0,01109	<0,01*

Примечание: здесь и далее * – при сравнении средних значений коэффициентов соотношения амплитуд нейрогенной и миогенной гармоник в области одной локализации в положении клиностаза и ортостаза.

соответствует минимальному значению амплитуды гармоники АЧС с нижней конечности). У 31 (27,19 %) был отмечен сдвиг частот противофазных гармоник на 0,02–0,04 Гц (рис. 3).

Выявленные характерные паттерны АЧС в медленноволновом диапазоне для верхней и нижней частей тела, а также их противоположные изменения в ортостазе и клиностазе позволяют сделать предположение, что эти изменения отражают механизмы регуляции системной микроциркуляции при изменении гидростатического давления в верхней и нижней полых венах, в нисходящей части и дуге аорты.

Анатомическое строение кровеносных сосудов, расположенных выше и ниже уровня сердца, имеет определенные различия, кроме того, эти два больших бассейна постоянно находятся в условиях противоположного воздействия силы гравитации, исключение составляет только нахождение в условиях невесомости [8]. Известно, что перфузионное давление в капилляре определяется градиентом давления между артериальной и венозной его частями. Отток венозной крови из микрососудов происходит по градиенту давления между дистальной и проксимальной частями венозной системы (с увеличением диаметра венозного сосуда уменьшается давление).

В результате влияния силы гравитации в положении ортостаза давление в дистальной части нижней

полой вены возрастает до 22 мм рт. ст., а в венах голени – до 90 мм рт. ст., артериальное давление в сосудах голени нижних конечностей возрастает среднем на 90 мм рт. ст. и составляет около 210 мм рт. ст. [9, 10]. Выявленные особенности вазомоторной активности микроциркуляторного русла в области голени в положении ортостаза (высокоамплитудная гармоника миогенного диапазона и отсутствие гармоники нейрогенного диапазона) можно объяснить компенсаторным включением вазоконстрикторного механизма в области артериол (рефлекс Остроумова – Бэйлиса) на фоне повышения артериального давления в положении стоя. При этом происходит демпфирование пульсовой волны (механизм защиты стенки капилляров). Увеличение венозного давления компенсируется повышением перфузионного давления в капиллярах за счет снижения тонуса прекапиллярных сфинктеров, и, как следствие, происходит ускорение венолярного оттока (в спектре – ярко выраженная гармоника миогенного диапазона).

В то же время в бассейне верхней полой вены и дуги аорты паттерн медленноволновой части АЧС (выраженная гармоника нейрогенного спектра и отсутствие гармоники миогенного диапазона) можно объяснить как компенсаторную реакцию в виде расширения артериолярного русла в ответ на увеличение влияния силы гравитации (снижение перфузионно-

Средние значения коэффициента соотношения нормированных по СКО амплитуд нейрогенной и миогенной гармоник ($A_n/3\sigma$)/($A_m/3\sigma$)

Table 4

Average values of the coefficient of the ratio of the amplitudes of neurogenic and myogenic harmonics normalized by RMS ($A_n/3\sigma$)/($A_m/3\sigma$)

Локализация		Клиностаз	Ортостаз	P
Надбровье	Mean	1,3047	0,7719	<0,01*
	SD	0,0418	0,0274	<0,01*
Предплечье	Mean	1,1993	0,8060	<0,01*
	SD	0,0625	0,0182	<0,01*
Голень	Mean	1,0733	1,1896	<0,01*
	SD	0,0346	0,0136	<0,01*

го давления). Увеличение тонуса прекапиллярных сфинктеров, проявляющееся значительным снижением гармоники миогенного диапазона, влечет за собой уменьшение числа функционирующих капилляров, что способствует сохранению оптимального перфузионного давления в условиях снижения артериального притока и ускорения венозного оттока. В положении клиностаза возрастает давление в верхней полой вене и уменьшается в нижней, артериальное давление выравнивается, а вазомоторная активность микроциркуляторного русла претерпевает изменения, обратные тем, что происходят в ортостазе.

Полученные результаты позволяют предположить, что положительная гармоника нейрогенного диапазона в АЧС появляется в ответ на снижение артериального перфузионного давления. Положительная гармоника миогенного спектра наблюдается при увеличении перфузионного давления вследствие возрастания проксимального венозного давления. Вероятно, эти механизмы являются достаточно защищенными, мало изменяющимися в ответ на большинство экзогенных и эндогенных влияний.

Интересно, что абсолютно зеркальная синхронизация паттернов АЧС противоположных регионов тела отмечена у 72,8 % пациентов, у остальных отмечался незначительный сдвиг частот. Учитывая, что дальнейшему обследованию добровольцы не подвергались, остается лишь предположить, что у большинства отсутствуют функциональные нарушения системной микроциркуляции, а остальные, возможно, имеют функциональные нарушения, которые еще не проявляются клинически, но являются предикторами патологических состояний и снижения компенсаторных возможностей организма.

Выводы

1. Одновременное использование более двух датчиков в области нижней и верхней частей тела повышает диагностическую значимость метода лазерной доплеровской флоуметрии.

2. У относительно здоровых испытуемых выявлены характерные паттерны медленноволновой

части АЧС в области верхней и нижней частей тела, в ортостазе и клиностазе. При перемене положения тела паттерны верхней и нижней частей тела изменяются зеркально. Выполнение постральной пробы позволяет оценивать сохранность механизмов регуляции вазомоторной функции микроциркуляторного русла.

3. Использованный метод и полученные результаты нуждаются в дальнейшем исследовании с целью определения возможности объективного выявления функциональных и патологических изменений, а также компенсаторных возможностей микроциркуляции в норме и при патологии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Jepsen H, Gaehtgens P. Postural Vascular Response vs. Sympathetic Vasoconstriction in Human Skin During Orthostasis. *Am J Physiol.* 1995;269(1):H53–61. Doi: 10.1152/ajpheart.1995.269.1.H53.
2. Gniadecki R, Gniadecka M, Kotowski T, Serup J. Alterations of Skin Microcirculatory Rhythmic Oscillations in Different Positions of the Lower Extremity. *Acta Derm Venereol.* 1992;72(4):259–260.
3. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: рук. для врачей. – М.: ЛИБРОКОМ, 2013. – 496 с. [Krupatkin AI, Sidorov VV. Functional diagnostics of the state of microcirculatory and tissue systems: vibrations, information, non-linearity: a guide for doctors. Moscow, LIBROCOM, 2013:496. (In Russ.)].
4. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови / В. И. Козлов, Г. А. Азизов, О. А. Гурова, Ф. Б. Литвин. – М.: РУДН, 2012. – 31 с. [Kozlov VI, Azizov GA, Gurova OA, Litvin FB. Laser Doppler flowmetry in assessing the state and disorders of blood microcirculation. Moscow, RUDN, 2012:31. (In Russ.)].
5. Klabunde RE. *Cardiovascular Physiology Concepts.* Lippincott Williams & Wilkins, 2011:257.
6. Камкин А. Г., Каменский А. А. Фундаментальная и клиническая физиология. – М.: Academia, 2004. – 1080 с.

[Kamkin AG, Kamensky AA. *Fundamental and clinical physiology*. Moscow, Academia, 2004:1080. (In Russ.)].

7. Павлов В. Н., Казихируров А. А., Крупин В. Н. и др. Изменения ультраструктуры и микроциркуляции стенки мочевого пузыря у пациентов с неинвазивными формами рака // *Онкоурология*. – 2008. – № 4. – С. 57–60. [Pavlov VN, Kazimirov AA, Krupin VN et al. *Changes in the ultrastructure and microcirculation of the bladder wall in patients with non-invasive forms of cancer*. *Oncourology*. 2008;4:57–60. (In Russ.)].

8. Смирнов В. М. *Физиология человека*. – 1-е изд. – М.: Медицина, 2002. – 608 с. [Smirnov VM. *Human Physiology*. 1st edition. Moscow, Meditsina, 2002:608. (In Russ.)].

9. Allaqaband H, Gutterman DD, Kadlec AO. *Physiological consequences of coronary arteriolar dysfunction and its influence on cardiovascular disease*. *Physiology*. 2018; 33(5):338–347. Doi: 10.1152/physiol.00019.2018.

10. Husmann MJ, Barton M, Jacomella V et al. *Long-term Effects of Endovascular Angioplasty on Orthostatic Vasotaneous Autoregulation in Patients With Peripheral Atherosclerosis*. *J Vasc Surg*. 2006;44(5):993–997. Doi: 10.1016/j.jvs.2006.06.038.

Сведения об авторах

Ладожская-Гапеенко Екатерина Евгеньевна – врач – анестезиолог-реаниматолог, младший научный сотрудник научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, e-mail: ulfkote@mail.ru.

Храпов Кирилл Николаевич – д-р мед. наук, руководитель отдела анестезиологии научно-клинического центра анестезиологии, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: khrapov.kirill@mail.ru.

Information about authors

Ladozhskaya-Gapeenko Ekaterina E. – anesthesiologist, Junior Researcher, Scientific and Clinical Center of Anesthesiology and Reanimatology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: ulfkote@mail.ru.

Khrapov Kirill N. – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Anesthesiology and Reanimatology, Head of the Anesthesiology Department, Scientific and Clinical Center, Pavlov University, Saint Petersburg, e-mail: khrapov.kirill@mail.ru.

УДК 616.8-005

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-46-56

В. В. АНДРЕЕВ^{1–3}, А. Ю. ПОДУНОВ¹, Д. С. ЛАПИН¹,
З. Л. ГИЛЯЕВА¹, Е. Н. НИКИФОРОВА¹, К. В. ГОЛИКОВ¹,
Д. И. РУДЕНКО^{1, 2}

Клинико-патогенетические особенности церебрального инсульта у больных с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)

¹ Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия
194354, Россия, Санкт-Петербург, Учебный пер., д. 5

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68
E-mail: nevro-fpo@mail.ru

Статья поступила в редакцию 28.06.20; принята к печати 31.07.20

Резюме

Цель. Улучшить диагностику и лечение остро нарушения мозгового кровообращения у пациентов с внебольничной пневмонией, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). **Материалы и методы.** впервые у 121 больных проанализированы клинические особенности инсультов на фоне внебольничной пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). Сформированы две группы в зависимости от подтверждения поражения легких. Основную группу составили 69,4 % (n=84) с клинически и инструментально установленным диагнозом: «Новая коронавирусная инфекция в сочетании с инсультом». Группа контроля (30,6 %; n=37) – случаи ишемического и геморрагического инсульта без признаков SARS-CoV-2. В обеих группа сопоставлялась тяжесть возникших заболеваний, изучены особенности лабораторно-биохимических данных. Проведен статистический анализ исходов с тяжестью поражения головного мозга и легочной ткани. **Результаты.** У пациентов с церебральным инсультом на фоне новой коронавирусной инфекции (COVID-19) отмечено преобладание случаев ишемического инсульта (86,4 %) по неутонченному (41,4 %) и кардиоэмболическому (35,7 %) патогенетическим подтипам (по TOAST) с локализацией в каротидном бассейне (89,7 %). При геморрагическом инсульте с большей частотой наблюдалось паренхиматозное кровоизлияние (54,5 %). Тяжесть развившихся острых нарушений мозгового кровообращения по шкале NIHSS – до 13,16 (8,80) балла с менее выраженным повреждением головного мозга – шкале комы Глазго (14,0 (12,0; 15,0)). В группе наблюдаемых диагностировано распространенное поражение легочной ткани в 82,2 % случаев. Достоверного повышения случаев клинически значимых проявлений системной и органной гиперкоагуляции не установлено. **Выводы.** При инсульте у больных с COVID-19 преобладают ишемические проявления с неутонченным и кардиоэмболическим подтипами без возрастных и гендерных особенностей с отсутствием различий по тяжести течения и большим числом благоприятных исходов. Клинико-лабораторно установлена высокая активность воспалительно-инфекционных изменений.

Ключевые слова: ишемический инсульт, геморрагический инсульт, внебольничная пневмония, новая коронавирусная инфекция, тромбоз, геморрагия, COVID-19

Для цитирования: Андреев В. В., Подунов А. Ю., Лапин Д. С., Гиляева З. Л., Никифорова Е. Н., Голиков К. В., Руденко Д. И. Клинико-патогенетические особенности церебрального инсульта у больных с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020; 19(3): 46–56. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-46-56.

V. V. ANDREEV¹⁻³, A. Y. PODUNOV¹, D. S. LAPIN¹,
Z. L. GILYAEVA¹, E. N. NIKIFOROVA¹, K. V. GOLIKOV¹,
D. I. RUDENKO^{1, 2}

Clinical and pathogenetic features of cerebral stroke in patients with new coronavirus infection (COVID-19)

¹ City multi-specialty hospital № 2, Saint Petersburg, Russia

5, Uchebny per., Saint Petersburg, Russia, 194354

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

³ N. N. Petrov Institute of Oncology, Saint Petersburg, Russia

68, Leningradskaya str., Pesichniy, Saint Petersburg, Russia, 197758

E-mail: nevro-fpo@mail.ru

Received 28.06.20; accepted 31.07.20

Summary

We studied the patients had the acute cerebrovascular events after the community acquired pneumonia evoked by new COVID-19 infection. *The aim* of our paper is improving the diagnosis and treatment of that condition. *Materials and methods.* We analyzed the stroke clinical features of 121 patient suffering from community acquired pneumonia induced by COVID-19 for the first time. Two groups were formed depending on the proved pulmonary damage. The main group included 69.4 % of patients (n=84) with diagnosis of new coronavirus disease plus stroke. Patients with ischemic and hemorrhage stroke in absence of SARS-CoV-2 signs were formed control group (30.6 %; n=37). We compared severity of the diseases and explored the biochemical characteristics in the both groups. Outcomes of severe cerebral and pulmonary injury were analyzed statistically. *Results.* Post-stroke patients with coronavirus disease showed predominantly the ischemic stroke (86.4 %) for unspecified (41.4 %) and cardioembolic (35.7%) pathogenetic subtypes (according to TOAST) with localization in the carotid basin (89.7 %). The hemorrhagic stroke more often was accompanied by parenchymal hemorrhage (54.5 %). The severity of the developed stroke according to the NIHSS scale is up to 13.16 (8.80) points with less severe brain damage – Glasgow coma scale (14.0 (12.0 15.0)). In the group of patients, widespread lung tissue damage was diagnosed in 82,2% of cases. The reliable increase of clinically relevant hypercoagulation signs was absent. *Conclusions.* Post-stroke patients with COVID-19 mainly have ischemic signs with unspecified and cardioembolic subtypes in absence of any sex and age features. The differences in disease severity are absent. The outcomes of diseases are mainly favorable. The high activity of inflammatory changes is clinically revealed.

Key words: Ischemic stroke, hemorrhagic stroke, community-acquired pneumonia, novel coronavirus infection, thrombosis, hemorrhage, COVID-19

For citation: Andreev V. V., Podunov A. Y., Lapin D. S., Gilyaeva Z. L., Nikiforova E. N., Golikov K. V., Rudenko D. I. Clinical and pathogenetic features of cerebral stroke in patients with new coronavirus infection (COVID-19). *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2020;19(3):46–56. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-46-56.

Введение

Актуальность лечения инсульта связана со значительным его распространением. Число случаев колеблется в различных регионах мира от 1 до 4 на 1 000 населения в год [1–6]. В Российской Федерации ежегодно регистрируется более 400 000 инсультов, среди них ишемические инсульты (церебральные инфаркты) составляют 70–85 %. Указывается [7–11], что заболеваемость и смертность остаются одними из самых высоких в мире. Ожидается, что вследствие демографического старения населения, недостаточного контроля основных факторов риска число пациентов с инсультом будет продолжать увеличиваться [8, 9]. Инвалидизация от инсульта занимает 1-е место и достигает, по данным разных авторов [8], до 40 %. Особенности течения и про-

гноза инсульта при сопутствующей легочной патологии также представляет предмет исследования. Известно, что бактериальная пневмония – одно из наиболее важных осложнений инсульта, и основная ее причина – дисфагия. Аспирационная пневмония наиболее часто возникает у пациентов с нарушениями сознания и вследствие бульбарного синдрома, неадекватного кормления, неэффективного ухода за трахеобронхиальным деревом. Гипостатическая пневмония развивается при гиповентиляции легких вследствие задержки активизации больных. Пневмония снижает эффективность внешнего дыхания, ведет к гипоксии мозга, является прогностически неблагоприятным фактором [10]. Имеются данные о том, что наличие пневмонии приводит к более длительным срокам пребывания в стационаре и риску

Распределение пациентов по возрасту в основной группе и группе контроля

Table 1

Distribution of patients by age in the main group and the control group

№ п/п	Группа	Возраст, лет	Число пациентов		p
			n	%	
1	Основная	73,0 (12,3)	84	69,4	0,036
2	Контроль	75,2 (12,1)	37	30,6	
3	Всего	73,5 (12,2)	121	100	–

Гендерное распределение в основной группе (n=84)



а Мужчины Женщины

Гендерное распределение в группе контроля (n=37)



б Мужчины Женщины

Рис. 1. Гендерное распределение пациентов: а – основная группа; б – группа контроля

Fig. 1. Gender distribution of patients: a – main group; б – control group

большей инвалидизации [11]. В условиях пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) обсуждаются различные механизмы ее влияния на нервную систему. В литературе имеются данные [16] о прямом нейротропном действии указанного инфекционного агента с повреждением вещества головного мозга и на периферическую нервную систему. Также высказываются мнения об опосредованном повышенном риске – возникновение нарушений свертывания крови с возникновением тромботических осложнений. Одним возможным механизмом является непосредственное действие SARS-CoV-2 на эндотелиальные клетки, выстилающие кровеносные сосуды [13]. Тяжелое течение заболевания, проявляющееся лихорадкой и пневмонией, приводящее к острому респираторному дистресс-синдрому (ОРДС), было описано в 20 % случаев COVID-19 [14].

Цель работы – улучшить диагностику и лечение острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов с внебольничной пневмонией, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19).

Задачи исследования:

1) проанализировать возрастные и гендерные особенности больных при внебольничной пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19);

2) оценить клинические особенности инсультов в сочетании с внебольничными пневмониями коронавирусной этиологии – соотношение ишемических и геморрагических типов с оценкой подтипов при

разных проявлениях с вариантами локализации повреждения;

3) определить тяжесть течения и инвалидизации с использованием шкал NIHSS, шкалы комы Глазго, шкалы Рэнкина;

4) выявить клинико-лабораторные изменения системных метаболических и коагуляционных параметров;

5) сопоставить распространенность поражения легочной ткани и внелегочное поражение SARS-CoV-2 с особенностями диагностированных инсультов;

6) охарактеризовать исходы перенесенных инсультов в зависимости от тяжести возникшей внебольничной пневмонии;

7) предположить наиболее значимые факторы риска церебрального инсульта при распространенном поражении легочной ткани.

Материалы и методы исследования

Были проанализированы 121 случай возникновения мозгового инсульта. Пациенты были разделены на две группы. Основная группа состояла из пациентов с диагностированным острым нарушением мозгового кровообращения, независимо от типа, в сочетании с новой коронавирусной инфекцией. Сравнение проводилось с аналогичными случаями ишемического и геморрагического инсульта без имеющих клинико-лабораторных подтверждений новой коронавирусной инфекции. Все пациенты, которые были включены в исследование, получали

полный объем лечения по основному заболеванию и по сопутствующей патологии в соответствии с приказами и стандартами по нозологии. Для церебрального инсульта – «Порядок оказания помощи больным с ОНМК» (Приказ министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 ноября 2012 г. № 928н). При диагностированной новой коронавирусной инфекции – в соответствии с временными клиническими рекомендациями по лечению новой коронавирусной инфекции (версия 1–7). Критериями включения больных в исследование являлись подтвержденный диагноз острого нарушения мозгового кровообращения, независимо от типа (ишемический или геморрагический), и подтвержденное заболевание – новая коронавирусная инфекция. Критериями подтверждения являлись лабораторные тесты (ПЦР-диагностика) и характерные признаки поражения легочной ткани при диагностировании поражения соответствующей локализации.

Методы статистической обработки данных. Для описания числовых характеристик признаков использовались медиана и межквартильный размах (Me [Q1; Q3]) для негауссовских выборок, среднее и стандартное отклонение M(SD) для нормальных выборок. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью критерия Вилкоксона для зависимых выборок и критерия Манна – Уитни для независимых выборок в случае негауссовских выборок, а также, соответственно, парного и непарного критерия Стьюдента, когда обе выборки распределены нормально.

Результаты исследования и их обсуждение

В соответствии с поставленной целью и задачами исследования больные были разделены на две группы. Основная группа наблюдений включала в себя 84 (69,4 %), группа контроля – 37 (30,6 %) наблюдений. Все пациенты находились на стационарном лечении в отделении неврологии № 1 СПбГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2». Госпитализация во всех случаях осуществлялась по неотложным показаниям в связи с возникшими симптомами острого инсульта.

При анализе особенностей наблюдаемых пациентов по возрасту и полу установлено, что медиана

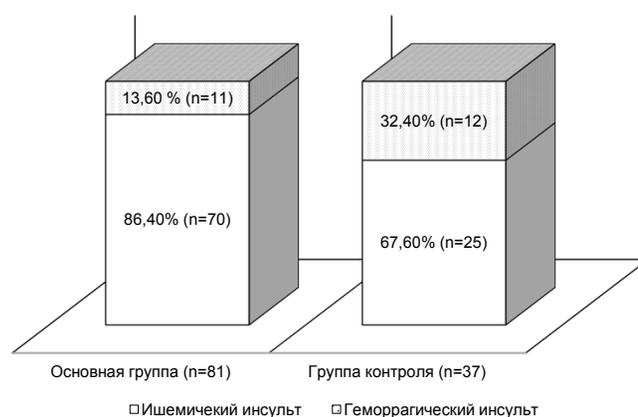


Рис. 2. Распределение пациентов по типу инсульта в основной группе и группе контроля

Fig. 2. Distribution of patients by type of stroke in the main and control groups

на возраст в группах составляла 73,0 (12,3) и 75,2 (12,1) года соответственно. Средний возраст всех обследованных составил 73,5 (12,2) года. Достоверной разницы по этим параметрам в основной группе и группе контроля не отмечено ($p=0,36$). Распределение наблюдаемых больных по возрасту и полу приведено в табл. 1.

Сопоставление по полу показало, что в основной группе соотношение мужчин и женщин было равным – по 50,0 % ($n=42$). В группе контроля отмечалось незначительное преобладание женщин – 59,5 % ($n=22$) и 40,5 % ($n=15$) соответственно. Гендерное распределение в группах показано на рис. 1.

Изучение особенностей возникшего инсульта, без учета патогенетических подтипов, показало значительно преобладание случаев ишемических инсультов в сравнении с геморрагическими инсультами в обеих группах. В основной группе и группе контроля доля таких пациентов составила 86,4 % ($n=70$) и 67,6 % ($n=25$), в то время как число пациентов с проявлениями геморрагического инсульта составило в основной группе 13,6 % ($n=11$), в группе контроля – 32,4 % ($n=12$). Тем не менее геморрагический инсульт в основной группе был выявлен у значительно меньшего числа наблюдаемых, чем в контрольной ($p=0,010$). Данные показаны на рис. 2.

Таблица 2

Особенности патогенетических подтипов ишемических инсультов по TOAST в группах

Table 2

Features of pathogenetic subtypes of ischemic strokes according to TOAST in groups

№ п/п	Подтип ишемического инсульта	Группа				p
		основная (n=70)		контроль (n=25)		
		%	n	%	n	
1	Атеротромботический	18,6	13	32,0	8	0,46
2	Кардиоэмболический	35,7	25	40,0	10	0,67
3	Лакунарный	4,3	3	4,0	1	0,17
4	Неуточненный	41,4	29	24,0	6	0,018
5	Всего	100	70	100	25	–

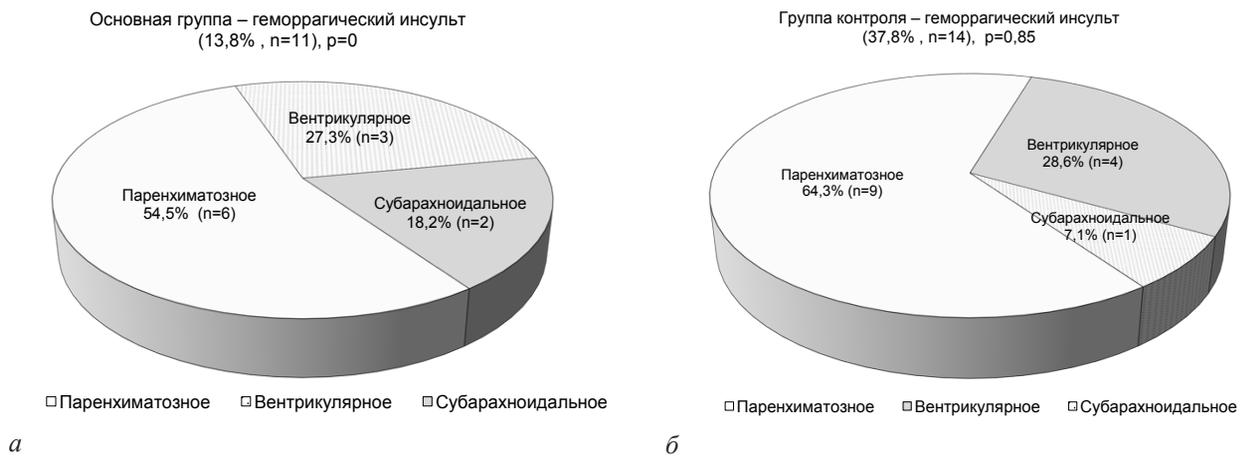


Рис. 3. Распределение пациентов с разными вариантами геморрагического инсульта (а); распределение пациентов группы контроля при геморрагическом инсульте (б)
 Fig. 3. Distribution of patients with different types of hemorrhagic stroke (a); distribution of control group patients with hemorrhagic stroke (b)

Таблица 3

Проявления субдуральной гематомы (нетравматической) и геморрагического пропитывания при ишемическом инсульте

Table 3

Manifestations of subdural hematoma (non-traumatic) and hemorrhagic impregnation in ischemic stroke

№ п/п	Подтип геморрагического инсульта	Группа				p
		основная, 12,5 % (n=11)		контроль, 37,8 % (n=14)		
		%	n	%	n	
4	Субдуральные	9,1	1	21,3	3	0,64
6	Геморрагическое пропитывание	18,2	2	7,1	1	
7	Всего	100	7	63,6	14	-

При анализе подтипов инсульта в группах установлено, что в основной группе преобладали пациенты с неуточненным и кардиоэмболическими подтипами – 41,4 % (n=29) и 35,7 % (n=25) соответственно. Атеротромботический и лакунарный подтипы ишемических инсультов в основной группе были подтверждены у 18,6 % (n=13) и 4,3 % (n=3) соответственно. В группе контроля распределение больных с вариантами подтипов инсульта отличалось и было следующим: доля случаев атеротромботического инсульта – 32,0 % (n=8), кардиоэмболического – 40,0

% (n=10), неуточненного подтипа – 24,0 % (n=6). Лакунарные варианты в группе контроля составили 4,0 % (n=1). Данные, характеризующие особенности подтипов выявленных ишемических инсультов приведены в табл. 2.

Особенности геморрагических инсультов показали отличия в группах, которые были незначимыми. В основной группе доля пациентов с геморрагическим типом составила 13,8 % (n=11), в группе контроля этот показатель составил 37,8 % (n=14) случаев (p=0,85). Распределение по вариантам кровоизлияния показали следующие особенности: вентрикулярные геморрагические проявления отмечены у 27,3 % (n=3) и 28,6 % (n=4) соответственно. Внутримозговые проявления были выявлены у 54,5 % (n=6) основной группы и у 64,3 % (n=9) группы контроля. Вариант субарахноидального кровоизлияния в основной группе и группе контроля обнаружен у 18,2 % (n=2) и 7,1 % (n=1) соответственно. Результаты показаны на рис. 3.

Также обращает на себя внимание наличие других вариантов геморрагических проявлений у пациентов основной группы и группы контроля. В частности, имелись признаки нетравматической субдуральной гематомы у 9,1 % (n=1) основной группы и у 21,3 % (n=3) группы контроля. В 18,2 % (n=2) случаев в основной группе выявлялись случаи геморрагического пропитывания при ишемическом инсульте. Аналогичные изменения были выявлены у 7,1 % (n=1) (табл. 3).

Бассейн кровоснабжения у пациентов основной группы (n=68) и группы контроля (n=37)

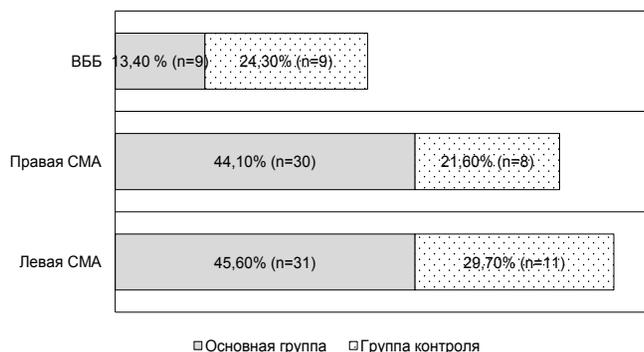


Рис. 4. Выявленные бассейны поражения у пациентов основной группы и группы контроля
 Fig. 4. Revealed lesions in patients of the main group and the control group

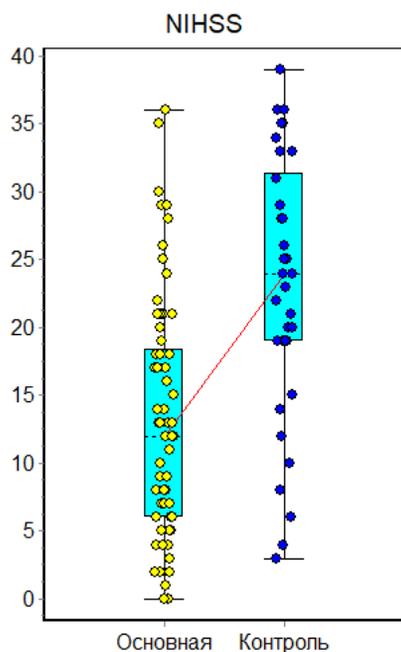


Рис. 5. Особенности распределения пациентов в зависимости от тяжести инсульта по шкале NIHSS

Fig. 5. Features of the distribution of patients depending on the severity of stroke according to the NIHSS scale

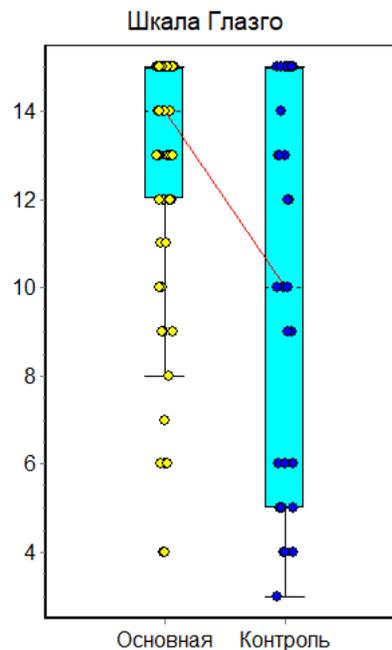


Рис. 6. Особенности распределения пациентов по тяжести повреждения головного мозга (шкала комы Глазго)

Fig. 6. Features of the distribution of patients according to the severity of brain damage (Glasgow Coma Scale)

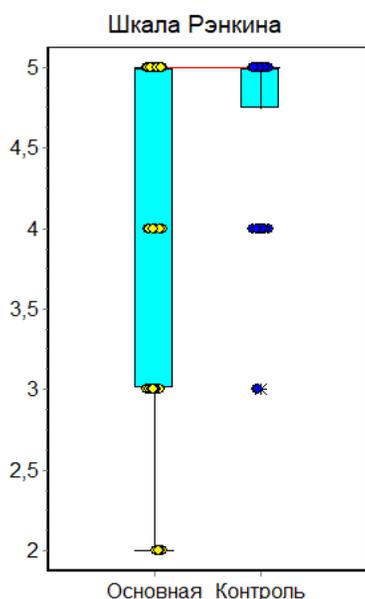


Рис. 7. Особенности распределения пациентов по шкале Рэнкина

Fig. 7. Features of the distribution of patients according to the Rankin scale

Локализация бассейна поражения в группах при ишемическом инсульте показала следующие особенности. В основной группе преобладали пациенты с очаговым поражением правой средней мозговой артерии – 44,1 % (n=30) у пациентов основной группы и у 21,6 % (n=8) пациентов группы контроля. В бассейне левой средней мозговой артерии доля пациентов в группах составила 45,6 % (n=31) и 29,7 % (n=11) соответственно. Окклюзирующее поражение вертебрально-базиллярного бассейна отмечено у меньшего числа пациентов – 13,4 % (n=9) в основной группе и 24,3 % (n=9) в группе контроля. Данные приведены на рис. 4.



Рис. 8. Выявленные изменения в легких по результатам компьютерной томографии грудной клетки в основной группе и группе контроля

Fig. 8. Revealed changes in the lungs according to the results of computed tomography of the chest in the main group and the control group

Повторные эпизоды инсульта выявлялись у пациентов только в основной группе и в минимальном числе случаев – 2,8 % (n=2).

Тяжесть переносимого инсульта согласно шкале NIHSS отмечено в основной группе 13,16 (8,80) меньше, чем в группе контроля 23,11 (9,66), $P < 0,001$ (рис. 5).

Параметры общей тяжести поражения головного мозга по шкале комы Глазго при поступлении в основную группу – 14,0 (12,0 15,0) – больше, чем в группе контроля, – 10,00 (5,00 15,00), $p = 0,002$. Диаграмма распределения тяжести поражения мозга по шкале комы Глазго показана на рис. 6.

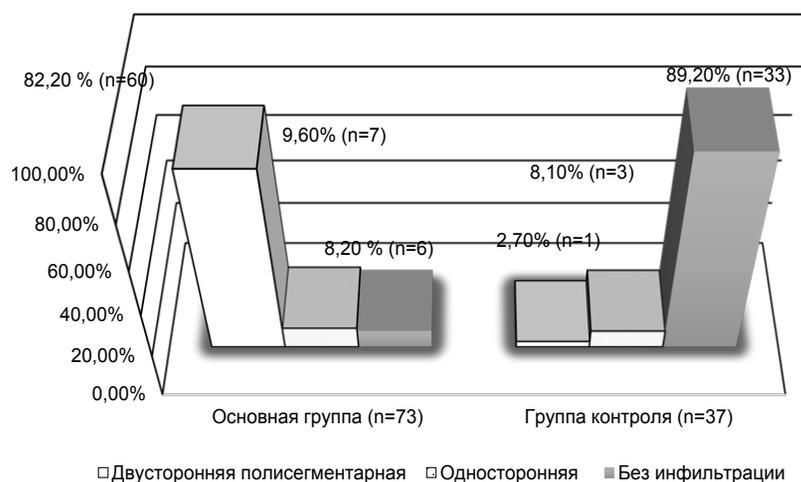


Рис. 9. Распространение поражения легких в основной группе и группе контроля (по результатам компьютерной томографии грудной клетки)

Fig. 9. The spread of lung lesions in the main group and the control group (according to the results of computed tomography of the chest)

Таблица 4

Клинико-лабораторные маркеры воспаления, в том числе инфекционного характера

Table 4

Clinical and laboratory markers of inflammation, including those of an infectious nature

№ п/п	Параметр	Группа		p
		основная	контрольная	
11	СРБ _{max} , 0–5	11,1 (10,2)	10,15 (8,00)	<0,001
12	Эозинофилы, % (1–5)	0,100 (0,000; 0,700)	0,3000 (0,0200; 0,7750)	0,32
13	Лейкоциты (4,0–9,0)	11,68 (5,37)	11,07 (3,70)	0,48
14	Лимфоциты, % (19–37)	10,40 (6,45; 19,40)	10,20 (8,33; 16,80)	0,74

Таблица 5

Клинико-биохимические показатели в основной группе и группе контроля

Table 5

Clinical and biochemical parameters in the main group and the control group

№ п/п	Параметр	Группа		p
		основная	контрольная	
1	АЛТ	21,5 (15,0; 33,3)	20,0 (16,0; 36,0)	0,92
2	АСТ	29,0 (19,3; 53,0)	28,0 (21,0; 43,5)	0,93
3	Глюкоза	7,30 (6,20; 8,95)	8,65 (6,85; 10,45)	0,040
4	Тропонин I	73,0 (20,0; 423,9)	142,9 (14,4; 654,9)	0,66
5	Креатинин	82,0 (69,5; 119,0)	77,0 (65,5; 123,0)	0,89

Оценка степени нарушения жизнедеятельности по шкале Рэнкина показала, что в основной группе числа баллов составило 5,00 (3,00; 5,00) и было меньше, чем в контрольной группе, – 5,00 (4,50; 5,00), $p=0,17$, за счет большего числа пациентов со значениями 3 и 2. Однако в обеих группах преобладали высокие значения – 4 и 5. Данные показаны на рис. 7.

Все случаи острого инсульта были подтверждены при компьютерной томографии головного мозга, как ишемические, так и геморрагические. Также проводилось компьютерное томографическое обследование грудной клетки для оценки признаков вос-

палительных изменений легочной ткани и плевральных полостей. При этом установлено, что признаки пневмонии выявлялись в 91,25 % ($n=73$) у пациентов основной группы и отсутствовали у 81,1 % ($n=30$) в группе контроля. Соответственно, установлено распределение по объему и характеру поражения. В основной группе единичные очаги поражения легочной ткани верифицированы у 2,5 % ($n=2$), трахеобронхит – у 38,75 % ($n=31$). Проявления гидроторакса – у 7,5 % ($n=6$). В группе контроля подобные изменения выявлены у 2,7 % ($n=1$) пациентов соответственно. Результаты компьютерной томографии грудной клетки показаны на рис. 8.

Коагуляционные показатели в основной группе и группе контроля

Table 6

Coagulation indicators in the main group and the control group

№ п/п	Параметр	Группа		p
		основная	контрольная	
5	Тромбоциты	251,3 (90,7)	218,5 (81,4)	0,05
7	АЧТВ	29,2 (26,7; 33,0)	29,2 (26,4; 32,8)	0,002
8	МНО	1,16 (1,05; 1,25)	1,05 (1,00; 1,19)	0,013
9	Протромбин	85,9 (23,4)	92,7 (24,1)	0,15
10	Протромбиновое время	12,8 (11,9; 13,9)	11,9 (11,3; 13,4)	0,040

Таблица 7

Показатели липидного обмена в основной группе и группе контроля

Table 7

Indicators of lipid metabolism in the main group and the control group

№ п/п	Параметр	Группа		Референсное значение	p
		основная	контрольная		
1	Холестерин общий, ммоль/л	4,50 (1,42)	3,75 (1,24)	3,2–4,8	0,028
2	ЛПОНП, ммоль/л	0,640 (0,262)	0,539 (0,192)	0,26–1,04	0,14
3	Триглицериды, ммоль/л	1,402 (0,576)	1,402 (0,576)	0,41–1,8	0,13
4	ЛПНП, ммоль/л	2,64 (1,30)	2,58 (1,19)	Мужчины: 2,25–4,82; женщины: 1,92–4,51	0,88
5	ЛПВП, ммоль/л	0,957 (0,439)	0,912 (0,380)	Мужчины: 0,7–1,73; женщины: 0,86–2,28	1,00
6	Коэффициент атерогенности (КА)	3,82 (1,69)	3,86 (1,92)	2,2–3,5	0,24

В основной группе дополнительно проводился анализ особенностей выявленной патологии легких. При этом нами установлено, что у значительного числа обследованных имелись КТ-признаки двусторонней полисегментарной пневмонии (82,2 %, n=60), односторонняя пневмония обнаружена у 9,6 % (n=7), и доля пациентов без инфильтративных изменений составила 8,1 % (n=3). В группе контроля мы обнаружили признаки двустороннего инфекционного поражения легких у 2,7 % (n=1), с односторонними изменениями были 8,2 % (n=6). Патологических изменений легких не выявлено у большинства больных этой группы – 89,2 % (n=33). Особенности поражения легочной ткани в группах показаны на рис. 9.

Лабораторные данные оценивали проявления системных воспалительных изменений и факторы риска возникновения инсульта. Были установлены следующие особенности. Согласно проведенному анализу, в основной группе отмечался более значимый показатель С-реактивного белка – 11,1(10,2), в контрольной группе – 10,15 (8,00) (p<0,001). Количественные показатели лейкоцитов составили 11,68 (5,37) и 11,07 (3,70) в основной группе и группе контроля. Сходные данные были установлены и для лимфоцитов – 10,40 (6,45; 19,40); 10,20 (8,33; 16,80) соответственно (p<0,74). Клинико-лабораторные данные приведены в табл. 4.

Лабораторно-биохимические показатели, характеризующие функционирование внутренних органов,

находились в диапазоне референсных значений. Можно отметить несколько более выраженные показатели для параметра уровня глюкозы крови натощак – 8,65 (6,85; 10,45) и 7,30 (6,20; 8,95) ммоль/л соответственно. Лабораторные данные, отражающие клинко-метаболические параметры у больных, приведены в табл. 5.

Изучение параметров коагуляции показали, что несколько более выраженными в основной группе были данные по числу тромбоцитов и протромбиновому времени, МНО значимо отличались в группах – 1,16 (1,05 1,25); 1,05 (1,00 1,19) (p=0,013). Уровень протромбина отмечен более значимым в группе контроля – 92,7 (24,1), в то время как у пациентов основной группы это показатель соответствовал значению 85,9 (23,4) (p=0,15). Данные приведены в табл. 6.

Оценивая липидный обмен в обеих группах, мы установили, что все показатели находились в умеренных параметрах дислипидемии с повышением коэффициента атерогенности до 3,82 (1,69) и 3,86 (1,92) соответственно (табл. 7).

Анализ исходов и патоморфологические изменения из числа летальных исходов. Число летальных исходов в основной группе составило 53,1 %, также 5,1 % были переведены в другой стационар, 41,8 % пациентов выписаны. В группе контроля все пациенты с летальным исходом. Данные приведены в табл. 8.

Исходы в основной группе и группе контроля, число проведенных койко-дней в стационаре (основная группа)

Table 8

Outcomes in the main group and the control group, the number of bed-days spent in the hospital (main group)

№ п/п	Параметр	Группа				P _{осн-контр}
		основная (n=42)		контрольная (n=37)		
		n	%	n	%	
1	Умершие	42	53,1	37	100,0	<0,001
	Перевод в другой стационар	4	5,10	0	0	
	Выписаны	33	41,8	0	0	–
2	Количество проведенных дней в стационаре	12,00 (7,00; 18,00)	–	7,00 (2,00; 19,50)	–	0,57

Таблица 9

Патоморфологические изменения у пациентов основной группы и группы контроля

Table 9

Pathomorphological changes in patients of the main group and the control group

№ п/п	Параметр	Группа				P _{осн-контр}
		основная (n=24)		контрольная (n=16)		
		n	%	n	%	
1	Кардиосклероз	21	87,5	16	100,0	0,024
2	Инфаркт головного мозга	20	83,3	8	50,0	0,13
3	ХСН*	18	75,0	15 (93,8 %)	93,8	<0,001
4	Кровоизлияния в органы	8	33,3	1	6,20	0,045
5	Инфаркты других органов**	4	17,4	16	100,0	0,08

* – хроническая сердечная недостаточность, имеющиеся проявления: мускатная печень, бурая индурация легких, индурация селезенки; ** – внутренние органы: легкие, почки, селезенка.

Таблица 10

Результаты клинического обследования пациентов в группах

Table 10

Results of clinical examination of patients in groups

№ п/п	Параметр	Группа		P _{осн-контр}
		основная (n=84)	контрольная (n=37)	
1	САД, мм рт. ст.	130 (110; 140)	130 (112; 140)	0,95
2	ДАД, мм рт. ст.	75,0 (70,0; 80,0)	75,0 (70,0; 80,0)	0,32
3	ЧДД, в 1 мин	19,87 (2,47)	21,31 (2,07)	0,002
4	SpO ₂ , %	93,41 (3,38)	95,94 (1,53)	<0,001
5	Температура тела, °C	37,1 (36,7; 37,3)	36,5 (36,5; 36,7)	<0,001

Патоморфологическое исследование проводилось выборочно в обеих группах. Были проанализированы проявления хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы, головного мозга, проявления сердечной недостаточности, проявления кровоизлияний во внутренние органы и тромбозы с признаками инфарктов. Результаты патоморфологических исследований у пациентов основной группы и группы контроля приведены в табл. 9.

Данные объективного осмотра и соматического статуса оценивались на момент поступления. До-

стоверные отличия установлены по сатурации кислорода и температуре тела – в основной группе SpO₂ составляла 93,41 (3,38) %, в группе контроля – 95,94 (1,53) % (p<0,001), при термометрии – соответственно 37,1 (36,7 37,3) и 36,5 (36,5 36,7) в группах (p<0,001) (табл. 10).

Клинически и патоморфологически оценивали проявления острого респираторного дистресса синдрома. Подобные признаки были установлены только у пациентов основной группы в 45,8 % случаев (n=11), в группе контроля не определялись (n=16).

Проведенное исследование показывает особенности течения церебрального инсульта в условиях сопутствующей новой коронавирусной инфекции. При сопоставлении данных о соотношении ишемических и геморрагических типов не выявлено убедительных отличий в сравнении с общим распространением этого типа заболевания. Не прослеживается значимого увеличения или преобладания каких-либо подтипов ишемического инсульта. Можно отметить отсутствие убедительных различий по гендерному признаку. В нашем исследовании установлено, что сроки госпитализации от момента начала заболевания более длительные. Пациенты при поступлении имеют значимо сниженную сатурацию, чем при отсутствии вирусного поражения легочной ткани. Не отмечено повышения цереброваскулярной патологии и сопутствующих соматических заболеваний. Соответственно, более отчетливые клинико-лабораторные признаки инфекционного (вирусного) поражения – лейкоцитарная реакция, неспецифические признаки инфекционного поражения. Признаки поражения и декомпенсации функции внутренних органов – печени, почек, поджелудочной железы – не установлены. Также не наблюдается декомпенсации лабораторных показателей липидного обмена.

Выводы

1. При возникновении острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов с внебольничной пневмонией, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), возрастных и гендерных особенностей не установлено.

2. Клинические особенности течения инсульта характеризуются преобладанием ишемических проявлений с неуточненным и кардиоэмболическим подтипами.

3. Отсутствуют достоверные данные, указывающие на более тяжелое течение инсульта на фоне новой коронавирусной инфекции (COVID-19) с внебольничной пневмонией по шкале NIHSS, шкале комы Глазго и шкалы Рэнкина.

4. Среди всех параметров, характеризующих клинико-лабораторные и клинико-метаболические изменения, более высокими являются воспалительно-инфекционные маркеры и гликемия натощак.

5. Преобладающие изменения легочной ткани отражают значительное вовлечение с двух сторон, однако убедительного влияния на течение инсульта не установлено.

6. При возникновении инсульта и внебольничной пневмонии отмечается значительное число благоприятных исходов с более длительным пребыванием в стационаре.

7. У пациентов с верифицированной внебольничной пневмонией, вызванной новой коронавирусной инфекцией, имеются признаки активности системного инфекционно-воспалительного процесса с вовлечением дыхательной системы, которые, вероятнее всего, определяют особенности течения инсульта.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. – М., 2001. – 328 с. [Gusev YeI, Skvortsova VI. *Ishemiya golovnogo mozga*. Moscow, 2001:328. (In Russ.)].
2. Дамулин И. В., Парфенов В. А., Скоромец А. А. и др. Нарушения кровообращения в головном и спинном мозге // *Болезни нервной системы. Рук. для врачей / под ред. Н. Н. Яхно*. – М.: Медицина, 2005. – Т. 1. – С. 232–303. [Damulin IV, Parfenov VA, Skoromets AA et al. *Narusheniya krovoobrashcheniya v golovnom i spinnom mozge*. In: *Bolezni nervnoy sistemy. Rukovodstvo dlya vrachey*. Pod red. N. N. Yakhno. Moscow, Meditsina, 2005;1:232–303. (In Russ.)].
3. Инсульт: диагностика, лечение и профилактика / под ред. З. А. Суслиной, М. А. Пирадова. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 288 с. [Insul't: diagnostika, lecheniye i profilaktika. Pod red. Suslinoy ZA, Piradova MA. Moscow, MEDpress-inform, 2008:288. (In Russ.)].
4. Фейгин В., Виберс Д., Браун Р. Инсульт: клин. рук. – М.: Бино; СПб.: Диалект, 2005. – 608 с. [Feygin V, Vibers D, Braun R. *Insul't: Klinicheskoye rukovodstvo*. Moscow, Binom; SPb., Dialekt, 2005:608. (In Russ.)].
5. Шевченко О. П., Праскурничий Е. А., Яхно Н. Н. и др. Артериальная гипертензия и церебральный инсульт. – М., 2001. – 192 с. [Shevchenko OP, Praskurnichiy YeA, Yakhno NN et al. *Arterial'naya gipertoniya i tserebral'nyy insul't*. Moscow, 2001:192. (In Russ.)].
6. Adams HP, del Zoppo G, Alberts MJ. Guidelines for the Early Management of Adults With Ischemic Stroke. *Stroke*. 2007;38:1655–1711.
7. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack. *Cerebrovasc Dis*. 2008;25:457–507.
8. Инсульт: рук. для врачей / под ред. Л. В. Стаховской. – М.: Мед. информ. агентство, 2013. – 400 с. [Insul't: Rukovodstvo dlya vrachey. Pod red. L. V. Stakhovskoy. Moscow, Meditsinskoye informatsionnoye agentstvo, 2013:400. (In Russ.)].
9. Трофимова Т. Н. Нейрорадиология. – СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2005. – 172 с. [Trofimova TN. *Neyroradiologiya*. SPb., Izdatel'skiy dom SPbMAPO, 2005:172. (In Russ.)].
10. Westendorp WF, Vermeij JD, Zock E, Hooijenga IJ, Kruyt ND, Bosboom HJ et al.; PASS investigators. The Preventive Antibiotics in Stroke Study (PASS): a pragmatic randomised open-label masked endpoint clinical trial. *Lancet*. 2015;385(9977):1519–1526. Doi: 10.1016/S0140-6736(14)62456-9.
11. Bustamante A, Garcia-Berrocso T, Rodriguez N, Llombart V, Ribó M, Molina C et al. Ischemic stroke outcome: A review of the influence of post-stroke complications within the different scenarios of stroke care. *Eur. J. Intern. Med*. 2016;29:9–21. Doi: 10.1016/j.ejim.2015.11.030.
12. Yan-Chao Li, Wan-Zhu Bai, Tsutomu Hashikawa. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J Med Virol*. 2020 Jun;92(6):552–555.
13. Varga Z. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395:1417–1418.
14. Yang X et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med*. 2020;8(5):475–481. Doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.

Информация об авторах

Андреев Владислав Викторович – канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и мануальной медицины факультета последипломного образования, ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия); невролог отделения неврологии № 1 (для больных с ОНМК), ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия); невролог, НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: nevro-fpo@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2578-5783, eLibrary SPIN: 6277-8960.

Подунов Александр Юрьевич – невролог отделения неврологии № 1 (для больных с ОНМК), ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия), e-mail: alex-9308@mail.ru.

Лапин Даниил Сергеевич – невролог отделения неврологии № 1 (для больных с ОНМК), ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия), e-mail: daniil_061990@mail.ru.

Гиляева Зарема Лачиновна – невролог отделения неврологии № 1 (для больных с ОНМК), ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия), e-mail: zarema-l@mail.ru.

Никифорова Екатерина Николаевна – невролог отделения неврологии № 1 (для больных с ОНМК), ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия), e-mail: kate_nikki@mail.ru.

Голиков Константин Вячеславович – невролог, зав. отделением неврологии № 1 (для больных с ОНМК), ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия), e-mail: dr_golikov@mail.ru.

Руденко Дмитрий Игоревич – д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии, ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия); зам. главного врача ГМПБ № 2 (Санкт-Петербург, Россия), e-mail: dmrud_h2@mail.ru.

Authors information

Andreev Vladislav V. – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of Department of Neurology and Manual Medicine, Faculty of

Postgraduate Education, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); neurologist of the Department of Neurology № 1 (for patients with cerebrovascular accident), City multi-specialty hospital № 2 (Saint Petersburg, Russia); Neurologist, N. N. Petrov Institute of Oncology (Saint Petersburg, Russia), e-mail: nevro-fpo@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2578-5783, eLibrary SPIN: 6277-8960.

Podunov Alexander Y. – neurologist of the Department of Neurology № 1 (for patients with cerebrovascular accidents) St. Petersburg GBUZ GMPB № 2, 194354, St. Petersburg, Uchebny per., 5; e-mail: alex-9308@mail.ru

Lapin Daniil S. - neurologist of the Department of Neurology No. 1 (for patients with cerebrovascular accidents), City multi-specialty hospital № 2 (Saint Petersburg, Russia), e-mail: daniil_061990@mail.ru.

Gilyaeva Zarema L. – neurologist of the Department of Neurology № 1 (for patients with cerebrovascular accidents), City multi-specialty hospital № 2 (Saint Petersburg, Russia), e-mail: zarema-l@mail.ru.

Nikiforova Ekaterina N. – neurologist of the Department of Neurology № 1 (for patients with cerebrovascular accidents), City multi-specialty hospital № 2 (Saint Petersburg, Russia), e-mail: kate_nikki@mail.ru.

Golikov Konstantin V. – neurologist, head of the department of neurology № 1 (for patients with cerebrovascular accidents), City multi-specialty hospital № 2 (Saint Petersburg, Russia), e-mail: dr_golikov@mail.ru.

Rudenko Dmitry I. – PhD, Professor of the Department of Neurology, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); deputy. chapters. Doctor, City multi-specialty hospital № 2 (Saint Petersburg, Russia), e-mail: dmrud_h2@mail.ru.

УДК 612.42, 612.085, 612.062

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-57-63

О. В. НЕЧАЙКИНА, С. Г. ПЕТУНОВ, Д. С. ЛАПТЕВ

Опиоидэргическая регуляция сократительной активности лимфатических сосудов

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства России, Ленинградская область, пос. Кузьмоловский, Россия
188663, Россия, Ленинградская область, пос. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. № 93
E-mail: olga2278@mail.ru

Статья поступила в редакцию 28.02.20; принята к печати 15.05.20

Резюме

Цель – изучить действие эндогенных опиоидных пептидов на сократительную активность лимфатических сосудов белой крысы. *Материалы и методы*. В изометрических условиях регистрировали динамику спонтанной сократительной активности изолированных кольцевых сегментов лимфатических сосудов крысы при действии эндогенных опиоидных пептидов (бета-эндорфина и эндоморфина-1), изучены возможные механизмы действия опиатов. *Результаты*. β -эндорфин в диапазоне концентраций 1×10^{-11} – 1×10^{-8} М способствовал уменьшению минутной производительности лимфатических сосудов, максимально на 22 %, преимущественно за счет снижения частоты одиночных сокращений. На фоне блокаторов потенциалзависимых и АТФ-чувствительных калиевых каналов и блокаторов eNOS угнетающий эффект не проявлялся. Эндоморфин-1 при применении в диапазоне концентраций 1×10^{-10} – 1×10^{-8} М стимулировал сократительную активность лимфатических сосудов в среднем на 15 %. Стимулирующий эффект не проявлялся при использовании эндоморфина-1 на фоне селективного антагониста NK1-рецепторов. *Выводы*. Ингибирующий эффект β -эндорфина связан с активацией потенциалзависимых и АТФ-чувствительных калиевых каналов, эндотелий-(NO)-зависимых механизмов. Стимулирующее моторику лимфангионов действие эндоморфина-1 может осуществляться посредством взаимодействия с NK-рецепторами.

Ключевые слова: лимфатические сосуды, опиоидные рецепторы, опиоидные пептиды

Для цитирования: Нечайкина О. В., Петунов С. Г., Лаптев Д. С. Опиоидэргическая регуляция сократительной активности лимфатических сосудов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):57–63. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-57-63.

UDC 612.42, 612.085, 612.062

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-57-63

O. V. NECHAYKINA, S. G. PETUNOV, D. S. LAPTEV

Opioidergic regulation of contractile activity of lymphatic vessels

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical and Biological Agency, Leningradskaya oblast', pos. Kuz'molovskij, Russia
188663, Rossiya, Leningradskaya oblast', pos. Kuz'molovskij, st. Kapitolovo, korp. № 93
E-mail: olga2278@mail.ru

Received 28.02.20; accepted 15.05.20

Summary

The aim is to study the effect of endogenous opioid peptides on the contractile activity of lymphatic vessels in the white rat. *Materials and methods*. Under isometric conditions, the dynamics of spontaneous contractile activity of isolated annular segments of rat lymphatic vessels under the action of endogenous opioid peptides (beta-endorphin and endomorphin-1) was record; possible mechanisms of opiates action were studied. *Results*. The range of β -endorphin level 1×10^{-11} – 1×10^{-8} M resulted in a decrease of the minute productivity of the lymphatic vessels, by 22 %, mainly due to a decreasing of single contractions frequency. In the presence of blockers of voltage-gated and ATP-sensitive potassium channels and blockers of eNOS, the inhibitory effect was not manifest. Endomorphin-1, used in the concentration range of 1×10^{-10} – 1×10^{-8} M, stimulated the contractile activity of the lymphatic vessels by an average of 15 %. The stimulatory effect was not manifest when using endomorphin-1 in the presence of a selective NK1 receptor antagonist. *Conclusions*. The inhibitory effect of β -endorphin is associated with the activation of voltage-dependent and ATP-sensitive potassium channels, endothelium-(NO)-dependent mechanisms. The action of endomorphin-1, stimulating lymphangionic motility, can be carry out through interaction with NK receptors.

Keywords: lymphatic vessels, opioid receptors, opioid peptides

For citation: Nechaykina O. V., Petunov S. G., Laptev D. S. Opioidergic regulation of contractile activity of lymphatic vessels. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):57–63. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-57-63.

Введение

Опиоидэргическая система, в состав которой входят эндогенные опиоидные пептиды и специфичные к ним опиоидные рецепторы, является модулятором многочисленных физиологических процессов в организме. Наиболее детально изучены механизмы ее влияния на организм как компонента антиноцицептивной системы [1], экспериментально подтверждено ее участие в регуляции функций органов желудочно-кишечного тракта, дыхательной, сердечно-сосудистой систем (ССС), иммунного ответа [2–7]. Эффекты опиоидэргической системы реализуются посредством взаимодействия опиоидных пептидов (ОП) со специфическими мембранно-связанными опиоидными рецепторами (ОР). В настоящее время идентифицированы мю- (μ), дельта- (δ) и каппа- (κ) ОР, принадлежащие к семейству G-белок-сопряженных рецепторов, расположенные на внешней поверхности мембран клеток и стереоспецифически связывающие L-наллоксон.

Согласно современным данным, специфические ОР широко распространены в организме. Наиболее выражена их экспрессия в различных отделах центральной и периферической нервной системы [8, 9]. Они определяются в периферических органах, таких как легкие, сердце, печень, селезенка, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), репродуктивная система [10–13]. При этом плотность ОР в органах ССС сопоставима с их экспрессией в ЦНС, что, вероятно, определяет их участие в формировании феномена ишемического preconditionирования [14, 15]. Установлено наличие μ -ОР в эндотелиальных клетках артерий человека, микрососудах человека и крысы [16, 17], а δ 2-ОР – в гладкомышечных клетках сосудов [18].

ОП в состоянии физического и эмоционального покоя определяются в плазме крови в относительно низких концентрациях. Так, содержание β -эндорфина составляет в среднем 10^{-9} – 10^{-10} М [19]. Повышение уровня ОП происходит при оперативных вмешательствах, при психоэмоциональном возбуждении, продолжительных физических нагрузках, а также при других стрессовых состояниях за счет увеличения секреции ОП клетками передней доли гипофиза, кардиомиоцитами, клетками иммунной системы (Т-лимфоцитами, макрофагами, тимоцитами, тучными клетками, локализованными, в том числе, в органах ЖКТ) [20–22]. Повышение содержания ОП в периферической крови способствует формированию эффектов нейро- и кардиопротекции, повышению устойчивости организма к действию стрессорных стимулов [20, 23–25]. Взаимодействие ОП с эндотелиоцитами и гладкомышечными клетками модулирует сосудистые реакции, вызванные действием вазоактивных веществ. Необходимо отметить, что абсорбция ОП из интерстиция осуществляется в лимфатические капилляры, стенка которых представлена фенестрированным слоем эндотелиоцитов. Их транспорт в системный кровоток осуществляется через лимфатические сосуды (ЛС) и узлы, способствующие активному центрипетальному перемещению лимфы. При этом в современной литературе практически нет сведений об экспрессии ОР в лимфатических сосудах и влиянии ОП на сократительную функцию ЛС.

Целью исследования является оценка сократительной активности брыжеечных ЛС белой крысы при воздействии эндогенных опиоидов – β -эндорфина и эндоморфина-1.

Материалы и методы исследования

Объект исследования – изолированные кольцевые сегменты переднего брыжеечного лимфатического протока белых крыс-самцов массой 250–300 г. Исследования на биообъектах выполняли с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

Эксперименты проводили на кольцевых сегментах ЛС крыс-самцов (общее число использованных животных составило 59 особей). После эвтаназии, проведенной методом цервикальной дислокации, животное помещали в препаровальную ванночку, конечности фиксировали для предотвращения сдвига при вскрытии брюшной полости. С использованием методики, описанной ранее, проводили извлечение части брыжейки с лимфатическими сосудами и вырезали кольцевые сегменты из области мышечной манжетки лимфангионов длиной 1,5–2 мм [26]. Кольцевые сегменты помещали в рабочую камеру миографа Multi Wire Myograph System DMT 610M с проточным термостатируемым ($37,0 \pm 0,2$ °C) раствором Кребса. После завершения нормализации и стабилизационного периода (30 мин) регистрировали исходный уровень спонтанной активности ЛС. Регистрируемые параметры: частота, амплитуда фазных сокращений и уровень тонического напряжения. Для адекватной оценки эффективности сократительной активности использовали показатель минутной производительности, рассчитываемый как площадь под кривой миограммы одиночных сокращений ЛС с использованием программного обеспечения «LabChart v. 7» [27]. Используемые препараты и реактивы: селективные агонисты ОР: DAMGO (агонист μ -ОР), DPDPE (агонист δ -ОР); эндогенные ОП: эндоморфин-1 (ЭМ-1), β -эндорфин. Все пептиды – производства *Sigma Aldrich* (США), использовали в диапазоне концентраций 1×10^{-11} – 1×10^{-8} М, который был определен на основании данных о содержании эндогенных ОП в организме людей и экспериментальных животных [19, 28, 29]. Экспозиция используемых препаратов в каждой концентрации составляла 10 мин.

При анализе результатов оценивали динамику параметров ЛС в относительных единицах по сравнению с фоновыми значениями. Статистическую обработку данных проводили с помощью методов описательной и аналитической статистики с использованием программы «GraphPad Prism 5.04». За критический уровень значимости принимали $p=0,05$. Для описания центральной тенденции использовалось значение среднего арифметического, в качестве меры рассеяния – величину стандартного отклонения. Нормальность распределения выборки оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова, существенность различия дисперсий – с помощью критерия Фишера. В случае нормального распределения и несущественных различий дисперсий отличия в

Таблица 1

Изменение параметров сократительной активности ЛС под действием агониста δ -ОР DPDPE.

Table 1

Changes in the parameters of the contractile activity of lymphatic vessels under the influence of the δ -OR agonist

DPDPE, M	Частота сокращений	Амплитуда сокращений	Производительность	Тонус
1×10^{-11} (n=8)	1,03±0,03	0,96±0,01**	1,02±0,04	0,97±0,02
1×10^{-10} (n=8)	0,98±0,04	0,96±0,02*	0,97±0,07	0,85±0,08
1×10^{-9} (n=8)	1,02±0,04	0,93±0,03*	0,93±0,07	1,08±0,06
1×10^{-8} (n=10)	1,03±0,03	0,93±0,02*	0,95±0,06	1,04±0,07

Примечание: здесь и далее данные представлены в относительных единицах в виде $M \pm SE$; * – статистически значимые различия по сравнению с фоновыми значениями ($p \leq 0,05$).

Таблица 2

Изменение параметров сократительной активности ЛС под действием агониста μ -ОР DAMGO (n=7)

Table 2

Changes in the parameters of the contractile activity of lymphatic vessels under the action of the μ -OR agonist DAMGO (n=7)

DAMGO, M	Частота сокращений	Амплитуда сокращений	Производительность	Тонус
1×10^{-11}	0,97±0,06	0,94±0,02*	0,91±0,05	0,95±0,03
1×10^{-10}	0,99±0,08	0,92±0,03*	0,93±0,05	0,92±0,06
1×10^{-9}	0,81±0,06*	0,87±0,03**	0,75±0,06**	0,97±0,08
1×10^{-8}	0,97±0,13	0,87±0,05*	0,78±0,08*	0,92±0,08*

*, ** – статистически значимые различия по сравнению с фоновыми значениями: $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ соответственно.

выборках оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. В случае отличия распределения от нормального и (или) наличия существенных различий дисперсий для оценки внутригрупповых различий использовали T-критерий Вилкоксона, для выявления межгрупповых различий применяли U-критерий Манна – Уитни для независимых выборок.

Результаты исследования и их обсуждение

Поскольку эндогенные ОП не обладают выраженной селективностью в отношении специфических рецепторов, различие в локализации клеток-мишеней могут обуславливать различие в эффектах лигандов ОР на объекты ССС. Этот факт послужил обоснованием задачи по выявлению эффектов селективных агонистов ОР на сократимость ЛС.

Характеристика фоновых показателей сократительной активности интактных изолированных сегментов ЛС (n=20): частота сокращений – $6,02 \pm 0,78$ мин⁻¹, амплитуда сокращений – $0,78 \pm 0,09$ мН, производительность – $74,19 \pm 15,39$ мН·мм, тонус – $0,59 \pm 0,10$ мН. Как следует из приведенных данных, параметры фазной активности ЛС характеризовались существенной вариабельностью. В связи с этим при оценке влияния изучаемых веществ использовали относительные единицы, характеризующие динамику регистрируемых показателей.

Эксперименты, проведенные с использованием селективных агонистов ОР, выявили определенное различие по вызываемым эффектам. Применение

селективного агониста δ -ОР DPDPE приводило к незначительному снижению производительности ЛС, преимущественно за счет снижения амплитуды одиночных сокращений, максимально на 7 % от исходного уровня ($p \leq 0,05$). Полученные данные приведены в табл. 1.

Применение селективного агониста μ -ОР DAMGO также вызывало угнетение сократительной активности ЛС крысы, характеризующееся снижением всех регистрируемых и расчетных показателей. Максимальное снижение частоты сокращений ЛС при действии DAMGO составило 19 % ($p \leq 0,05$). Амплитуда сокращений и минутная производительность ЛС также снижались максимально на 13 и 25 % соответственно ($p < 0,01$). При этом выявлено уменьшение тонического напряжения ЛС, максимально на 8 % ($p > 0,05$). Полученные данные приведены в табл. 2.

Во второй части эксперимента проводилась оценка влияния эндогенных ОП – β -эндорфина и ЭМ-1 – на моторику ЛС. Применение β -эндорфина приводило к более выраженному снижению параметров сократительной активности ЛС, чем при использовании селективных агонистов μ - и δ -ОР. Уменьшение минутной производительности максимально достигало 22 % от исходной величины ($p < 0,05$) за счет сопоставимого уменьшения частоты фазной активности [26] (табл. 3).

Применение ЭМ-1, позиционируемого как агонист μ -ОР, приводило к стимуляции сократительной активности ЛС: выявлен рост минутной производительности в среднем на 15 % при применении кон-

Таблица 3

Изменение параметров сократительной активности изолированных ЛС под действием β -эндорфина (n=8)

Table 3

Changes in the parameters of contractile activity of isolated lymphatic vessels the influence of β -endorphin (n=8)

β -эндорфин, М	Частота сокращений	Амплитуда сокращений	Производительность	Тонус
1×10^{-11}	$0,86 \pm 0,07$	$1,05 \pm 0,05$	$0,81 \pm 0,03^*$	$1,05 \pm 0,08$
1×10^{-10}	$0,83 \pm 0,08$	$0,99 \pm 0,09$	$0,80 \pm 0,03^*$	$1,03 \pm 0,09$
1×10^{-9}	$0,80 \pm 0,10^*$	$1,06 \pm 0,08$	$0,78 \pm 0,06^*$	$0,99 \pm 0,10$
1×10^{-8}	$0,76 \pm 0,13^*$	$1,04 \pm 0,09$	$0,78 \pm 0,07^*$	$1,02 \pm 0,03$

* – статистически значимые различия по сравнению с фоновыми значениями: $p \leq 0,05$.

Таблица 4

Изменение параметров сократительной активности изолированных ЛС при действии ЭМ-1 (n=12)

Table 4

Changes in the parameters of contractile activity of isolated lymphatic vessels under the action of Endomorphin-1 (n=12)

ЭМ-1, М	Частота сокращений	Амплитуда сокращений	Производительность	Тонус
1×10^{-11}	$0,95 \pm 0,05$	$1,01 \pm 0,01$	$1,01 \pm 0,05$	$0,98 \pm 0,02$
1×10^{-10}	$1,09 \pm 0,08$	$1,04 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,02$
1×10^{-9}	$1,04 \pm 0,09$	$1,04 \pm 0,04$	$1,17 \pm 0,1$	$0,96 \pm 0,03$
1×10^{-8}	$1,08 \pm 0,1$	$1,05 \pm 0,07$	$1,13 \pm 0,07^*$	$0,98 \pm 0,03$

* – статистически значимые различия по сравнению с фоновыми значениями: $p \leq 0,05$.

Таблица 5

Параметры сократительной активности ЛС при действии ЭМ-1 и антагониста NK1 рецепторов CP-96345

Table 5

Parameters of the contractile activity of lymphatic vessels under the action of Endomorphin-1 and the NK1 receptor antagonist CP-96345

Параметр	Частота сокращений	Амплитуда сокращений	Производительность	Тонус
ЭМ-1, 1×10^{-8} М (n=12)	$1,08 \pm 0,1$	$1,05 \pm 0,07$	$1,13 \pm 0,07^*$	$0,98 \pm 0,03$
CP-96345, 1×10^{-6} М (n=11)	$1,07 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,05$	$1,00 \pm 0,04$
CP-96345 (1×10^{-6} М) + ЭМ-1 (1×10^{-8} М) (n=11)	$1,02 \pm 0,05$	$0,98 \pm 0,04$	$1,01 \pm 0,06$	$0,99 \pm 0,06$

центраций 1×10^{-10} – 1×10^{-8} М, при этом различия при воздействии ЭМ-1 в концентрации 1×10^{-8} М были статистически значимыми. Уровень тонического напряжения практически не изменялся (табл. 4).

Поскольку полученные результаты существенно отличались от ожидаемого эффекта, предположили участие других неопиоидных рецепторов в механизме действия ЭМ-1, за счет сходства структур эндоморфинов с тахикининовыми пептидомиметиками [30]. Имеющиеся сведения о наличии NK-рецепторов в гладкомышечных клетках ЛС и данные о стимулирующем действии их агониста, субстанции P, послужили основанием для проведения экспериментов с использованием селективного антагониста NK1-рецепторов CP-96345 [31]. Полученные данные приведены в табл. 5.

Полученные результаты показывают, что на фоне антагониста NK1-рецепторов стимулирующее действие ЭМ-1 на ЛС не проявлялось.

Литературные данные об эффектах, вызываемых ОП в сосудистых гладкомышечных объектах, часто противоречивы, что может быть обусловлено различным дизайном эксперимента и морфофункциональными особенностями объектов исследования [32–34]. Полученные нами результаты показали существенное различие в механизмах действия эндогенных ОП на ЛС.

Известно, что активация ОР вызывает увеличение калиевой проницаемости, приводит к гиперполяризации мембраны, снижению возбудимости клетки и, как следствие, угнетению ее активности [35]. Эксперименты, проведенные ранее с использованием блокаторов K^+ -каналов 4-аминопиридина и глибенкламида,

показали, что эффект β -эндорфина реализуется посредством активации потенциалзависимых и АТФ-чувствительных калиевых каналов [26].

ОР экспрессируются в сосудистом эндотелии [16], и эффекты ОП реализуются при участии NO-зависимых механизмов [17]. При применении блокатора NO-синтазы тормозное влияние β -эндорфина не проявлялось, что указывает на участие эндотелиального NO-зависимого сигнального пути в механизме действия β -эндорфина на ЛС [26].

Ингибирующее влияние β -эндорфина не проявлялось в присутствии блокатора δ -ОР налтриндола. Это свидетельствует в пользу того, что δ -ОР гладкомышечных клеток ЛС опосредуют снижение сократительной функции лимфангионов, вызванное применением β -эндорфина. Подобный эффект наблюдается и в присутствии блокатора μ -ОР СТОР [27]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что β -эндорфин является неселективным агонистом ОР ЛС. Более выраженный ингибирующий эффект, выявленный при применении β -эндорфина в сравнении с эффектами селективных μ - и δ -агонистов, вероятно, связан с активацией сигнальных путей с обоих типов ОР.

Результаты, полученные при исследовании влияния ЭМ-1 на ЛС, были достаточно неожиданными, с учетом определенной общности механизмов, лежащих в основе действия ОП, и более высокой селективности эндоморфинов к μ -ОР в сравнении с эндорфинами и энкефалинами. Однако в этом ряду эндоморфины имеют самую низкую эффективность, оцененную путем измерения способности эндогенных лигандов активировать G-белок через μ -ОР [36].

Эксперименты, проведенные ранее, показали, что на фоне как селективного антагониста μ -ОР СТОР, так и неселективного антагониста налоксона эффект ЭМ-1 сохранялся, хотя и был менее выражен [37]. Данный факт указывает на возможное участие других рецепторных структур, активируемых ЭМ-1. Согласно имеющимся данным, ЭМ-1 проявляет аффинность по отношению к тахикининовым NK1 рецепторам, а NK1-рецепторы экспрессируются в гладкомышечных клетках ЛС и являются компонентами сигнального пути агониста НК-рецепторов – субстанции P [31]. Этот «компонент тахикинина» может играть значительную модуляторную роль в действии ЭМ-1. Установленное в эксперименте отсутствие стимулирующего влияния ЭМ-1 в присутствии блокатора NK1-рецепторов СР-96345 подтверждает предположение, что действие ЭМ-1 на ЛС опосредовано NK1-рецепторами.

Реализация стимулирующего моторику ЛС эффекта ЭМ-1 может быть обусловлена увеличением содержания внутриклеточного кальция вследствие активации Ca^{2+} -каналов внутриклеточных депо [38]. Это подтверждается экспериментами с использованием рутениума красного (ингибитор высвобождения Ca^{2+} из СПР), в которых не выявлено стимулирующего моторику ЛС действия ЭМ-1 [37].

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что действие эндогенных ОП на ЛС характеризуются широкой вариативностью.

β -эндорфин является неселективным агонистом μ - и δ -ОР, его ингибирующий моторику ЛС эффект связан с активацией как потенциалзависимых, так и, в большей степени, АТФ-чувствительных K^{+} -каналов. Существенное значение в реализации эффекта β -эндорфина на ЛС имеют эндотелий-(NO)-зависимые механизмы.

Действие ЭМ-1 на гладкомышечные клетки брыжеечных ЛС крысы имеет сложный механизм, обусловленный, в том числе, его взаимодействием с неопиоидными рецепторами. Стимулирующее моторику лимфангионов действие эндоморфина-1 может осуществляться посредством взаимодействия с НК-рецепторами и быть обусловлено стимуляцией выхода Ca^{2+} из внутриклеточных депо.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Ananthan S. Opioid ligands with mixed μ/δ opioid receptor interactions: an emerging approach to novel analgesics. *AAPS J.* 2006;8(1):118–125. Doi: 10.1208/aapsj080114.
2. Курзанов А. Н. Лиганды опиоидных рецепторов в ракурсе клинической гастроэнтерологии // *Соврем. проблемы науки и образования.* – 2011. – Т. 6. – С. 34–45. [Kurzanov AN. Ligands of opioid receptors in the framework of clinical gastroenterology. *Modern problems of science and education.* 2011;6:34–45. (In Russ.)].
3. Pattinson KT. Opioids and the control of respiration. *Br J Anaesth.* 2008;100:747–758. Doi: 10.1093/bja/aen094.
4. Morin-Surun MP, Boudinot E, Dubois C et al. Respiratory function in adult mice lacking the μ opioid receptor: role of delta-receptors. *Eur Neurobiol.* 2001;13(9):1703–1710.
5. Saraiva J, Oliveira SM, Rocha-Sousa A, Leite-Moreira A. Opioid Receptors and Preconditioning of the Heart. *Rev Port Cardiol.* 2004;23(10):1317–1333.
6. Pepe S, van den Brink OW, Lakatta EG, Xiao RP. Cross-talk of opioid peptide receptor and beta-adrenergic receptor signalling in the heart. *Cardiovasc Res.* 2004;63(3):414–422. Doi: 10.1016/j.cardiores.2004.04.022.
7. Sheng WS, Hu S, Gekker G, Zhu S, Peterson PK, Chao CC. Immunomodulatory role of opioids in the central nervous system. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 1997;45(5–6):359–366.
8. Mansour A, Fox CA, Akil H, Watson SJ. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci.* 1995;18(1):22–29. Doi: 10.1016/0166-2236(95)93946-u.
9. Beadles-Bohling AS, Wiren KM. Alteration of kappa-opioid receptor system expression in distinct brain regions of a genetic model of enhanced ethanol withdrawal severity. *Brain Res.* 2005;1046(1–2):77–89. Doi: 10.1016/j.brainres.2005.03.043.
10. Headrick JP, See Hoe LE, Du Toit EF, Peart JN. Opioid receptors and cardioprotection - 'opioidergic conditioning' of the heart. *Br J Pharmacol.* 2015;172(8):2026–2050. Doi: 10.1111/bph.13042.
11. Barron BA. Opioid peptides and the heart. *Cardiovasc Res.* 1999;43:13–16. Doi: 10.1016/s0008-6363(99)00112-1.
12. Wood JD, Galligan JJ. Function of opioids in the enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil.* 2004;16(S2):17–28. Doi: 10.1111/j.1743-3150.2004.00554.x.

13. Cechova K, Hlouskova M, Javorkova E et al. Up-regulation of μ -, δ - and κ -opioid receptors in concanavalin A-stimulated rat spleen lymphocytes. *J Neuroimmunol*. 2018;321:12–23. Doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.05.008.
14. Ласукова Т. В., Маслов Л. Н., Горбунов А. С. О роли опиоидной системы миокарда в реализации кардиопротекторного эффекта посткондиционирования // *Рос. физиол. журн. им. Сеченова*. – 2014. – Т. 100, № 12. – С. 1391–1398. [Lasukova TV, Maslov LN, Gorbunov AS. On the role of opioid system of myocardium in the implementation of the cardioprotective effect of postconditioning. *Russian Journal of Physiology*. 2014;100(12):1391–1398. (In Russ.)].
15. Маслов Л. Н., Лишманов Ю. Б., Гросс Г. Д. и др. Активация опиатных рецепторов изменяет устойчивость сердца к ишемическим и реперфузионным повреждениям // *Вестн. аритмологии*. – 2002. – Т. 28. – С. 67–78. [Maslov LN, Lishmanov YuB, Gross GD, Shul'ts DED, Stefano GB. Aktivatsiya opiatnykh retseptorov izmenyaet ustoichivost' serdtsa k ishemicheskim i reperfuzionnym povrezhdeniyam. *Vestnik aritmologii*. 2002;28:67–78. (In Russ.)].
16. Stefano GB, Hartman A, Bilfinger TV et al. Presence of the μ_3 opiate receptor in endothelial cells. Coupling to nitric oxide production and vasodilation. *J. Biol. Chem*. 1995; 270(51):30290–30293. Doi: 10.1074/jbc.270.51.30290.
17. Wilbert-Lampen U, Trapp A, Barth S et al. Effects of beta-endorphin on endothelial/monocytic endothelin-1 and nitric oxide release mediated by μ_1 -opioid receptors: a potential link between stress and endothelial dysfunction? *Endothelium*. 2007;14(2):65–71. Doi: 10.1080/10623320701346585.
18. Saeed RW, Stefano GB, Murga JD, Short TW, Qi F, Bilfinger TV, Magazine HI. Expression of functional delta opioid receptors in vascular smooth muscle. *International Journal of Molecular Medicine*. 2000;6(6):673–677. Doi: 10.3892/ijmm.6.6.673.
19. Брук Т. М., Лишке М. В. Динамика β -эндорфина в крови спортсменов различной квалификации в условиях нагрузки умеренной интенсивности на фоне низкоинтенсивного лазерного воздействия // *Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье»*. – 2009. – Т. 2. – С. 5–10. [Brook TM, Lifke MV. Dynamics of beta-endorphin in the blood of athletes of various qualifications in the conditions of mild load exposed by low intensive laser. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2009;2:5–10. (In Russ.)].
20. Ozarda IY, Ozyurt G, Kilicturgay S, Uncu G, Ulus IH. The decline in serum choline concentration in humans during and after surgery is associated with the elevation of cortisol, adrenocorticotrophic hormone, prolactin and beta-endorphin concentrations. *Neurosci Lett*. 2002 May 10;324(1):41–44. Doi: 10.1016/s0304-3940(02)00171-4.
21. Гейн С. В., Баева Т. А. Эндогенные опиоидные пептиды в регуляции функций клеток врожденного иммунитета // *Обзор. Биохимия*. – 2011. – Т. 76, № 3. – С. 379–390. [Gein SV, Baeva TA. Endogenous opioid peptides in regulation of innate immunity cell functions. *Biochemistry*. 2011;76(4):309–319. (In Russ.)]. Doi: 10.1134/s0006297911030035.
22. Kido K, Shindo Y, Toda S, Masaki E. Expression of β -endorphin in peripheral tissues after systemic administration of lipopolysaccharide as a model of endotoxic shock in mice. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2019;80(2):117–121. Doi: 10.1016/j.ando.2018.06.001.
23. Skarphedinnsson JO, Thoren P. Endorphin mechanisms are responsible for the beneficial effects of opioid antagonists on cerebral function during relative cerebral ischaemia in rats. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1988;132(3):281–288. Doi: 10.1111/j.1748-1716.1988.tb08331.x.
24. Маслов Л. Н., Лишманов Ю. Б., Гросс Г. Д., Стефано Д. Феномен повышения устойчивости сердца к аритмогенному действию ишемии и реперфузии при активации периферических опиатных рецепторов // *Вестн. аритмологии*. – 2002. – Т. 26. – С. 77–90. [Maslov LN, Lishmanov YuB, Gross GD, Stefano D. Fenomen povysheniya ustoichivosti serdtsa k aritmogennomu deistviyu ishemii i reperfuzii pri aktivatsii perifericheskikh opiatnykh retseptorov. *Vestnik aritmologii*. 2002;26:77–90. (In Russ.)].
25. Kho HG, Kloppenborg PW, van Egmond J. Effects of acupuncture and transcutaneous stimulation analgesia on plasma hormone levels during and after major abdominal surgery. *Eur J Anaesthesiol*. 1993;10(3):197–208.
26. Нечайкина О. В., Петунов С. Г., Радилев А. С. Влияние β -эндорфина на сократительную активность изолированных лимфатических сосудов крысы // *Регионар. кровообращение и микроциркуляция*. – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 64–70. [Nechaykina OV, Petunov SG, Radilov AS. Effect of β -endorphin on contractile activity of isolated rat lymph vessels. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2013;12(3):64–70. (In Russ.)].
27. Нечайкина О. В., Лантев Д. С., Петунов С. Г., Радилев А. С. Влияние β -эндорфина на функциональные параметры изолированного сердца и лимфатических сосудов белой крысы // *Вестн. Северо-Запад. гос. мед. унта им. И. И. Мечникова*. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 43–48. [Nechaykina OV, Laptev DS, Petunov SG, Radilov AS. The effect of β -endorphin on the functional parameters of the isolated heart and lymphatic vessels of the white rat. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I. I. Mechnikova*. 2019;11(2):43–48. (In Russ.)]. Doi: 10.17816/mechnikov.201911243-48.
28. Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. A potent and selective endogenous agonist for the m -opiate receptor. *Nature (Lond)*. 1997;386:499–502. Doi: 10.1038/386499a0.
29. Hackler L, Zadina JE, Ge LJ, Kastin AJ. Isolation of Relatively Large Amounts of Endomorphin-1 and Endomorphin-2 From Human Brain Cortex. *Peptides*. 1997;18(10):1635–1639. Doi: 10.1016/s0196-9781(97)00259-3.
30. Kosson P, Bonney I, Carr DB, Lipkowski AW. Endomorphins interact with tachykinin receptors. *Peptides*. 2005; 26:1667–1669. Doi: 10.1016/j.peptides.2005.02.006.
31. Chakraborty S, Nepiyushchikh Z, Davis MJ, Zawieja DC, Muthuchamy M. Substance P activates both contractile and inflammatory pathways in lymphatics through the neurokinin receptors NK1R and NK3R. *Microcirculation*. 2011;8(1): 24–35. Doi: 10.1111/j.1549-8719.2010.00064.x.
32. Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ, Kadowitz PJ. The endogenous μ -opioid agonists, endomorphin 1 and 2, have vasodilator activity in the hindquarters vascular bed of the rat. *Life Sci*. 1997;61(26):409–415.
33. Champion HC, Kadowitz PJ. D-[Ala²]endomorphin 2 and endomorphin 2 have nitric oxide-dependent vasodilator activity in rats. *Am J Physiol*. 1998;274(5):1690–H1697. Doi: 10.1152/ajpheart.1998.274.5.H1690.
34. Parra L, Pérez-Vizcaino F, Alsasua A, Martín MI, Tamargo J. μ - and δ -opioid receptor-mediated contractile effects on rat aortic vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol*. 1995;277(1):99–105. Doi: 10.1016/0014-2999(95)00067-u.
35. Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM, Downey JM. Mitochondrial K (ATP) channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc. Res*. 2002;55(3):429–437. Doi: 10.1016/s0008-6363(02)00439-x.
36. Alt A, Mansour A, Akil H, Medzihradsky F, Traynor J, Woods J. Stimulation of guanosine-5'-O-(3-[35S] thio) triphosphate binding by endogenous opioids acting at a cloned m receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;286:282–288.

37. Нечайкина О. В., Петунов С. Г. Влияние эндоморфина-1 на сократительную активность брыжеечных лимфатических сосудов крысы // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2019. – Т. 168, № 7. – С. 63–67. [Nechaykina OV, Petunov SG. Effect of endomorphine-1 on the contractile activity of rat mesenteric lymphatic vessels. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;168(7):63–67. (In Russ.)]. Doi:10.1007/s10517-019-04645-3.

38. Horvath G. Endomorphin-1 and endomorphin-2: pharmacology of the selective endogenous mu-opioid receptor agonists. *Pharmacol Ther*. 2000;88:437–463. Doi: 10.1016/s0163-7258(00)00100-5.

Информация об авторах

Нечайкина Ольга Валерьевна – старший научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, Ленинградская обл., пос. Кузьмоловский, e-mail: olga2278@mail.ru.

Петунов Сергей Гервасиевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий научно-организационным отделом ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, , Ленинградская обл., пос. Кузьмоловский, e-mail: sergey-petunov@mail.ru.

Лаптев Денис Сергеевич – канд. биол. наук, зав. лабораторией экстремальной физиологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, , Ленинградская обл., пос. Кузьмоловский, e-mail: lapden@mail.ru.

Information about authors

Nechaykina Olga V. – Senior Researcher of the Laboratory of Molecular Toxicology and Experimental Therapy Research of the Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal medical and biological Agency, Leningradskaya oblast', pos. Kuz'molovskij, e-mail: olga2278@mail.ru.

Petunov Sergei G. – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Scientific and Organizational Department of the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal medical and biological Agency, Leningradskaya oblast', pos. Kuz'molovskij, e-mail: sergey-petunov@mail.ru.

Laptev Denis S. – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Extreme Physiology of the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal medical and biological Agency, Leningradskaya oblast', pos. Kuz'molovskij, e-mail: lapden@mail.ru.

УДК [616.16:616.24-005.98]-08:577.112
DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72

Д. В. СУЛТАНОВ¹, В. К. ХУГАЕВА¹, А. В. АРДАСЕНОВ¹,
А. А. КОВАЛЕНКО^{1, 2}, А. М. ЗАСЕЕВА¹

Стимуляция лимфотока в микрососудах легких пептидом при остром отеке легких

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

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

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия

119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

E-mail: vhugaeva@mail.ru

Статья поступила в редакцию 22.03.20; принята к печати 17.07.20

Резюме

Введение. Актуальность проблемы высокой летальности при остром отеке легких (ООЛ) связана с недостаточной эффективностью способов лечения при экстремальной быстро протекающей патологии легких. **Цель** – комплексное изучение роли стимуляции лимфотока с помощью лимфостимулирующего пептида в патогенезе ООЛ в условиях биомикроскопии легких. **Материалы и методы.** Биомикроскопия легких с помощью вживленной камеры и брыжейки тонкой кишки крысы, лазерная доплеровская флоуметрия легких, морфологическое и гистологическое изучение легких. Регистрация сократительной активности стенки, клапанов лимфатических микрососудов (ЛМ) брыжейки методом фотометрии и скорости лимфотока; определение диаметра микрососудов, сухой остаток и легочный коэффициент в легких; фото- и видеорегистрация легких. **Результаты.** Лимфостимулятор прямого действия пептидной природы вызывал активацию лимфотока в ЛМ брыжейки и ткани легких при ООЛ с последующим восстановлением микрогемодикуляции в легких. Снижение и устранение отека интерстициального пространства в легких было связано с восстановлением диаметра лимфатических и венозных микрососудов. Профилактическое использование пептида сопровождалось увеличением выживаемости животных в 3 раза. Использование пептида после развития ООЛ не влияло на выживаемость, однако увеличивало продолжительность жизни быстро погибающих животных в течение первых 10 мин до суток с 16 до 46 %. **Заключение.** Активация моторики ЛМ и лимфотока при ООЛ с помощью лимфостимулятора пептидной природы – агониста дельта опиатных рецепторов – способствует устранению отека в результате выведения избытка интерстициальной жидкости через лимфатические сосуды легких в магистральные венозные коллекторы и далее в правое предсердие, чем снижает нагрузку на левую половину сердца при кардиогенном ООЛ. Восстановление микролимфо- и микрогемодикуляции в легких способствовало восстановлению структуры легочной ткани и увеличению в 3 раза выживаемости и продолжительности жизни животных. Активация лимфатической системы является эффективным, пока не используемым резервом организма, играющим важную роль в патогенезе ООЛ.

Ключевые слова: острый отек легких, биомикроскопия, микроциркуляция, активация лимфатических микрососудов, опиоидный пептид, морфология, выживаемость, крысы

Для цитирования: Султанов Д. В., Хугаева В. К., Ардасенов А. В., Коваленко А. А., Засеева А. М. Стимуляция лимфотока в микрососудах легких пептидом при остром отеке легких. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):64–72. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72.

UDC [616.16:616.24-005.98]-08:577.112
DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72

D. V. SULTANOV¹, V. K. KHUGAEVA¹, A. V. ARDASENOV¹,
A. A. KOVALENKO^{1, 2}, A. M. ZASEEVA¹

Lymphflow stimulation in microvessels of lung peptides in acute lung edema

¹ Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia
8, Baltic str., Moscow, Russia, 125315

² First Moscow State Medical University named after I. M. Sechenov (Sechenov University), Moscow, Russia

8, 2, Trubetskaya str., Moscow, Russia, 119991

E-mail: vhugaeva@mail.ru

Received 22.03.20; accepted 17.07.20

Summary

Introduction. The relevance of the problem of high mortality in acute lung edema (ALE) is associated with the insufficient effectiveness of treatment methods for extreme rapidly occurring lung pathology. **The goal** is a comprehensive study of the role

of lymph flow stimulation using a lymph-stimulating peptide in the pathogenesis of ALE under conditions of lung biomicroscopy. *Materials and methods.* Biomicroscopy of the lungs using an implanted chamber and mesentery of the rat small intestine, laser Doppler lung flowmetry, morphological and histological examination of the lungs. Registration of contractile activity of the wall, valves of the lymphatic microvessels of the mesentery by photometry and the rate of lymph flow; determination of the diameter of microvessels, solids and pulmonary coefficient in the lungs. photo and video registration of the lungs. *Results.* The direct peptidic lymphostimulant caused activation of lymphatic flow in the lymphatic microvessels of the mesentery and lungs in patients with ALE, followed by restoration of microcirculation in the lungs. The reduction and elimination of edema of the interstitial space in the lungs was associated with the restoration of the diameter of the lymphatic and venous microvessels. Prophylactic use of the peptide was accompanied by an increase in animal survival by 3 times. The use of the peptide after the ALE did not affect survival, however, it increased the life expectancy of rapidly dying animals during the first 10 min up to a day from 16 to 46 %. *Conclusions.* Activation of motility of the lymphatic microvessels and lymph flow in ALE with the help of a peptidic lymphostimulator, an agonist of the delta opiate receptors, helps to eliminate edema as a result of removing excess interstitial fluid through the lymphatic vessels of the lungs to the main venous collectors and then to the right atrium, than reduces the load on the left half of the heart with cardiogenic ALE. The restoration of microlymph- and microhemocirculation in the lungs contributed to the restoration of the structure of the lung tissue and a 3-fold increase in the survival and longevity of animals. Activation of the lymphatic system is an effective, but unused reserve of the body playing an important role in the pathogenesis of ALE.

Key words: acute lung edema, biomicroscopy, microcirculation, activation of lymphatic microvessels, opioid peptide, morphology, survival, rats

For citation: Sultanov D. V., Khugaeva V. K., Ardasenov A. V., Kovalenko A. A., Zaseeva A. M. Stimulation of lymphatic flow in microvessels of the lungs with peptide in acute lung edema. Regional blood circulation and microcirculation. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):64–72. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72.

Введение

Актуальность проблемы терапии и профилактики острого отека легких (ООЛ) объясняется высокой скоростью развития патологии и высокой летальностью больных, достигающей 64–70 % [1]. Внедрение современных методов лечения позволило снизить летальность до 22–44 % [2, 3]. Однако присоединение сепсиса увеличивает летальность до 50 % [4]. Приведенные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего поиска новых высокоэффективных способов профилактики и лечения ООЛ.

Существующие современные методы лечения ООЛ направлены на оптимизацию дыхательной функции легких, работу сердца, кровеносных сосудов, восстановление реологических свойств крови, функции почек и др. [5, 6]. Вне поля зрения оставалась лимфатическая система, играющая ключевую роль в регуляции водно-электролитного обмена организма, в частности, в легких [6, 7]. Причинами подобного состояния были: 1) длительно существовавшее представление о пассивной роли лимфатической системы; 2) методические трудности прижизненного исследования непрерывно двигающихся легких; 3) опасность возникновения пневмоторакса при вскрытии грудной клетки; 4) отсутствие эффективных лимфостимуляторов прямого действия. В качестве косвенных стимуляторов лимфотока использовали препараты, улучшающие гемодинамику, микрогемодинамику, дыхательную функцию легких, функцию почек, различные растворы (физиологический, Рингера – Локка, гемодез, раствор глюкозы и др.). Применение растворов при ООЛ могло ухудшить состояние вследствие прогрессирования отека. Использование морфина в качестве пеногасителя при ООЛ вызывало нарушение центральной регуляции дыхательной деятельности.

Переломным моментом в исследовании лимфатической системы стало открытие в 1975 г. опиоидных пептидов – лейэнкефалина (ЛЭ) и метэнкефалина – в ткани мозга у млекопитающих [8]. Поскольку эти пептиды обладали коротким обезболивающим

эффектом, большинство исследований, проводимых на протяжении первых 10 лет после открытия энкефалинов, было связано с изучением их влияния на центральную и периферическую нервную систему. Первые отечественные опиоидные пептиды были синтезированы в 1978 г. в Лаборатории синтеза пептидов (руководитель лаборатории – профессор, д-р хим. наук М. И. Титов) Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР в Москве. Руководитель ВКНЦ академик АМН и АН СССР Е. И. Чазов предложил использовать энкефалины в кардиологии, в частности, при купировании приступов стенокардии, вместо используемого в таких случаях токсичного нитроглицерина. В результате исследования синтезированных в кардиоцентре пептидов удалось обнаружить целый ряд положительных эффектов у энкефалинов. Кроме обезболивающего эффекта, обнаружили влияние на регенерацию нервов и кровеносных сосудов [9, 10], влияние на активность различных ферментов и гормонов [11, 12]. Первый отечественный пептидный препарат Даларгин (аналог ЛЭ) оказался эффективным при панкреатите и язвенной болезни желудка [13, 14]. Нами было обнаружено лимфостимулирующее действие ЛЭ [15]. Оно заключалось в увеличении сократительной активности стенки, клапанов, скорости лимфотока и лимфообразования в ответ на аппликацию на поверхность лимфатических микрососудов (ЛМ) брыжейки тонкой кишки крысы ЛЭ в дозе от 0,04 мкг/кг в 0,1 мл 0,9 %-го раствора NaCl (пороговая доза) до 40,0 мкг/кг (максимальная доза). Более высокие дозы не влияли на моторику ЛМ или вызывали торможение сокращения. Дальнейшее изучение влияния агонистов и антагонистов опиатных рецепторов позволило установить наличие опиоидергической регуляции у ЛМ [16]. Лимфостимулирующим действием обладали тирозинсодержащие аналоги ЛЭ, агонисты дельта-опиатных рецепторов. Дальнейшие экспериментальные исследования различных аналогов ЛЭ и Даларгина, обладающих лимфостимулирующим

Изменение диаметра широких капилляров легкого крыс в контроле, при введении адреналина и лимфостимулирующего пептида в условиях биомикроскопии

Table 1

The change in the diameter of the wide capillaries of the lung of rats in the control, at the introduction of adrenaline and lymphatic stimulation peptides in terms biomicroscopy

№ п/п	Воздействие	N	Диаметр широких капилляров, мкм		
			исходное состояние	внутрибрюшинное введение веществ	
				1–10 мин	11–60 мин
1	Интактное животное	5	35,8±0,7	35,8±1,1	35,8±0,9
2	0,9 %-й NaCl	5	35,6±1,3	36,2±1,1	35,9±0,9
3	Пептид № 171	5	35,8±1,1	36,4±1,0	36,2±1,3
4	Адреналин	10	36,0±0,8	65,1±2,0°	62,2±1,8°
5	Пептид № 171 + адреналин	10	35,8±1,1	47,8±2,1*°	46,3±1,4*°
6	Адреналин + пептид 171	10	35,8±0,7	55,3±1,2*°	53,8±1,7*°

Пр и м е ч а н и е: n – число животных; ° – значимые отличия от контрольных групп № 1, 2, 3 и исходного состояния (P<0,05); * – значимое отличие от группы № 4 (адреналин, ООЛ) (P<0,05).

действием, показали их эффективность при различных видах патологии, сопровождающейся ишемией и воспалением [17–19].

В связи с изложенным целью исследования явилось экспериментальное изучение влияния лимфостимулятора пептидной природы на динамику ООЛ с использованием прижизненных прямых и косвенных методов биомикроскопии, а также морфологических и гистологических методов исследования легких.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на 219 беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 г в соответствии с правилами работы с животными, указанными в Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (Директива 2010/63/EU, 2012 г.).

Животных наркотизировали 8 %-м раствором хлоралгидрата (0,6 г/кг), разведенным в 0,9 %-м растворе NaCl при внутримышечном введении.

Микроциркуляцию легких в условиях биомикроскопии изучали с помощью модифицированной камеры [20] с использованием контактного объектива с увеличением ×10 фирмы «ЛОМО» (Россия). В условиях биомикроскопии регистрировали диаметр широких капилляров субплевральной области легких. Лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ) легких осуществляли с помощью прибора ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия) с использованием программного обеспечения для обработки информации техники «ЛАКК», версия 3.0.2.384. Определяли показатель микроциркуляции (ПМ), косвенно отражающий скорость кровотока в капиллярах легких в условных единицах. Контрольное измерение в течение 15 мин принимали за среднюю величину, равную 100 %. Дальнейшие измерения рассчитывали в процентах относительно средней величины.

Кардиогенный острый отек легких создавали с помощью внутрибрюшинного введения адреналина

гидрохлорида (0,1 %-й раствор) в дозе 1,0 мл на 100 г массы крысы (10,0 мг/кг). Модель характеризовалась простотой исполнения и стандартностью воспроизведения ООЛ.

В качестве лимфостимулятора использовали пептид с условным названием «№ 171», являющийся агонистом дельта опиатных рецепторов и имеющий структурную формулу: Тур-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu. Гексапептид, синтезированный в лаборатории синтеза пептидов «Российского кардиологического научно-производственного комплекса» Минздрава России, является аналогом лейэнкефалина и даларгина. В условиях биомикроскопии пептид апплицировали на поверхность ЛМ брыжейки тонкой кишки в дозе 40,0 мкг/кг в 1,0 мл 0,9 %-го изотонического раствора хлорида натрия при изучении его влияния на моторику стенки и клапана методом оптической фотометрии [21]. Скорость лимфотока в ЛМ в четырех состояниях определяли визуально: «–» – стаз (остановка лимфотока); «+» – маятникообразное движение лимфы без продвижения в центральном направлении; «++» – слабый лимфоток с продвижением лимфы в центральном направлении; «+++» – интенсивный лимфоток с короткими (1–2 с) паузами между движениями лимфы.

Внутрибрюшинно пептид вводили за 15 мин до моделирования ООЛ (профилактическое введение) и сразу после развития ООЛ (в течение 1 мин с лечебной целью) в дозе 40,0 мкг/кг в 1,0 мл.

Оценка тяжести ООЛ у животных осуществляли на основании морфологического исследования ткани легких. Количественная оценка проводилась при определении легочного коэффициента (ЛК): отношение массы легочного комплекса к массе животного:

ЛК = масса легких (г) · 1000/масса животного (г) и сухого остатка легких (СО), определяющего количество избыточной жидкости в легких:

$$СО (\%) = \frac{\text{масса высушенных легких}}{\text{масса влажных легких}} [22].$$

Гистологическое исследование легких проводили после фиксации легочных комплексов в нейтральном

10 %-м растворе формалина, заливки парафином и изготовления срезов с помощью микротомы «Microm 340» с последующей окраской гематоксилином и эозином.

Фото- и видеосъемка микрососудов проводилась с помощью камеры DCM-310. Микроскопирование проводилось с помощью микроскопов ЛЮОММ И-2 («ЛЮМО», Россия) и МБИ-15 (увеличение от $\times 20$ до $\times 600$), окуляры с увеличением $\times 7$, $\times 8$, $\times 10$, $\times 15$ и объективы с увеличением $\times 2$, $\times 8$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программ «Statistica 6.0» и «Microsoft Office Excel». Различия считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования, в зависимости от выживаемости животных при остром отеке легких, представлены в трех группах: 1-я группа – погибшие в течение первых 10 мин после введения адреналина (71 % изученных животных с ООЛ); 2-я группа – погибшие в течение первых суток (16 %); 3-я группа – выжившие животные (13 %).

Особенности строения широких капилляров и функционирования микроциркуляции в легких, исследованные с помощью модифицированной камеры [20] в условиях биомикроскопии в контрольных опытах, были подробно описаны ранее [23]. Отметим лишь факт наличия зависимости и взаимосвязи степени нарушения микроциркуляции в легких при ООЛ (замедление скорости кровотока, развитие маятникообразного перемещения крови в капиллярах до полной остановки кровотока в течение первых минут после введения адреналина) с прогнозом летальности или выживаемости животного.

В табл. 1 приведены результаты динамики диаметра широких капилляров легких крысы в контрольных опытах после моделирования ООЛ с помощью внутрибрюшинного введения адреналина, а также введения лимфостимулирующего пептида до и после моделирования ООЛ.

Микроциркуляция легких по данным биомикроскопии

В контрольных опытах (интактные животные, животные с внутрибрюшинным введением 0,9 %-го NaCl и пептида № 171) нарушений микроциркуляции в легких не наблюдали. При сравнении диаметра широких капилляров разных контрольных групп значимых отличий не выявлено (табл. 1).

Внутрибрюшинное введение адреналина (40,0 мкг/кг в 1 мл) характеризовалось значительными нарушениями циркуляции крови в микрососудах легких. Через 5–10 с после введения адреналина во всех случаях скорость кровотока заметно снижалась. Появлялось маятникообразное и пульсирующее движение форменных элементов крови. В 70 % случаев в течение 10 мин происходила полная остановка кровотока. У 20 % подопытных животных маятникообразное движение форменных элементов крови наблюдалось на протяжении 60 мин, заканчивавшееся полной остановкой кровотока и летальностью животного. Только у 10 % животных кровотоков

не останавливался и со временем начинал восстанавливаться. После внутрибрюшинного введения адреналина (табл. 1) просвет широких капилляров легких значительно увеличивался и становился в 1,8 раза больше по сравнению с исходным состоянием ($P < 0,05$). На протяжении 1 ч диаметр широких капилляров имел тенденцию к уменьшению, однако эти изменения были незначимы ($P > 0,05$).

При предварительном введении пептида № 171 (табл. 1, № 5) первые 5–10 с после введения адреналина наблюдалось замедление скорости кровотока, переходящее в пульсирующий и маятникообразный кровоток. В 60 % случаев кровотоков останавливался в течение первых 10 мин после введения адреналина. Через 60 мин еще 10 % животных, у которых останавливался кровоток, также погибли. В 30 % случаев наблюдался пульсирующий маятникообразный кровоток, и в этой группе животных кровотоков постепенно восстанавливался. При моделировании ООЛ после введения пептида № 171 диаметр широких капилляров увеличивался в 1,3 раза по сравнению с исходным значением ($P < 0,05$) (табл. 1), что было значительно меньше степени увеличения диаметра капилляров у животных, которым вводили только адреналин (увеличение диаметра широких капилляров в 1,8 раза). Наблюдаемая реакция связана с активацией лимфатической системы и интерстициального транспорта жидкости в легких. На фоне использования пептида снижение вазодилатации в капиллярах легких отражает усиление дренажа жидкости из интерстициального пространства легких благодаря активации моторной функции лимфатических сосудов. Эффект пептида не был связан с влиянием на кровеносную систему легких в связи с тем, что ранее было показано, что действие лейэнкефалина на артериолы и вены было слабо выражено и непродолжительно [15].

С лечебной целью пептид № 171 вводили сразу после введения адреналина (в течение 1 мин). Аналогично с предыдущими исследованиями с адреналином, кровотоков замедлялся, возникал маятникообразный кровоток. У 50 % животных в течение первых 10 мин наблюдался стаз в микрососудах легких. В 40 % экспериментов наличие маятникообразного кровотока в течение 60 мин завершалось гибелью животных. У оставшихся 10 % животных на протяжении 30 мин наблюдался замедленный кровоток, который постепенно начинал восстанавливаться. Использование пептида № 171 с лечебной целью вызывало менее значительную дилатацию капилляров по сравнению с применением адреналина, однако лечебный эффект был менее выражен по сравнению с профилактическим введением пептида. Причина этого явления, по-видимому, связана с меньшим временем воздействия пептида при использовании его с лечебной целью (пептид вводили сразу после введения адреналина).

Следовательно, использованный при ООЛ лимфостимулирующий пептид способствовал улучшению микроциркуляции в капиллярах легких и уменьшению диаметра широких капилляров. Снижение гидростатического давления в капиллярной сети способствовало уменьшению отека в легких.

Влияние 0,9 %-го изотонического раствора NaCl, пептида № 171 и адреналина на показатель микроциркуляции по данным лазерной доплеровской флоуметрии

Table 2

Effect of 0.9 % isotonic NaCl solution, peptide N171 and adrenaline on PM according to LDF

N п/п	Воздействие	n	Воздействие	Исходное значение ПМ		Динамика ПМ (в % к исходному значению = 100 %)	
				усл. ед.	%	1–10 мин	11–60 мин
1	0,9 % NaCl	5	0,9 % NaCl	20,8±1,2	100,0	97,2±2,3	89,6±3,4
2	Пептид № 171	5	Пептид № 171	20,6±1,0	100,0	136,7±6,8 ^{o*}	135,4±6,9 ^{o*}
3	Адреналин	10	Адреналин	21,1±0,7	100,0	60,4±1,7 ^o	55,8±3,5 ^o
4	Пептид № 171 + адреналин	10	Пептид № 171 + адреналин	20,8±0,6	100,0	80,2±2,4 ^{o*}	80,4±1,6 ^{o*}
5	Адреналин + пептид № 171	10	Адреналин + пептид № 171	20,6±0,6	100,0	68,2±1,7 ^{o*}	75,0±1,9 ^{o*}

Пр и м е ч а н и е: n – число животных; ПМ – показатель микроциркуляции; ^o – значимые отличия от контрольных групп № 1, 2 и исходного состояния (P<0,05); * – значимое отличие от группы № 3 (адреналин, ООЛ) (P<0,05).

Микроциркуляция легких по данным лазерной доплеровской флоуметрии

Косвенный метод изучения микроциркуляции в легких с помощью ЛДФ позволял оценить объемный кровоток в 1 мм³ ткани. Поскольку пептид растворяли в 0,9 %-м растворе NaCl, в контрольных опытах было изучено его влияние на показатель микроциркуляции, отражающий скорость капиллярного кровотока (табл. 2).

При биомикроскопии легких, брыжейки тонкой кишки в ответ на введение 1,0 мл 0,9 %-го NaCl всегда наблюдали увеличение скорости кровотока в сосудах микроциркуляторного русла, включая капилляры. Противоположная реакция, полученная с помощью ЛДФ в наших экспериментах, объясняется гемодилуцией. На фоне увеличения скорости кровотока концентрация эритроцитов в единице объема уменьшается. Метод ЛДФ основан на фиксации числа эритроцитов в единице объема. Уменьшение числа эритроцитов и отраженных от них лазерных лучей отразилось на небольшом снижении ПМ (табл. 2).

Введение лимфостимулирующего пептида № 171, несмотря на гемодилуцию, вызываемую растворителем, сопровождалось увеличением ПМ на 36 % по сравнению с исходным состоянием, принимаемым за 100 %, на протяжении всего периода наблюдения (60 мин) благодаря лимфостимулирующему действию пептида (табл. 2). В просвете ЛМ находятся различные клетки крови, включая эритроциты, которые, наряду с увеличением скорости лимфотока, в ответ на введение лимфостимулятора вносят вклад в увеличение ПМ.

Внутрибрюшинное введение адреналина, вызывающего ООЛ, сопровождалось в первые 10 мин снижением ПМ на 40 % (табл. 2). Снижение скорости кровотока сохранялось и прогрессировало в течение 60 мин после моделирования ООЛ. Адреналин в тех же условиях при биомикроскопии легких вызывал замедление скорости кровотока и стаз в кровеносных капиллярах легкого, что соответствует результатам ЛДФ.

Применение пептида с профилактической целью за 15 мин до введения адреналина и развития ООЛ

сопровождалось снижением ПМ, но в значительно меньшей степени (на 20 % меньше) по сравнению с не лечеными животными (табл. 2). Этот уровень ПМ сохранялся на протяжении 60 мин наблюдения ООЛ.

Введение пептида с лечебной целью сразу после введения адреналина в первые 10 мин развития ООЛ было менее эффективно по сравнению с профилактическим действием пептида (ПМ снизился на 32 %). Причина более низкой эффективности, по-видимому, – короткий период действия пептида (от 1 до 10 мин). При более длительном периоде воздействия лимфостимулятора в течение 11–60 мин отмечалась положительная динамика ПМ, который увеличился на 7 % по сравнению с первыми минутами измерения (табл. 2).

Следовательно, лимфостимулирующий пептид № 171, увеличивающий в контрольных опытах микроциркуляцию в капиллярах легких на 36 %, при профилактическом и лечебном способе применения при ООЛ предотвращает резкое снижение микроциркуляции в капиллярных сосудах легких (в 2 раза меньше снижение ПМ при профилактическом введении). В большей степени эффект проявляется при профилактическом применении пептида по сравнению с лечебным способом введения.

Морфология легких

С целью выявления особенностей патогенеза ООЛ в ответ на введение лимфостимулятора определяли легочный коэффициент и сухой остаток легких, характеризующие количество жидкости в легких.

На рис. 1 показаны изменения легочного коэффициента (ЛК) в контроле, при воздействии адреналина и пептида № 171. В группе быстро погибающих животных определялся обширный отек легких по сравнению с контрольными опытами (P<0,01). ЛК в ответ на введение адреналина увеличивался на 180 % по сравнению с контрольными животными. Большинство животных погибали в первые 5 мин после введения адреналина.

Отсутствие эффекта на пептид в группе быстро погибающих животных, возможно, связано с кратковременностью периода между введением пептида и

быстрым развитием отека легких с летальным исходом (1–5 мин). В условиях нарушенного кровообращения доставка пептида, введенного внутривенно, замедлена. Введение пептида непосредственно в легкие, возможно, оказалось бы более эффективным.

В группе выживших животных наилучший результат получен при профилактическом применении пептида: ЛК не отличался от контрольной группы ($P>0,05$). Также эффективно действовал пептид при введении после развития ООЛ: ЛК увеличился на 22 % ($P>0,05$ по сравнению с контролем). Наихудший результат в группе выживших животных имел место при введении одного адреналина: ЛК увеличился на 72 % ($P<0,05$ по сравнению с контролем и применением пептида). Стимуляция лимфотока практически восстановила нормальную гидратацию легких благодаря увеличению лимфатического дренажа в легких.

Аналогичные закономерности получены по результатам определения сухого остатка (СО) легких в контрольных опытах, при введении адреналина и пептида № 171 (рис. 2).

В группе быстро погибающих в течение 10 мин животных СО при воздействии адреналина снижался на 38 %. Введение пептида не оказывало влияния на величину СО при профилактическом и лечебном способе введения. Молниеносное развитие ООЛ у части животных могло быть причиной неэффективности пептида. В группе выживших животных сухой остаток при использовании пептида не отличался от контрольных результатов ($P>0,05$).

У быстро погибающих животных всегда отмечали наличие обширных отеков, что подтверждают данные рис. 1; 2.

Гистологическое исследование легких

Результаты гистологического исследования легких в трех группах, в зависимости от продолжительности жизни животных (до 10 мин; до 1 суток; выжившие животные) показаны на рис. 3. Анализ полученных результатов изменения диаметра венул, лимфатических микрососудов, толщины межальвеолярных перегородок в контрольных опытах, при воздействии адреналина и лимфостимулирующего пептида № 171 (рис. 3) свидетельствуют о следующем: 1) по мере увеличения выживаемости уменьшается диаметр венул, ЛМ, толщина межальвеолярной перегородки, увеличенные при воздействии адреналина и развитии ООЛ; 2) у выживших животных эти показатели не отличаются от контрольных значений; 3) пептид не влиял на диаметр венул и толщину межальвеолярной перегородки у животных, погибающих в течение 10 мин при ООЛ, но уменьшал диаметр ЛМ при профилактическом применении в этой группе животных ($P<0,05$) по сравнению с нелечеными животными с ООЛ и группой с введением пептида после развития ООЛ. Этот результат свидетельствует о первоначальном воздействии пептида на ЛМ легких. Восстановление диаметра венул возникало позднее, после восстановления лимфоциркуляции в легких, снижения гидростатического давления вследствие активного лимфатического дренажа в легких.

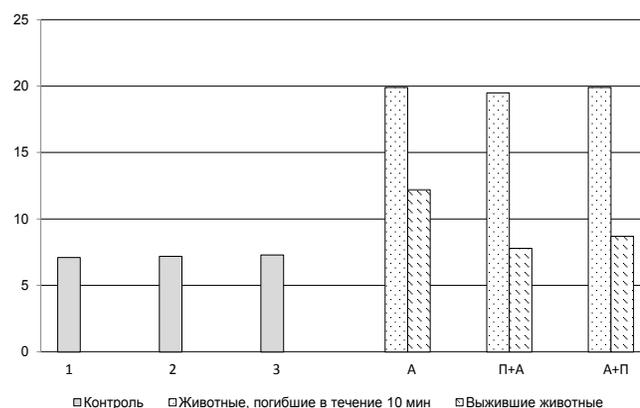


Рис. 1. Легочный коэффициент (ЛК) в контроле, при воздействии адреналина и лимфостимулирующего пептида № 171. По оси ординат – ЛК в относительных единицах; по оси абсцисс – Контроль: 1 – интактное животное; 2 – физиологический раствор; 3 – пептид № 171; А – адреналин; П – пептид. Первый парный столбик – животные, погибшие в течение 10 мин при ООЛ; второй парный столбик – выжившие животные

Fig. 1. Pulmonary coefficient (PC) in control when exposed to adrenaline and lymphostimulating peptide № 171. On the ordinate axis – PC in relative units; abscissa – Control: 1 – intact animal; 2 – saline solution; 3 – peptide № 171; А – adrenaline, П – peptide. The first paired column – animals that died during 10 minutes with ALE, the second is surviving animals

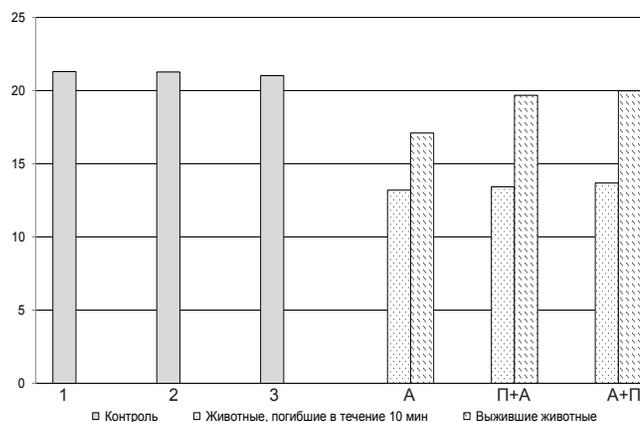


Рис. 2. Сухой остаток в контроле, при воздействии адреналина и лимфостимулирующего пептида № 171. Обозначения аналогичны рис. 1

Fig. 2. The dry residue in the control, under the influence of adrenaline and lymph-stimulating peptide № 171. Designations are similar to Fig. 1

Влияние пептида № 171 на выживаемость животных при ООЛ

ООЛ, вызываемый адреналином, быстро развивается, в течение 4–5 мин, вызывает высокую летальность крыс (табл. 3). Профилактическое использование пептида № 171 в дозе 40,0 мкг/кг в 1,0 мл 0,9 %-го раствора NaCl за 15 мин до введения адреналина способствовало снижению летальности в ранний срок (первые 10 мин) развития ООЛ и увеличивало выживаемость в 3 раза. Введение пептида с лечебной целью сразу после введения адреналина также снижало летальность в ранний срок развития ООЛ, увеличив в 3 раза численность животных с продолжительностью жизни до 1 суток. В клинике увеличение срока жизни при ООЛ играет важную роль, поскольку позволяет в условиях быстро развивающегося экстремального состояния оказать медицинскую помощь.

Таким образом, в зависимости от времени применения пептида до или после возникновения ООЛ

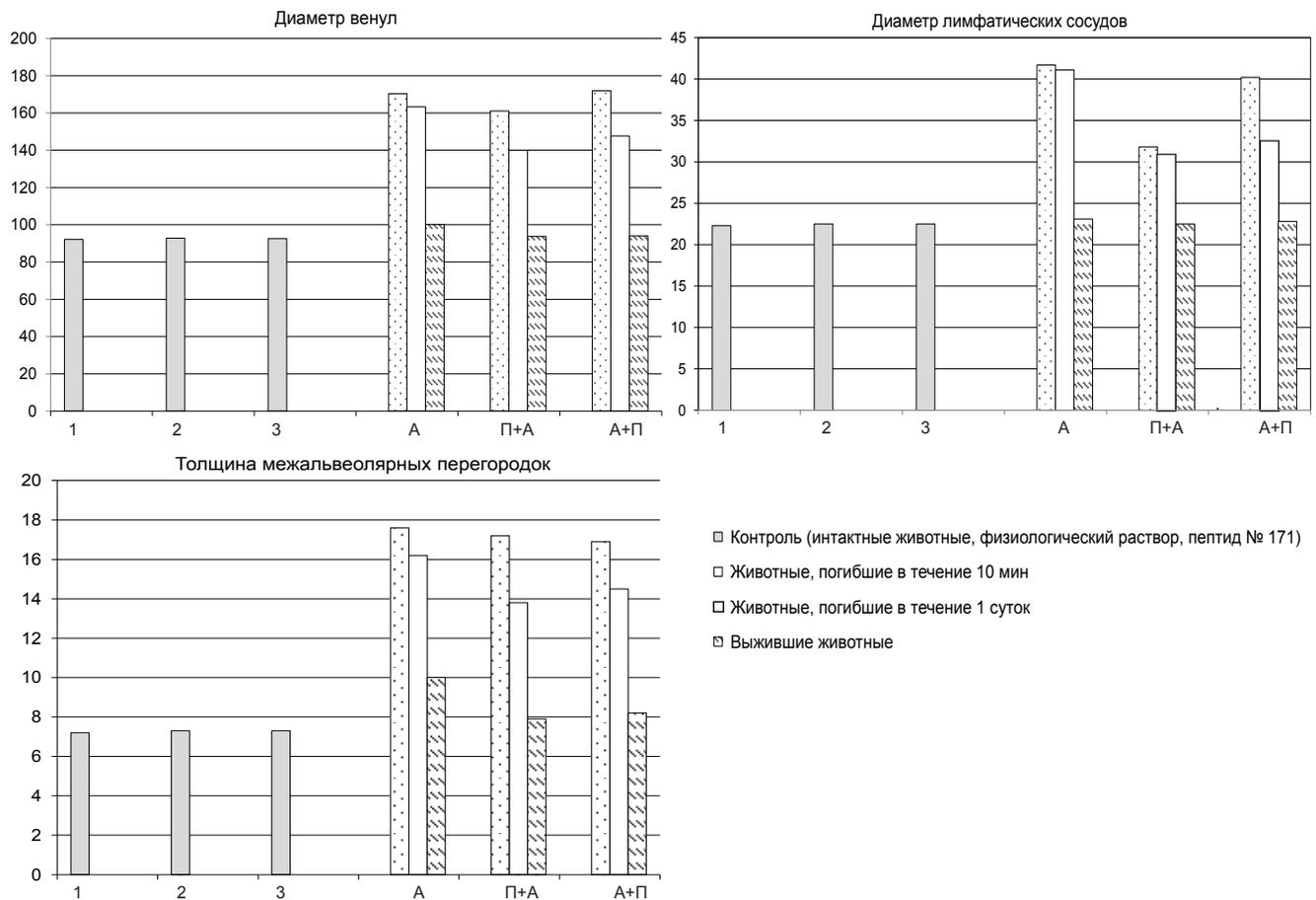


Рис. 3. Изменение диаметра венул, лимфатических микрососудов и толщины межальвеолярной перегородки легких при ООЛ в контроле, при воздействии адреналина и пептида № 171 у животных с различной продолжительностью жизни. Одинарные столбики – контроль (1 – интактные животные, 2 – в/бр. физиологический раствор, 3 – пептид № 171); тройные столбики – продолжительность жизни (1-й – до 10 мин, 2-й – до 1 суток, 3-й – выжившие животные)

Fig. 3. Change in the diameter of venules, lymphatic microvessels, and the thickness of the interalveolar septum of the lungs with ALO in the control, under the influence of adrenaline and peptide № 171 in animals with different lifespan. Single columns – control (1 – intact animals, 2 – in/br. Physiological solution, 3 – peptide № 171); triple bars – life expectancy (1st – up to 10 minutes, 2nd – up to 1 day, 3rd – surviving animals)

Таблица 3

Влияние пептида № 171 на продолжительность жизни крыс при остром отеке легких

Table 3

The effect of peptide No 171 on the life span of rats with acute pulmonary edema

Воздействие	Продолжительность жизни				Выжившие, %
	до 10 мин		до 1 суток		
	мин	%	мин	%	
Адреналин (n=31)	5,23±0,59	71	18,8±4,49	16,1	12,9
Пептид № 171 + адреналин (n=24)	5,73±0,68	45,8	20,5±2,89	16,7	37,5
Адреналин + пептид №171 (n=24)	4,33±0,59	37,5	49,91±10,32	45,8	16,7

n – число животных

можно повысить продолжительность жизни или увеличить выживаемость.

Заключение

Комплексное изучение роли стимуляции лимфотока с помощью лимфостимулирующего пептида № 171, агониста дельта-опиатных рецептор, в патогенезе ООЛ показало высокую эффективность метода лимфостимуляции, способствующего не только восстановлению микролимфо-, но и микрогемоциркуля-

ции в легких, устранению отека в легких, увеличению выживаемости и снижению летальности животных.

Использование различных методов изучения микроциркуляции легких – биомикроскопии с помощью камеры, лазерной доплеровской флоуметрии, морфологического и гистологического – позволило получить однонаправленные и взаимодополняющие результаты относительно важной роли стимуляции лимфотока в патогенезе ООЛ, являющегося быстро протекающим экстремальным состоянием.

Прямое воздействие пептида на опиатные рецепторы ЛМ легких активирует сократительную активность ЛМ, следствием которого является увеличение скорости лимфотока. Механическая активация лимфооттока способствует усилению не только транспортной, но и других многочисленных функций лимфатической системы (лимфообразование, регуляция водно-электролитного и белкового обмена, иммунная, резорбционная, дренажная, дезинтоксикационная, синтезирующая пептиды, противоаллергическая). Запуск многочисленных функций лимфатической системы с помощью опиоидного пептида, активирующего опиоидергическую регуляцию лимфатической системы, оказывает противоишемическое [17], противовоспалительное и противоаллергическое действие [18, 19], увеличивая скорость регенерации сосудов и нервов [9, 10]. Пептид № 171, эффективный при экспериментальном ООЛ, надемся, после проверки займет свое место в реанимационных отделениях клинической медицины.

Финансирование / Financing

Исследование не имело спонсорской поддержки. / The study did not have sponsorship.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Milberg JA, Davis DR, Steinberg KP et al. Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983–1993. *JAMA*. 1995;273(4):306–309.
2. Erickson SE, Martin GS, Davis JL et al. Recent trends in acute lung injury mortality: 1996–2005. *Crit Care Med*. 2009;37(5):1574–1579.
3. Laycock H, Rajah A. Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome: A Review Article. *BJMP*. 2010;3(2):324.
4. Stapleton RD, Wang BM, Hudson LD et al. Causes and timing of death in patients with ARDS. *Chest*. 2005;128(2):525–532.
5. Чучалин А. Г. Отек легких: лечебные программы // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2005. – Т. 4. – С. 2–9. [*Chuchalin AG. Otek legkikh: lechebny'e programy. Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya*. 2005;4:2–9. (In Russ.)].
6. Яковлев В. Н., Алексеев В. Г. Отек легких: различия патогенеза и лечения. – М.: Наука, 2012. – 80 с. [*Yakovlev VN, Alekseev VG. Otek legkikh: razlichiya patogeneza i lecheniya*. Moscow, Nauka, 2012:80. (In Russ.)].
7. Чучалин А. Г. Отек легких. Физиология легочного кровообращения и патофизиология отека легких // *Терапевт. арх.* – 2006. – Т. 78, № 3. – С. 5–13. [*Chuchalin AG. Otek legkikh. Fiziologiya legochnogo krovoobrasheniya i patofiziologiya oteka legkikh. Terapevticheskij arkhiv*. 2006;78(3):5–13. (In Russ.)].
8. Hughes J, Kosterlitz HW, Smith TW. The distribution of methionine enkephalin and leucine enkephalin in the brain and peripheral tissues. *Brit. J. Pharmacol*. 1977;61:639–648.
9. Акоев Г. Н., Ильинский О. Б., Колосова Л. И. и др. Влияние опиоидного пептида даларгина на регенерацию седлищного нерва крысы // *Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова*. – 1989. – Т. 75, № 1. – С. 33–37. [*Akoev GN, Il'inskij OB, Kolosova LI, Titov MI, Trofimova OG. Vliyanie*

opioidnogo peptida dalargina na regeneracziyu sedalishhnogo nerva kry'sy. Fiziologicheskij zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova. 1989;75(1):33–37. (In Russ.)].

10. Реутов М. И. Динамика репаративного ангиогенеза и реакции новообразованного микроциркуляторного русла на ишемию и лекарственные вещества: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1990. – 22 с. [*Reutov MI. Dinamika reparativnogo angiogeneza i reakcii novoobrazovannogo mikrocirkulyatornogo rusla na ishemiyu i lekarstvenny'e veshchestva*. Avtoreferat dissertacii ... kandidata medicinskikh nauk. Moscow, 1990:22. (In Russ.)].

11. Золоев Г. К. Об участии лей-энкефалина в регуляции углеводного обмена // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1987. – № 5. – С. 515–517. [*Zoloev GK. Ob uchastii lej-e'nfefalina v regulyaczii uglevodnogo obmena*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1987;(5):515–517. (In Russ.)].

12. Слепушкин В. Д., Лишманов Ю. Б., Федотова Т. В. и др. Исследование содержания гормонов гипофизарно-надпочечниковой системы в крови у больных острым инфарктом миокарда при лечении отечественным гексапептидом даларгином // *Кардиология*. – 1987. – Т. 27, № 9. – С. 110–112. [*Slepushkin VD, Lishmanov YuB, Fedotova TV, Zoloev GK, Mirza VG, Maksimov IV. Issledovanie soderzhaniya gormonov gipofizarno-nadpochechnikovej sistemy v krvi u bol'ny'kh ostrym infarktom miokarda pri lechenii otechestvenny'm geksapeptidom dalarginom*. *Kardiologiya*. 1987;27(9):110–112. (In Russ.)].

13. Влияние опиоидных пептидов на лимфатический дренаж поджелудочной железы крыс и собак // В. А. Виноградов, Ю. С. Эгамов, В. М. Полонский, С. У. Джумбаев // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1988. – Т. 105, № 3. – С. 259–261. [*Vinogradov VA, E'gatom YuS, Polonskij VM, Dzhumbaev SU. Vliyanie opioidny'kh peptidov na limfaticeskij drenazh podzheludochnoj zhelezy kry's i sobak*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1988;105(3):259–261. (In Russ.)].

14. Полонский В. М., Ярыгин К. Н., Кривошеев О. Г. и др. Место приложения (центральное или периферическое) противоязвенного действия синтетического аналога эндогенных опиоидов даларгина в экспериментальной модели цистеаминовых дуоденальных язв // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1987. – Т. 103, № 4. – С. 433–434. [*Polonskij VM, Yarygin KN, Krivosheev OG, Moskovkin GN, Vinogradov VA. Mesto prilozheniya (central'noe ili perifericheskoe) protivoyazvennogo dejstviya sinteticheskogo analoga endogenny'kh opioidov dalargina v eksperimental'noj modeli cisteaminovy'kh duodenal'ny'kh yazv*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1987;103(4):433–434. (In Russ.)].

15. Хугаева В. К., Сучков В. В. Влияние энкефалина на микроциркуляторное русло // *Бюл. ВКНЦ АМН СССР*. – 1980. – № 1. – С. 92–96. [*Khugaeva VK, Suchkov VV. Vliyanie e'nfefalina na mikrocirkulyatornoe ruslo*. *Bulleten' VKNCz AMN SSSR*. 1980;(1):92–96. (In Russ.)].

16. Хугаева В. К. Влияние даларгина на микрогемо- и микролимфоциркуляцию // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1988. – Т. 105, № 3. – С. 300–302. [*Khugaeva VK. Vliyanie dalargina na mikrogemo- i mikrolimfocirkulyacziyu*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1988;105(3):300–302. (In Russ.)].

17. Хугаева В. К. Нарушение мозгового кровотока при ишемии и его коррекция с помощью лей-энкефалина // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1991. – Т. 112, № 8. – С. 117–120. [*Khugaeva VK. Narushenie mozgovogo krovotoka pri ishemii i ego korrekciya s pomoshh'yu*

lej-e`nkefalina. Вжulleten`jeksperimental`noj biologii i mediciny. 1991;112(8):117–120. (In Russ.).

18. Ардасенов А. В., Хугаева В. К., Александров П. Н. Микроциркуляторное русло кожи в условиях воспаления и коррекции методом лимфостимуляции. – М.: Научный мир, 2004. – 149 с. [Ardasenov AV, Khugaeva VK, Aleksandrov PN. Mikrocirkulyatornoe ruslo kozhi v usloviyakh vospaleniya i korrekczii metodom limfostimulyaczii. Moscow, Nauchnyj mir, 2004:149. (In Russ.).]

19. Коваленко А. А., Хугаева В. К. Экспериментальное обоснование применения синтетического пептида в комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости // Патогенез. – 2018. – Т. 16, № 4. – С. 138–140. [Kovalenko AA, Khugaeva VK. E`ksperimental`noe obosnovanie primeneniya sinteticheskogo peptida v kompleksnom khirurgicheskom lechenii ostroj kishechnoj neprokhodimosti. Patogenez. 2018;16(4):138–140. (In Russ.).] Doi: 10/25557/2310-0435.2018.04.138-140.

20. Султанов Д. В., Хугаева В. К. Метод прижизненного изучения микроциркуляции легких у крыс с помощью модифицированной камеры // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2014. – Т. 58, № 3. – С. 102–104. [Sultanov DV, Khugaeva VK. Metod prizhiznennogo izucheniya mikrocirkulyaczii lyogkikh u kry`s s pomoshh`yu modifizirovannoj kamery`. Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental`naja terapija. 2014;58(3):102–104. (In Russ.).]

21. Александров П. Н., Хугаева В. К. Метод прижизненной регистрации сокращений стенок и клапанов лимфатических микрососудов // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1989. – № 4. – С. 65–67. [Aleksandrov PN, Khugaeva VK. Metod prizhiznennoj registraczii sokrashhenij stenok i klapanov limfaticheskikh mikrososudov. Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental`naja terapija. 1989;(4):65–67. (In Russ.).]

22. Терехов И. В., Дзюба М. А., Бондарь С. С. и др. Оценка альвеолярно-капиллярных нарушений при развитии тяжелого гемодинамического отека легких у крыс и их коррекция с помощью СВЧ-излучения // Саратов. науч.-мед. журн. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 389–392. [Terekhov IV, Dzyuba MA, Bondar`SS et al. Oczenka al`veolyarno-kapillyarny`kh narushenij pri razvittii tyazhelogo gemodinamicheskogo oteka legkikh u kry`s i ikh korrekcziya s pomoshh`yu SVCh-izlucheniya. Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2011;7(2):389–392. (In Russ.).]

23. Султанов Д. В., Хугаева В. К., Ардасенов А. В. и др. Микроциркуляция легких при остром отеке легких // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 96–103. [Sultanov DV, Khugaeva VK, Ardasenov AV, Kovalenko AA, Zaseeva AM. Mikrocirkulyaczija lyogkikh pri ostrom otyoke lyogkikh. Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkulyaczija. 2019;18(1):96–103. (In Russ.).] Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-1-96-103.

Информация об авторах

Султанов Делюс Вилевич – канд. мед. наук, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: delsv2005@mail.ru.

Хугаева Валентина Каргоевна – д-р мед. наук, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: vhugaeva@mail.ru.

Ардасенов Алан Валерьевич – канд. мед. наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: ardasenov@rambler.ru.

Коваленко Алексей Анатольевич – младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии (ранее), Москва, e-mail: alexeykovalenko@yandex.ru.

Засеева Алана Моисеевна – младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: alzasmoj@mail.ru.

Information about authors

Sultanov Delyus V. – Ph. D., junior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: delsv2005@mail.ru.

Khugaeva Valentina K. – MD, Ph.D., Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: vhugaeva@mail.ru.

Ardasenov Alan V. – Ph. D., senior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: ardasenov@rambler.ru.

Kovalenko Alexey A. – junior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology (earlier), Moscow, e-mail: alexeykovalenko@yandex.ru.

Zaseeva Alana M. – junior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: alzasmoj@mail.ru.

УДК 612.42+616.36

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-73-79

С. Н. АБДРЕШОВ¹, А. О. БАЛХЫБЕКОВА¹,
Г. А. ДЕМЧЕНКО¹, Г. И. ЛОБОВ²

Лимфодинамика и адренергическая иннервация почки и почечных лимфатических узлов при токсическом гепатите

¹ «Институт физиологии человека и животных» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, Алматы, Республика Казахстан

050060, Республика Казахстан, Алматы, пр. Аль-Фараби, д. 93

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии имени И. П. Павлова»

Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

e-mail: SNABDRESHOV@mail.ru

Статья поступила в редакцию 21.05.20; принята к печати 31.07.20

Резюме

Введение. Лимфатическая система поддерживает постоянство внутренней среды организма и играет важную роль в регуляции объема жидкости, которая, наряду с интерстициальной жидкостью, окружает ткани и клетки. **Цель** исследования – оценить процесс перераспределения воды в жидких средах организма, а также выявить особенности адренергической иннервации почки и почечных лимфатических узлов при токсическом гепатите. **Материалы и методы.** Объектом исследования были почки и почечные лимфатические узлы крыс. Оценивали лимфоток и адренергическую иннервацию лимфатических узлов. **Результаты.** При токсическом гепатите в ткани почек и почечной лоханки наблюдалось снижение флуоресценции адренергических нервных волокон, а также отсутствие одиночных нейронов. Нервные волокна, расположенные в толще ткани около почечных лимфатических узлов, имели слабое свечение. Уменьшались лимфоток (в среднем на 35 %), объем плазмы крови (в среднем на 21 %) и диурез (на 60 %). Происходило нарушение перераспределения воды, общего белка и электролитов в жидких средах организма. **Выводы.** Результаты исследования показывают, что токсический гепатит приводит к деструкции адренергической иннервации в ткани и сосудах почек и почечных лимфатических узлов, исчезновению мелких терминалей нервных волокон и части варикозных утолщений, являющихся депо катехоламинов. Это вызывает диффузию катехоламинов в окружающие ткани, угнетая эфферентную сигнализацию нервных процессов. При гепатите происходит нарушение водно-солевого гомеостаза у крыс, что проявляется в уменьшении объемов плазмы и циркулирующей крови, снижении лимфотока. Лимфатическая система при гепатите выполняет роль депо для вышедших из кровеносного русла ионов калия и кальция, препятствуя выведению их с мочой.

Ключевые слова: адренергическая иннервация, водно-солевой гомеостаз, лимфа, лимфоток, токсический гепатит, электролиты

Для цитирования: Абдрешов С. Н., Балхыбекова А. О., Демченко Г. А., Лобов Г. И. Лимфодинамика и адренергическая иннервация почки и почечных лимфатических узлов при токсическом гепатите. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):73–79. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-73-79.

UDC 612.42+616.36

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-73-79

S. N. ABDRESHOV¹, A. O. BALKHYBEKOVA¹,
G. A. DEMCHENKO¹, G. I. LOBOV²

Lymphodynamics and adrenergic innervation of the kidney and renal lymph nodes in toxic hepatitis

¹ Institute of Human and Animal Physiology SC MES of Kazakhstan Republic, Almaty, Republic Kazakhstan

93, Al-Farabi str., Almaty, Republic Kazakhstan, 050060

² Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

6, Makarova emb., Saint Petersburg, Russia, 199034

e-mail: SNABDRESHOV@mail.ru

Received 21.05.20; accepted 31.07.20

Summary

Introduction. The lymphatic system maintains a steady state of organism and plays crucial role in a volume regulation of fluid surrounding the organs. The researching *goal* is to study the fluid redistribution process and to reveal adrenoceptive renal innervation of its lymphatic nodes in toxic hepatitis. **Materials and methods.** We studied the rat kidneys and their renal lymphatic nodes. The lymph flow of renal nodes and its adrenergic innervation were evaluated. **Results.** Rats with toxic hepatitis showed the decreasing fluorescence of adrenergic nerves and absence of the single neurons in kidney tissue and pelvis. Nerves in the renal parenchyma adjacent to the lymphatic nodes had a weak fluorescence. The average decreasing of lymph flow, volume of blood plasm and diuresis was 35, 21 and 60 %, correspondently. The disturbance of fluid redistribution, whole protein and

electrolytes were observed. *Conclusions.* Toxic hepatitis leads to the destruction of adrenergic innervation in the tissues and blood vessels of the kidneys and renal lymph nodes, the disappearance of small terminals of nerves and part of varicose thickenings, the depots of catecholamines. This causes the diffusion of catecholamines into the surrounding tissues, suppressing the efferent signaling of nervous processes. The rats with hepatitis have had an impaired water-salt homeostasis resulted in a decreasing volume of plasma, circulating blood and lymph flow. The lymphatic system in hepatitis promotes the uptake of potassium and calcium ions released from the bloodstream, preventing them from being excreted in the urine.

Keywords: *adrenergic innervation, water-salt homeostasis, lymph, lymph flow, toxic hepatitis, electrolytes*

For citation: *Abdreshov S. N., Balkhybekova A. O., Demchenko G. A., Lobov G. I. Lymphodynamics and adrenergic innervation of the kidney and renal lymph nodes in toxic hepatitis. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):73–79. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-73-79.*

Введение

Воздействие антропогенных факторов ведет к росту патологии печени и других органов и систем организма [1–3]. Особую опасность для здоровья человека представляют отходы нефтяной и химической промышленности, содержащие токсические летучие органические вещества, среди которых наибольшим токсическим эффектом обладает 4-хлористый углерод. Изучение влияния 4-хлористого углерода на организм показало, что введение его животным вызывает достоверное повышение концентрации эндогенного этанола в печени, тенденцию к повышению уровня ацетальдегида в крови, что приводит к повреждению различных органов, в частности, печени [6, 7]. Патогенетические механизмы повреждения печени многообразны, однако все они вызывают повреждение клеток печени, которое сопровождается воспалительной реакцией, цитолизом и развитием фиброза [8, 9].

Известно, что лимфатическая система вовлекается в течение многих патологических процессов вне зависимости от их этиологии и патогенеза, так как она поддерживает постоянство внутренней среды организма. Возникновение, развитие и генерализация эндотоксикоза зависит от уровня лимфодетоксикации, поэтому важна коррекция нарушений в лимфатической системе и оптимизация ее функций [10, 11].

Лимфатическая система поддерживает постоянство внутренней среды организма, она играет важную роль в регуляции объема жидкости, которая, наряду с интерстициальной жидкостью, окружает ткани и клетки. Транспорт лимфы по лимфатическим сосудам осуществляется за счет пассивного и активного механизмов. Однако основным механизмом, обеспечивающим эффективный транспорт лимфы по лимфатическим сосудам и узлам, является ритмическая сократительная деятельность лимфатических сосудов и узлов, а между состоянием сосудистого русла и состоянием паренхимы почки и печени имеется тесная прямая связь, отражающая функциональную адаптацию в системе «сосуды – орган» [12–14].

Изучению водно-электролитного баланса при различных функциональных нарушениях и патологических состояниях в организме придается большое значение. Следует отметить, что регуляторные изменения артерий почек при нарушении гомеостаза изучены мало. Принимая во внимание важную роль почек как в поддержании гомеостаза организма, так и в регуляции работы сердечно-сосудистой системы, мы считаем, что изучение особенностей регуляции артерий почек при экспериментальном токсическом

гепатите актуально как для физиологии, так и для фундаментальной медицины.

Известно, что водно-электролитный обмен играет важную роль в регуляции гомеостаза, ответственного за поддержание функциональной целостности организма. В связи с этим была поставлена задача подобрать модель токсического гепатита для крыс, на которой исследовать перераспределение воды в жидких средах организма. Однако в научной литературе практически отсутствуют сведения о влиянии экспериментального токсического гепатита на водно-солевой гомеостаз, а также недостаточно исследована роль лимфатической системы в регуляции объема жидких сред организма и электролитного баланса при патологии почек и печени. Особый интерес представляет изучение функциональной роли лимфатической системы при экспериментальном токсическом гепатите, а также ее участия в перераспределении воды в жидких средах организма.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 50 половозрелых крысах (самцах) линии Wistar, которые были разделены на две группы. 1-я группа являлась контрольной (20 крыс), 2-ю группу (30 крыс) составляли животные с экспериментальным токсическим гепатитом. Для создания модели экспериментального токсического гепатита крысы подвергались воздействию тетрахлорметана (CCl₄), который вводили внутрибрюшинно 3 раза через день (по 0,3 мг/кг массы животных). Через 30 суток животных 1-й и 2-й групп брали в эксперимент. Все эксперименты с животными проводили в строгом соответствии и требованиями, предусмотренными директивой 1986 г. Европейского парламента и изложенными в «Руководстве по уходу и использованию лабораторных животных». Протокол исследования был одобрен этической комиссией Института физиологии человека и животных КН МОН РК (№ 16/19 от 22.01.2019 г.). Животные всех групп содержались в виварии на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде. У животных под эфирным наркозом прижизненно были взяты пробы лимфы и крови. У крыс регистрировали объем лимфы из кишечного лимфатического сосуда, собирали с помощью градуированной микроканюли, также были взяты пробы мочи для исследований.

Для изучения почечной лимфы у животных после лапаротомии канюлировали кишечную лимфатическую цистерну, максимально каудально, чтобы уменьшить приток кишечной лимфы, затем находили отходящий от печени сосудистый пучок и перевязывали

вали его лигатурой. Далее на уровне ниже почек лигировали лимфатический проток, приносящий лимфу от задних конечностей, половых органов и мочевого пузыря. Таким образом, мы получали лимфу от обеих почек каждого животного.

Для взятия проб интерстициальной жидкости (ИЖ) использовали фитильковый метод [15]. Нити из хлопка длиной 2–3 см вшивали в подкожную жировую ткань крысы и оставляли на 12 ч. Потом вынимали фитильки и опускали в сосуд с дистиллированной водой объемом 1 мл. Через 24 ч вынимали фитильки из сосуда и взвешивали сосуд с жидкостью. Фитильки сушили и взвешивали. В жидкости из сосуда определяли содержание общего белка микробиуретовым методом [24] на анализаторе Cobas INTEGRA 700 (Roche). Учитывая содержание ИЖ, попавшей в воду из фитильков, рассчитывали содержание в ней общего белка. Содержание электролитов (K^+ , Na^+) в крови, лимфе, ИЖ и моче определяли ионо-селективным методом на электролитном анализаторе AVL 918 (Roche). Содержание ионов кальция в интерстициальной жидкости измеряли на анализаторе Cobas INTEGRA 700 по методике [16].

Диурез оценивали путем измерения объема мочи, выделяемой из мочевого пузыря животного в единицу времени. Кроме того, определяли содержание микроальбумина в моче на биохимическом анализаторе Olympus AV-640 (Япония), а также оценивали объем внеклеточной жидкости у крыс с помощью тиоционатного метода [17].

Для изучения адренергической иннервации печени и почек применялся специфический гистохимический флуоресцентно-микроскопический метод выявления катехоламинов в тканях – метод Фалька в модификации В. А. Говырина с использованием глиоксалевого кислоты [18]. Готовили криостатные поперечные срезы из тканей печени и почек толщиной 15–20 мкм. Препараты инкубировали в 2 %-м растворе глиоксалевого кислоты, приготовленной на фосфатном буфере с pH 7,2. Затем срезы высушивали под теплой струей воздуха и термостатировали при 100 °C с последующим осветлением и фиксацией 5 %-м раствором полистирола, растворенного в ксилоле. Препараты изучали с помощью флуоресцентного микроскопа Vision 300 (Australia) с фотокамерой. Гистологический анализ тканей печени производили путем фиксирования материала в 10 %-м нейтральном формалине, проводили через спирты и заливали парафином. Срезы толщины 7–8 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, для выявления соединительной ткани по ван Гизону. Обработка полученных результатов проводилась методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считались достоверными при $p < 0,01$, $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При токсическом гепатите у крыс летальность составила 10 % от общего числа животных. Эффективность модели токсического гепатита у крыс была подтверждена результатами гистологических исследований структуры печени и биохимического анализа крови. Гистологические исследования показали, что

при токсическом гепатите в структуре печени появились участки фиброза, локализованные на месте некроза гепатоцитов. В большинстве долек печени отмечена жировая дистрофия, а также умеренно выраженный портальный склероз. Известно, что при гепатите развивается воспалительный процесс, в печени погибают гепатоциты, и их место занимают клетки соединительной ткани, которые сами по себе не участвуют в процессах пищеварения, но усиленно разрастаются, что приводит к увеличению размеров и веса печени и ряда других органов.

По окончании опыта у декапитированных животных экспериментальной и контрольной групп были взяты органы для взвешивания. Оценивали массу печени, почки и селезенки. Сравнительный анализ массы органов показал, что у крыс с хроническим гепатитом наблюдалось увеличение массы всех исследованных органов по сравнению с контрольными животными. Так, по сравнению в контрольной группой, масса печени у крыс с токсическим гепатитом была больше на 28,6 % ($9,42 \pm 0,09$ г в экспериментальной группе и $7,32 \pm 0,5$ г в контроле, $p < 0,05$), почки – на 19,4 % ($0,675 \pm 0,05$ г в экспериментальной группе и $0,565 \pm 0,05$ г в контроле, $p < 0,05$) и селезенки – на 34 % ($0,772 \pm 0,04$ г в экспериментальной группе и $0,575 \pm 0,05$ г в контроле, $p < 0,01$).

Лимфоток из грудного протока контрольных крыс составлял $0,34 \pm 0,01$ мл/ч. Почечный лимфоток у этих животных составил $3,47 \pm 0,28$ мкл/мин/на 100 г массы тела. При токсическом гепатите данные показатели снижались на 34–35 % от их значений в контрольной группе (табл. 1). Объем внеклеточной жидкости или внеклеточного пространства у интактных крыс был равен $32,7 \pm 1,3$ мкг на 200 г массы тела, при хроническом токсическом гепатите повышался незначительно, до $34,3 \pm 1,6$ мкг на 200 г массы тела. Объем циркулирующей крови в норме составил $15,07 \pm 1,03$ мкг/на 100 г массы тела (табл. 1).

Артериальное давление (АД) в общей сонной артерии крыс составило 90–100 мм рт. ст. Уровень АД при гепатите существенно не изменялся. Объем плазмы крови уменьшался, при этом возрастала клеточная часть красной крови, что связано с компенсаторным выбросом эритроцитов в кровеносное русло из селезенки. У крыс с гепатитом обнаружено ускорение времени свертывания крови и лимфы, увеличение их вязкости, сдвиг pH крови и лимфы в сторону ацидоза, время свертывания крови в некоторых животных составляло всего 70 с. Диурез крыс с гепатитом уменьшался с $4,1 \pm 0,02$ до $2,2 \pm 0,01$ мкл/мин, т. е. на 45 % от исходного значения.

Результаты проведенных исследований показали, что у крыс контрольных групп содержание электролитов было следующим. В плазме крови: натрий – 142 ммоль/л, калий – 2,7 ммоль/л и кальций – 0,485 ммоль/л; в лимфе: натрий – 120,15 ммоль/л, калий – 2,37, кальций – $0,40 \pm 0,01$ ммоль/л; в моче – натрий – 16,41 ммоль/л, калий – 3,12, ионы кальция отсутствовали.

При токсическом гепатите содержание ионов натрия в крови возрастало на 20 %, а калия – снижались на 24 % от контрольных значений и составило

Таблица 1

Лимфоток и объем циркулирующей крови у крыс контрольной группы и при токсическом гепатите

Table 1

Lymph Flow and volume of circulating blood in control group rats and in toxic hepatitis

Показатель	Контрольная группа	Группа с гепатитом
Объем плазмы по гематокриту	53±2	47±3
Лимфоток из грудного протока, мл/ч	0,34±0,01	0,19±0,02**
Лимфоток из печеночного протока, мкл/мин/100 г массы тела	7,45±0,53	3,63±0,29**
Почечный лимфоток, мкл/мин/100 г массы тела	3,47±0,28	1,21±0,16**
Объем циркулирующей плазмы, мл/100 г массы тела	7,63±1,01	6,03±0,73*
Объем циркулирующей крови, мл/100 г массы тела	15,07±1,03	12,11±0,42*
Диурез, мкл/мин/100 г массы тела	2,04±0,03	0,79±0,11**

* – достоверно по сравнению с контролем, $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Таблица 2

Содержание общего белка плазмы крови, лимфы и ИЖ при экспериментальном токсическом гепатите у животных

Table 2

Total protein content of blood plasma, lymph and interstitial fluid (IF) in experimental toxic hepatitis in animals

Показатель	Контрольная группа	Группа с гепатитом
Общий белок плазмы крови, г/л	47,3± 2,4	34,2 ±2,1*
Общий белок лимфы, г/л	32,2± 2,4	22,0 ±1,2 *
Общий белок в ИЖ, г/л	23,0 ± 2,3	11,0± 1,5*

* – достоверно по сравнению с контролем, $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

2,52±0,15 ммоль/л. Повышение электролита Na^+ в крови и лимфе, вероятно, является следствием того, что ионы внутриклеточного Na^+ покидают клетки и пополняют жидкие среды. У животных с гепатитом содержание ионов кальция в крови снижалось на 30 %, в лимфе – повышалось на 22 % по сравнению контрольной группой. Содержание ионов кальция в лимфе повышалось на 10 %. Следовательно, лимфатическая система депонирует ионы калия и сохраняет его для нужд организма. Сдвиги в содержании электролитов в крови и лимфе часто носили разнонаправленный характер, так как лимфатическая система депонирует ионы калия и кальция, вышедшие из кровеносного русла.

У 30 % животных диурез при токсическом гепатите оставался на уровне контроля и составлял в среднем 1,80–1,95 мкл/мин /100 г массы тела, однако снижалось выделение электролитов с мочой на 10–20 % по сравнению с контрольными животными. При сравнении состава мочи, взятой из мочевого пузыря крыс с гепатитом и контрольной группы, выявлено, что содержание ионов натрия снижалось на 17 %, калия – на 21 %, а ионы кальция, отсутствовавшие в норме, появились в моче. Согласно клиническим наблюдениям, опубликованным в литературе [19], разных формы хронических диффузных заболеваний печени сопровождаются нарушениями почечной гемодинамики. В ИЖ содержание ионов натрия составляло 140,2±2,3 ммоль/л, что в пределах физиологической нормы. Однако ионы калия в ИЖ не выявлялись. Содержание ионов кальция было низким – от 0,16

до 0,28 ммоль/л, в среднем 0,19±0,01 ммоль/л, при токсическом гепатите.

Проведенные исследования показали, что сдвиги в электролитном обмене и перераспределении жидкости у крыс с токсическим гепатитом указывают на нарушения в электролитном балансе, что может быть следствием потери организмом солей и жидкости, вероятно, через пищеварительный тракт, в результате многократной рвоты и течения воспалительного процесса с высокой температурой на первоначальных этапах развития гепатита. Степень этих нарушений прямо пропорциональна тяжести течения острого гепатита и выраженности воспалительного процесса.

Результаты биохимических исследований плазмы крови, лимфы и интерстициальной жидкости у крыс с токсическим гепатитом выявили ряд сдвигов, свидетельствующих о серьезных нарушениях у них функции печени. Так, в плазме крови обнаружено уменьшение содержания общего белка, что указывает на снижение функции печени, в которой происходит синтез белка, увеличение уровня билирубина общего и тимоловой пробы, что также является показателем нарушения деятельности печени. Содержание общего белка в ИЖ уменьшается на 50 % (табл. 2). Исследование показало, что при токсическом гепатите увеличивается содержание мочевины и креатинина в плазме крови и лимфы. Мочевина и креатинин являются конечными продуктами азотистого обмена, токсичными для организма, поэтому удаляются из организма с мочой. Развитие гепаторенального синдрома

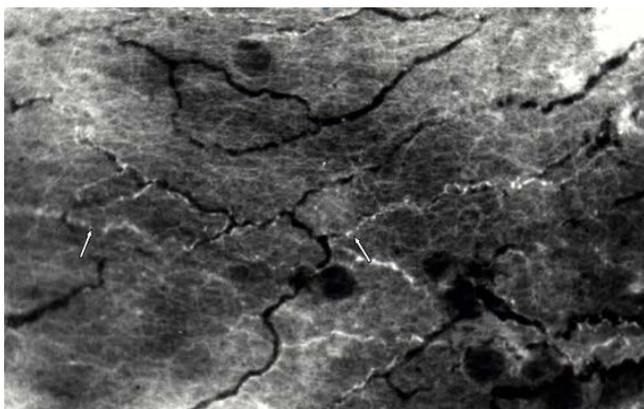


Рис. 1. Терминальные адренергические нервные волокна в почечной лоханке. Стрелками указаны тонкие нервные волокна в стенке почечной лоханки.

Об. 40. Ок. рк $\times 6,3$

Fig. 1. Terminal adrenergic nerve fibers in the renal pelvis. Arrows indicate thin nerve fibers in the wall of the renal pelvis. Lens 40, Magnification $\times 6.3$

рома можно считать связанным с низкой выделительной функцией почек.

Появление микроальбумина в моче в больших количествах, по мнению исследователей [20, 21], является признаком нарушения функции почек. Общеизвестно, что при тяжелых поражениях печени одновременно нарушаются функции почек, так как между этими органами существует тесная фило-онтогенетическая взаимосвязь. Почечная недостаточность при хронических гепатитах обусловлена, с одной стороны, нарушением гемодинамики, а с другой – накоплением экзо- и эндогенных токсических продуктов, обладающих повреждающими свойствами [22].

При гистохимическом исследовании адренергической иннервации почки и почечных лимфатических узлов у контрольных животных обнаружено, что иннервация почек осуществляется специальным почечным вегетативным нервным сплетением (подсистема чревного сплетения), образованным ветвями блуждающего нерва и симпатического ствола. Нарушение функции почек имеет ряд причин, в частности, поражение ткани почки как эндогенными, образующимися в организме отравляющими токсикантами из крови, так и промышленными ядами при внешней интоксикации организма, приводящими к воспалительному процессу в печени. Известно, что при этом активно вырабатывается ангиотензин, который влияет как на саму почку, так и на нейроны почечного вегетативного сплетения. Исследователи считают, что на этой почве может формироваться печеночно-почечная недостаточность.

С помощью специфического гистохимического метода выявления катехоламинов в ткани органов интактных крыс нам удалось выявить флуоресцирующие адренергические нервные волокна во всей толще стенки почечной лоханки. Особенно много их было в мышечной оболочке. Здесь чаще определялись одиночные светящиеся волокна, соответствующие нервным терминалям. Среди мышечных клеток обнаруживались крупные пучки, состоящие из отдельных тонких люминесцирующих волокон.

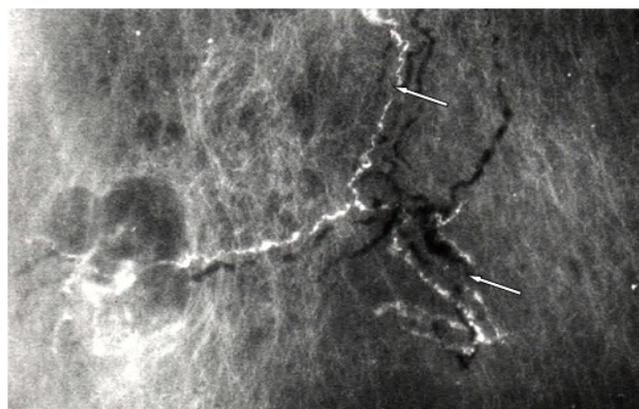


Рис. 2. Адренергические нервные волокна в толще капсулы почечного лимфатического узла. Стрелками указаны слабо светящиеся нервные волокна между варикозными расширениями. Об. 40. Ок. рк $\times 6,3$

Fig. 2. Adrenergic nerve fibers in the capsule thickness renal lymph node. Arrows indicate faintly glowing nerve fibers between varicose veins. Lens 40, Magnification $\times 6.3$

По ходу нервного волокна хорошо выявлялись варикозные расширения, находящиеся на равном расстоянии друг от друга.

При токсическом гепатите в ткани почечной лоханки межварикозные участки нервного волокна флуоресцировали слабее, чем варикозные расширения, а в некоторых участках нервные волокна вообще отсутствовали.

В подадвентициальном сплетении и в слизистой оболочке почечной лоханки флуоресцирующие нервные волокна встречались реже, чем в мышечном. В адвентициальном и мышечном слоях почечной лоханки адренергические нервные волокна сопровождали артериальные сосудистые разветвления. В периваскулярном сплетении транзитно проходящие терминальные волокна давали слабую флуоресценцию (рис. 1).

Если у интактных животных во всех слоях стенки почечной лоханки нам удавалось выявить адренергические нейроны, дающие ярко-зеленую флуоресценцию, которые располагались как одиночно, так и в составе ганглиев, то при токсическом гепатите нейроны отсутствовали, что может быть следствием почечно-печеночной недостаточности.

Таким образом, при токсическом гепатите наиболее подвержены выбросу норадреналина участки нервного волокна между варикозными расширениями, т. е. везикулами, отвечающими за транспорт и освобождение катехоламинов, в частности, норадреналина. У крыс с токсическим гепатитом в стенке почечной лоханки отсутствуют одиночные нейроны, которые обнаруживались у интактных животных. При токсическом гепатите на препаратах лимфоузлов у ворот узла в толще капсулы отдельные адренергические нервные волокна образовывали несложные нервные сплетения (рис. 2). Волокна были тонкими, без терминалей. Варикозные утолщения слабо выражены.

При токсическом гепатите в ткани почек и почечной лоханки наблюдалось снижение флуоресценции адренергических нервных волокон, а также отсутствие одиночных нейронов. При токсическом гепа-

тите в ткани окологпочечных лимфатических узлов нервные волокна в толще имели слабое свечение.

Характерно, что при токсическом гепатите у крыс уменьшались лимфоток, объем плазмы крови и мочеиспускание. Снижалось содержание общего белка в плазме крови, в лимфе и в ИЖ. Происходило нарушение перераспределения воды, общего белка и электролитов в жидких средах организма. Однако одновременно возрастало содержание токсических конечных продуктов азотистого обмена – мочевины и креатинина в плазме крови.

В этих условиях уменьшение резорбции воды из интерстициального пространства в корнях лимфатической системы, снижение процессов лимфообразования и транспорта лимфы по сосудам свидетельствуют о компенсаторной роли лимфатической системы в ответ на повреждающий эффект гепатита, направленный на поддержание объема плазмы крови и гомеостаза организма. Возрастание вязкости крови и лимфы, сокращение времени их свертывания и сдвиг pH в сторону ацидоза, т. е. появление окислительного стресса, сигнализирует об увеличении уровня свободных радикалов в организме. Подобный эффект наблюдали исследователи у детей, страдающих хроническим гепатитом. У них при умеренном обострении заболевания наблюдалось увеличение микровязкости всех слоев мембранных структур лимфоцитов периферической крови с преобладанием нарушений в плазматических мембранах [23].

Из полученного материала видно, что при токсическом гепатите происходит потеря ионов натрия, калия и кальция из крови. В лимфе содержание калия и кальция повышалось, однако параллельно уменьшались лимфоток и диурез, а также экскреция ионов через почки, что неблагоприятно отражается как на минеральном обмене, так и на водном балансе. Токсический гепатит у крыс приводил к уменьшению объема циркулирующей крови и лимфотока, но увеличивал объем внеклеточной воды.

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что при токсическом гепатите у крыс снижается объем циркулирующей плазмы, лимфоток и объем выделяемой мочи и, вероятно, увеличивается объем ИЖ, так как содержание общего белка в ИЖ снижается на 61 % от контрольных данных. Электролиты покидают некоторые водные сектора. Однако содержание электролитов в лимфе возрастает. Вероятно, внеклеточное пространство при токсическом гепатите выполняет компенсаторную функцию как депо жидкости.

Известно, что вода и ряд электролитов депонируется в лимфатической системе и в интерстициальной жидкости. Эти два водных сектора в организме не обладают строгой объемной константой по сравнению с объемом крови. Можно полагать, что при токсическом гепатите в результате поражения печени и других органов и систем нарушается водно-электролитный баланс и происходит перераспределение жидкости и электролитов в водных секторах организма, направленное на поддержание гомеостаза организма в условиях патологии печени.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Абдрешов С. Н. Влияние 4-хлористого углерода на лимфоток и биохимический состав лимфы и плазмы крови // Вестн. НАН РК. – 2005. – № 3. – С. 81–84. [Abdreshov SN. The influence of the 4-chloride of carbon on the lymphatic system and the biochemical composition of lymph and blood plasma. Bulletin of NAS RK. 2005;(3):81–84. (In Russ.)].
2. Abdreshov SN, Demshenko GA. Shifts in the Lymph Flow and the Lymph Composition in Toxic Hepatitis and Their Correction by Protective Substance. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2009;148(3):403–405. Doi: 10.1007/s10517-010-0723-8.
3. Говырин В. А. Адапционно-трофическая функция сосудистых нервов // Развитие науч. наследия акад. Л. А. Орбели. – Л.: Наука, 1982. – С. 169–181. [Govyrin VA. The Adaptive-trophic function of vascular nerve. Development of scientific heritage of Acad. L. A. Orbeli. Leningrad, Nauka, 1982:169–181. (In Russ.)].
4. Влияние тетрахлорметана на показатели иммунной системы // П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук, В. Ф. Киричук, Н. И. Карпенко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2004. – № 1. – С. 47–49. [Zabrodskii PF, Germanchuk VG, Kirichuk VF, Karpenko NI. Effect of tetrachloromethane on the immune system. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2004;(1):47–49. (In Russ.)]. Doi: 10.1023/B:BE BM.0000024384.06935.91.
5. Enders DB, Rude RK. Mineral and bone metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, Aldrich JE, Tietz NW. Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia, W.B. Saunders, 1996:685–703.
6. Abdreshov SN, Demchenko GA, Bulekbaeva LE, Nurmakhanova BA, Nauryzbai UB, Koganezawa UN. Changes of the thyroid hormones concentration and the biochemical parameters features of lymph and blood of rat with hypothyroidism. News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Series of Biological and Medical. 2018;6(330):30–36. Doi: 10.32014/2018.2518-1629.14.
7. Шулутко Б. И. Болезни печени и почек. – СПб.: Ренкор, 1995. – 480 с. [Shulutko BI. Diseases of the liver and kidneys. SPb., Renkor, 1995:480. (In Russ.)].
8. Лобов Г. И. Реологические свойства крупных лимфатических сосудов // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. – 1990. – Т. 76, № 3. – С. 371–377. [Lobov GI. Rheological properties of large lymphatic vessels. Fiziologicheskij zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova. 1990;76(3):371–377. (In Russ.)].
9. Пронько П. С., Сатановская В. И., Горенштейн Б. И. и др. Влияние пирувата, треонина и фосфоэтанолamina на обмен эндогенного ацетальдегида у крыс с токсическим поражением печени // Вопр. мед. химии. – 2002. – Т. 48, № 3. – С. 278–288. [Pronko PS, Satanovskaya VI, Gorenstein BI, Kuzmich AB, Fawn TN. Influence of pyruvate, threonine and phosphoethanolamine on the exchange of endogenous acetaldehyde in rats with toxic liver porazhenie. Questions med. chemistry. 2002;48(3):278–288. (In Russ.)].
10. Маммаев С. Н., Каримова А. Н. Гепаторенальный синдром 1-го и 2-го типа: современное состояние проблемы // Рос. журн. Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. – 2008. – Т. 18, № 60. – С. 4–12. [Mamayev SN, Karimova AN. Hepatorenal syndrome 1-st and 2-nd type: current status problems. The Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2008;18(6):4–12. (In Russ.)].

11. Фишман Б. Б., Куликов В. Е., Ванин К. Ю. и др. Почечная гемодинамика у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени // Бюл. сиб. медицины. – 2008. – № 3. – С. 34–37. [Fishman BB, Kulikov VE, Vanin KY, Kasheva MD, Andreev GN. Renal hemodynamics in patients with chronic diffuse liver diseases. *Bjulleten' sibirskoj mediciny*. 2008;(3):34–37. (In Russ.)].
12. Jwai M, Morikowa T, Muramatsu A, Tanaka G et al. Biological significance of AFP expression in liver injury induced by CCl₄. *Acta. Histochem. et Cytochem*. 2000;33(1):17–22.
13. Бородин Ю. И. Лимфатическая система и старение // Фундам. исслед. – 2011. – № 5. – С. 11–15. [Borodin YuI. Lymphatic system and aging. *Fundamental research*. 2011;(5):11–15. (In Russ.)].
14. Методы исследования гидро-электролитического равновесия / И. Булбука, С. Гаврилеску, Г. Дэйтии, Н. Диаконеску. – Бухарест, 1962. – 190 с. [Vulbica I, Gavrilesku S, Deitch G, Diaconescu N. *Methods of research of hydro-electrolytic equilibrium*. Bucharest, 1962:190. (In Russ.)].
15. Кутина А. В., Наточин Ю. В. Аналоги вазотоцина усиливают экскрецию белков почкой крыс // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2008. – Т. 94, № 11. – С. 1325–1334. [Kutina AV, Natochin YuV. The Analogues of vasotocin increase the excretion of proteins by kidney of rats. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova*. 2008;94(11):1325–1334. (In Russ.)].
16. Наточин Ю. В. Развитие почки и проблемы педиатрической нефрологии // Клин. нефрология. – 2011. – № 4. – С. 4–9. [Natochin YuV. *Ridney Development and problems of pediatric Nephrology*. *Klinicheskaja nefrologija*. 2011;(4):4–9. (In Russ.)].
17. Abdreshov SN, Ibraikhan AT, Alayev IKh. The effect of toxicants on the membrane hydrolysis of the digestive tract in animals. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Series of Agricultural sciences*. 2018;6(48):24–31. Doi: 10.32014/2018. 2224-526X.15.
18. Abdreshov SN, Bulekbaeva LE, Demchenko GA. Lympho- and Hemodynamics in Dogs with Actue Experimental Pancreatitis. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015;159(1):32–34. Doi: 10.1007/s10517-015-2882-0.
19. Aukland RM, Fadnes H. Wick method for measuring interstitial fluid protein concentration. *Asta physiol. Scand*. 1972;84(2):26–32.
20. Метаболические эффекты преднизолонa при экспериментальном токсическом гепатите / А. И. Венгеровский, М. Ю. Коваленко, В. С. Чучалин, Э. В. Сапрыкина // Сиб. мед. журн. – 2000. – № 2. – С. 12–14. [Vengerovskiy AI, Kovalenko MYu, Chuchalin VS, Saprykina EV. *Metabolic effects of prednisolone in experimental toxic hepatitis*. *Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2000;(2):12–14. (In Russ.)].
21. Лобов Г. И., Панькова М. Н., Абдрешов С. Н. Транспортная функция лимфатических узлов у молодых и старых животных // Успехи геронтологии. – 2015. – Т. 28, № 4. – С. 681–686. [Lobov GI, Pan'kova MN, Abdreshov SN. *Transport function of lymphatic node in young and old animals*. *Uspekhi Gerontologii*. 2015;28(4):681–686. (In Russ.)].
22. Titz NW, ed. *Clinical guide to laboratory tests*. 3-rd ed. Philadelphia, Pa, WB Saunders Company, 1995: 518–522.
23. Плазменно-лимфатическое соотношение продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов у крыс с хроническом токсическим гепатитом / М. А. Колпаков, Ю. В. Башкирова, М. С. Любарский, О. П. Грек // Бюл. СО РАМН. – 2001. – № 4. – С. 69–71. [Kolpakov MA, Bashkirov V, lubarsky M, Grek OR. *Plasma and lymph the ratio of the products of lipid peroxidation and antioxidants in rats with chronic toxic hepatitis*. *Bulletin SB RAMS*. 2001;(4):69–71. (In Russ.)].

Информация об авторах

Абдрешов Серик Наурызбаевич – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии лимфатической системы Института физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Республика Казахстан, e-mail: SNABDRESHOV@mail.ru.

Балхыбекова Айгуль Орынбековна, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории физиологии лимфатической системы Института физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Республика Казахстан, e-mail: aigul_bo71@mail.ru.

Демченко Георгий Анатольевич – д-р мед. наук, зав. лабораторией физиологии лимфатической системы Института физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Республика Казахстан, e-mail: georgiidemchenko@mail.ru.

Лобов Геннадий Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: gilobov@yandex.ru.

Information about authors:

Abdreshov Serik N., Candidate of biology Sciences, leading researcher of the laboratory of Physiology lymphatic system Institute of Human and Animal Physiology SC MES of Kazakhstan Republic, Almaty, e-mail: SNABDRESHOV@mail.ru.

Balkhybekova AYGUL O. – Candidate of medical Sciences, researcher of the laboratory of Physiology lymphatic system Institute of Human and Animal Physiology SC MES of Kazakhstan Republic, Almaty, e-mail: aigul_bo71@mail.ru. **Demchenko Georgiy A.** – Doctor of medical Sciences, head of the laboratory of Physiology lymphatic system Institute of Human and Animal Physiology SC MES of Kazakhstan Republic, Almaty, e-mail: georgiidemchenko@mail.ru.

Lobov Gennadiy I. – Doctor of medical Sciences, head of the laboratory of physiology of the cardiovascular and lymphatic systems Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, St-Petersburg, Russia, e-mail: gilobov@yandex.ru.

УДК 612.423

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-80-89

Н. А. БУБНОВА¹, Р. П. БОРИСОВА², Н. А. КУБЫШКИНА²

Теория активного транспорта лимфы: морфофункциональные основы и клинические аспекты

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
195067, Россия, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47
E-mail: bubnova44@list.ru

Статья поступила в редакцию 26.05.20; принята к печати 24.07.20

Резюме

Опубликованы взгляды различных авторов на конструкцию и функцию лимфангиона как основу активного транспорта лимфы. Представлены результаты изменений структуры и сократительной функции лимфангионов в патогенезе лимфедемы, описаны его этапы, что может быть полезным для профилактики и лечения нарушений лимфообращения.

Ключевые слова: лимфатические сосуды, лимфангионы, вазоактивные вещества, сократительная активность, лимфедема

Для цитирования: Бубнова Н. А., Борисова Р. П., Кубышкина Н. А. Теория активного транспорта лимфы: морфофункциональные основы и клинические аспекты. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):80–89. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-80-89.

UDC 612.423

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-80-89

N. A. BUBNOVA¹, R. P. BORISOVA², N. A. KUBYSHKINA²

Theory of active lymph transport: morphofunctional foundations and clinical aspects

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

² North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia
47, Piskarevskii str., Saint Petersburg, Russia, 195067

Received 26.05.20; accepted 24.07.20

Summary

Its given significance of lymphangion as a structural-functional unit in the new theory of structure and functions of the lymphatic system. The construction of lymphangion in pathogenesis of lymph edema is represented. Treatment and prophylaxis must be directed at all parts of the lymphatic system.

Keywords: lymph vessels, lymphangions, vasoactive substances, contractive activity, lymphedema

For citation: Bubnova N. A., Borisova R. P., Kubyshkina N. A. Theory of active lymph transport: morphofunctional foundations and clinical aspects. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):80–89. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-80-89.

Лимфатическая система обеспечивает важнейшую основу состояния здоровья человека, тканевой и водный гомеостаз организма, его иммунный статус. Реализация деятельности лимфатической системы возможна только при полной сохранности ее транспортной функции, обеспечивающей лимфоток. Современная теория активного транспорта лимфы отводит ведущую роль в этом процессе собственной сократительной активности клапанных сегментов лимфатических сосудов – лимфангионов, особенно во внеорганных сосудах. Эта теория не исключает участия сил, описываемых классической теорией лимфообращения (давление вновь образуемой лим-

фы, внемлимфатические силы, сдавливающие сосуды снаружи), но она открывает широкие перспективы для понимания механизмов активации собственно сократительного аппарата лимфангионов в норме, при лимфедеме и других патологических состояниях, а также для поиска патогенетических методов диагностики и лечения.

Исследована структура сократительного аппарата лимфангионов экспериментальных животных, характер их сократительной активности и механизмы нервной и гуморальной регуляции [1–3]. Лимфангион состоит из стенки сосуда и двух клапанов (дистального и проксимального). Мысль о наличии

в сосуде клапанных сегментов (лимфангионов) как структурно-функциональных единиц высказал Е. Horstmann [4, 5]. А. В. Борисов и его многочисленные ученики доказали, что лимфатические сосуды грудного протока и других коллекторных сосудов сомы и внутренностей человека и других млекопитающих животных состоят из лимфангионов, т. е. лимфангион – явление универсальное. Всего в теле человека около 100 000 лимфангионов [6–9].

Строение мышечного аппарата стенки лимфатического сосуда принципиально отличается от такового в венозном сосуде, где он представляет собой непрерывный пласт гладкомышечных клеток, образующих пучки косо-циркулярной ориентации. Лимфатический сосуд сегментирован на лимфангионы, и в каждом из них расположение мышечных пучков максимально приспособлено для выполнения его насосной и емкостной функции. Стенка лимфангиона состоит из мышечной манжетки, клапанного синуса и области прикрепления клапана. Миоциты ориентированы по крутой, пологой и промежуточной спиральям. Максимальное число миоцитов определяется в мышечной манжетке, а в сторону стенки клапанного синуса число этих клеток уменьшается. В стенке лимфангиона определяются две функционально различные мышцы – мышца мышечной манжетки (обеспечивает систолу лимфангиона) и мышца клапанного валика – напрягатель клапана (препятствует ретроградному лимфотоку) (рис. 1).

В створках клапана миоциты не определяются. При этом на срезах трудно отличить ядро миоцита от ядер других соединительнотканых клеток, поэтому сведения о количественной анатомии миоцитов в лимфатических сосудах до сих пор отсутствовали. А. В. Борисовым разработана методика тотального препарата лимфатического сосуда. На ее основе предложена методика количественной анатомии миоцитов [1, 10, 11]. Так, в манжетке лимфангиона грудного протока крысы в сетке Стефанова насчитывается 150 миоцитов, в лимфангионе нижней конечности человека в норме – более 400 миоцитов. Исследование сократительной функции лимфатических сосудов показало, что изолированный лимфангион сосудов нижней конечности человека, грудного протока и кишечного ствола белой крысы, мезентериальных сосудов быка и т. д., помещенный в проточный, оксигенированный раствор Кребса при стабильной температуре 38 °С, начинает спонтанно (без воздействия стимулов) ритмически сокращаться с определенной частотой, т. е. обладает автоматией. При этом могут наблюдаться медленные изменения тонуса (медленные волны), спонтанные или под влиянием стимулов. Это проявления насосной и емкостной функции лимфангиона. Лимфангионы человека обладают спонтанной фазной ритмической активностью с частотой 3–5 в мин, амплитудой в 1000 мН, а также развивают медленные спонтанные тонические волны. Циклы «систола – диастола – пауза» в лимфангионах быка и лимфангионах крысы повторяются с частотой 9–20 в мин. Фазная и тоническая активность неактивных лимфангионов может быть вызвана электростимуляцией и действием вазоактивных веществ.

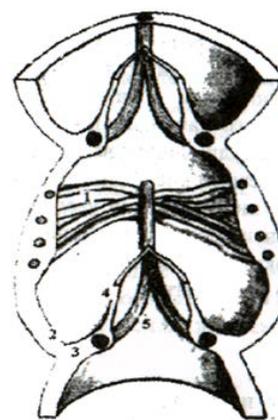


Рис. 1. Конструкция мышечного аппарата лимфангиона (по А. В. Борисову): 1 – мышечная манжетка; 2 – стенка клапанного синуса; 3 – клапанный валик; 4 – створка клапана; 5 – мышца – напрягатель клапана. Количество миоцитов в сетке Стефанова

Fig. 1. Construction of the muscular apparatus of the lymphangion (according to A. V. Borisov): 1 – muscle cuff; 2 – wall of the valve synapse; 3 – valve roller; 4 – valve flap; 5 – muscle-valve tensioner. The number of myocytes in the Stefanov network

В лимфангионах магистральных сосудов экспериментальных животных и человека эволюционно сформировались две группы миоцитов, физиологические свойства которых специализированы в соответствии с выполняемой функцией. Фазный пул миоцитов, подобно миокарду, обладает высокой возбудимостью и проводимостью, активируется пейсмейкером [12], развивает быстрые синхронные сокращения, подчиняющиеся закону «все или ничего», зависящие от внеклеточного кальция. Он выполняет насосную функцию. Тонический пул миоцитов, подобно сосудистым мышцам, активируется медиаторами нервных сплетений, развивает асинхронные медленные сокращения, подчиняется закону силы, менее зависит от внеклеточного кальция. Он создает тонус лимфангионов и регулирует емкость лимфатического русла.

Пейсмейкер лимфангиона располагается в манжетке [1, 13], генерирует ритмические потенциалы действия (ПД), которые мгновенно распространяются на мышечные клетки манжетки и синхронизируют их одновременное фазное сокращение с последующим расслаблением (рис. 2). Помимо главного, в манжетке есть резервные пейсмейкеры, которые проявляют свою автоматию при выключении главного водителя ритма. Это, а также форма ПД и его ионные механизмы в общих чертах аналогичны таковым в сердце. ПД имеет платообразную форму, начинается чуть раньше и далее совпадает по времени с сокращением (систолой) лимфангиона, обеспечивая рефрактерность лимфангиона в этот период. Поэтому в норме фазные сокращения лимфангиона никогда не сливаются в тетанус, даже при интенсивной электрической или химической стимуляции. Соседние лимфангионы могут работать с разной частотой сокращений за счет своих пейсмейкеров, но чаще работают в режиме противофазы. В условиях перфузии лимфангиона быка физиологическим раствором установлено, что систолический объем выброшенного перфузата прямо пропорционален амплитуде сокращения. Можно рассчитать производительность лимфангиона как насоса, умножая систолический объем на частоту

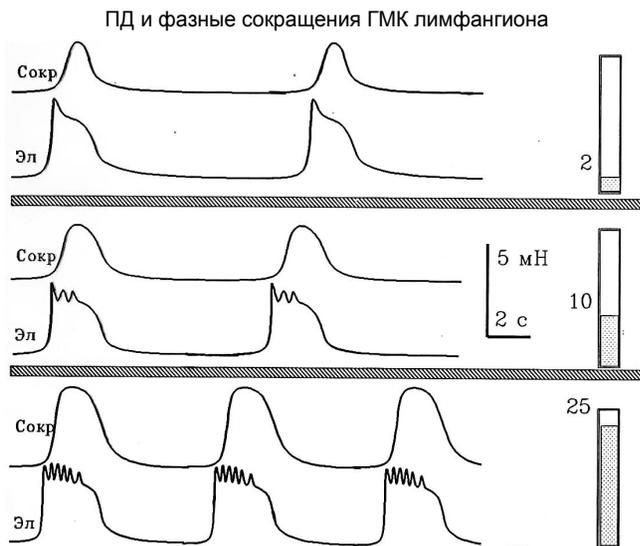


Рис. 2. Влияние эндолимфатического давления на спонтанную электрическую и сократительную деятельность лимфангиона брыжейки быка (2, 10, 25 см вод. ст. – давление перфузата; верхний ряд – сократительная активность лимфангиона; нижний ряд – электрическая активность лимфангиона)

Fig. 2. The effect of endolymphatic pressure on the spontaneous electrical and contractile activity of bull mesenteric lymphangion (2, 10, 25 cm water column – perfusate pressure; upper row – contractile activity of lymphangion; the bottom row is the electrical activity of the lymphangion)

фазных сокращений. В стандартных условиях параметры спонтанной активности лимфангиона остаются постоянными, однако любой фактор, уменьшающий частоту или амплитуду фазных сокращений лимфангионов (изменение электролитного состава среды, температуры, гипоксия и др.), снижает активный транспорт лимфы.

Регуляция параметров фазного сокращения и тонуса осуществляется, в первую очередь, на местном уровне – величиной эндолимфатического давления. В условиях перфузии раствором Кребса лимфангионов брыжейки быка Г. И. Лобовым [4, 11] установлено, что по мере увеличения давления перфузата изменялись параметры электрической и сократительной активности: увеличивалась амплитуда и продолжительность ПД, частота и амплитуда фазных сокращений и, соответственно, объем прокачиваемого перфузата. В естественных условиях эти механизмы обеспечивают увеличение активного транспорта лимфы при увеличении лимфообразования (рис. 2).

Электролитный состав среды существенно влияет на насосную функцию лимфангионов: повышение содержания Ca^{2+} увеличивает, а снижение – прекращает фазные сокращения, умеренное повышение K^+ увеличивает в работающих и даже инициирует фазную ритмическую активность в «молчащих» лимфангионах. Повышение или снижение температуры перфузата на $0,1^\circ$ от исходного уровня соответственно повышает или снижает частоту фазных сокращений. Более существенное снижение температуры прекращает спонтанный ритм.

Роль нервных сплетений в регуляции моторики исследована на лимфангионах крысы с помощью электростимуляции и применения миметиков и блокаторов [12–14]. Установлено, что в лимфангионах

магистральных сосудов крысы и сосудов нижних конечностей человека главную роль играют адренергические сплетения: при малых частотах стимуляции наблюдается торможение спонтанной ритмической активности за счет активации бета-адренорецепторов пейсмекера, при высоких – учащение ритма за счет активации альфа-адренорецепторов. Продолжительность и выраженность ответов увеличиваются в процессе перехода от пороговых частот стимуляции к оптимальным, что свидетельствует о нейрогенном характере влияний. Реакции тонического пула миоцитов на электростимуляцию протекают в основном однонаправленно и одновременно с фазным пулом: расслабление при малых и повышение тонуса при больших частотах стимуляции соответственно.

Адреномиметики в физиологических концентрациях вызывают аналогичные изменения спонтанного ритма и амплитуды фазных сокращений. Норадреналин ($3 \cdot 10^{-9}$ – $3 \cdot 10^{-4}$ М) дозозависимо увеличивает частоту фазных сокращений лимфангионов экспериментальных животных и человека, синхронизирует асинхронные сокращения, инициирует сократительную активность в «молчащих» лимфангионах. Реакции лимфангиона при увеличении концентрации увеличиваются, в норме слияния сокращений и контрактурных ответов не наблюдается. Изопреналин ($1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ М) и адреналин ($5,5 \cdot 10^{-8}$ – $5,5 \cdot 10^{-5}$ М) вызывают разнонаправленные, преимущественно отрицательные хронотропные эффекты, однако в «молчащем» лимфангионе способны вызвать фазные сокращения, а ослабленную сократительную активность – увеличить.

Тонический пул миоцитов человека отвечает на воздействие норадреналина ($3 \cdot 10^{-9}$ – $3 \cdot 10^{-4}$ М) медленным (6–9 мин) сокращением с небольшой амплитудой, достоверно меньшей, чем ответ на КСІ. Тонические сокращения выявлены лишь в 52, 9 % препаратов, обнаруживших реакции фазного пула на это вещество. Изопреналин ($1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ М) и адреналин ($5,5 \cdot 10^{-9}$ – $5 \cdot 10^{-11}$ М) вызывали тонические сокращения или (чаще) расслабления длительностью 5–12 мин и амплитудой 200–360 мкН, однако, в 31,8 % лимфангионах тонические реакции отсутствовали, несмотря на выраженную реакцию фазного пула. Важно подчеркнуть, что все исследуемые лимфангионы обладали исходным тонусом, так как активация бета-адренорецепторов снижала его. Блокада альфа-адренорецепторов дигидроэрготамином ($4 \cdot 10^{-4}$ М) снижала исходный тонус в среднем на 592,5 мкН. Тонические ответы на электростимуляцию обладали выраженной частотной потенциацией и существенно, а в ряде случаев и полностью, блокировались дигидроэрготамином. Следовательно, адренергические нервные сплетения играют главную роль в регуляции фазного и тонического пула миоцитов. В кольцевых сегментах брыжейки быка, а также в сосудах крысы адреномиметики норадреналин и мезатон стимулировали фазную ритмическую активность, аналогичную спонтанной. Эти эффекты были обусловлены влиянием на альфа-адренорецепторы. Торможение ритма наблюдалось при активации бета-адренорецепторов.

С помощью электростимуляции, помимо адренергических, выявлено влияние других нервных

сплетений, использующих в качестве медиатора ацетилхолин (стимуляция), гистамин (преимущественно стимуляция), АТФ (торможение). Однако эти реакции были непостоянными и менее выраженными, чем при воздействии адреномиметиков, но выглядели длительными и высокоамплитудными в лимфангионах резерпинизированных крыс, где выключены механизмы адренергической регуляции. При непосредственном воздействии ацетилхолин ($5,5 \cdot 10^{-8}$ – $5,5 \cdot 10^{-4}$ М) инициирует фазную сократительную активность в «молчащих» лимфангионах человека (в 71 % случаев), учащает ритм фазных сокращений в среднем на 48,2, % с одновременным увеличением амплитуды на 48,0 %. Тонические реакции на ацетилхолин ($5,5 \cdot 10^{-8}$ – $5,5 \cdot 10^{-4}$ М) отсутствовали, но в условиях блокады альфа-адренорецепторов появлялись в виде медленных колебаний тонуса. Атропин ($3 \cdot 10^{-4}$ М) снижает тонус в 37,6 % препаратов в среднем на 250 мкН. АТФ ($1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М) модулирует ритмически фазные сокращения во всех лимфангионах человека, изменяя одновременно частоту и амплитуду. При увеличении частоты (в среднем на 57 %) амплитуда уменьшается, снижение частоты (в среднем на 27 %) сопровождается ростом амплитуды. В одном лимфангионе последовательно могут наблюдаться оба типа реакций. АТФ ($1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М) снижает тонус в среднем на 300 мкН в 51,6 % случаев, в остальных реакции отсутствовали.

Существенную роль в регуляции сократительной активности лимфангионов и приспособлении их насосной и емкостной функции к местным условиям играют тканевые гормоны, выделяемые тучными клетками. Гистологически выявлено большое количество лаброцитов в адвентиции лимфангионов в непосредственной близости к миоцитам. Они образуют тесные контакты с миоцитами и адренергическими нервами [12, 16]. Гистамин ($3 \cdot 10^{-9}$ – $3 \cdot 10^{-5}$ М) изменяет фазную ритмическую активность в 100 % лимфангионов человека, оказывая разнонаправленные влияния в зависимости от концентрации: малые концентрации гистамина преимущественно учащают ритм, нередко увеличивают амплитуду, синхронизируют асинхронные сокращения. Высокие концентрации тормозят фазную активность. Тонические ответы на воздействие гистамина в указанных концентрациях наблюдались в 70,6 % лимфангионов и представляли собой медленные расслабления (в 47,5 % случаев) глубиной в 330 мкН или медленные сокращения (в 23,5 % случаев) амплитудой в 490 мкН. Димедрол ($3,5 \cdot 10^{-5}$ М) в 55,4 % случаев снижает исходный тонус, в 44,6 % случаев уменьшает амплитуду тонических ответов на электростимуляцию на 49,6 %. В лимфангионах грудного протока крысы наблюдается аналогичный характер реакции, в кишечном стволе преобладает стимулирующий эффект. Тонические ответы в основном совпадали по знаку и времени появления с реакциями фазного пула миоцитов.

Серотонин ($1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ М) учащает ритм фазных сокращений лимфангионов человека и животных максимально – на 190,2 %. Амплитуда возрастает при этом до 300 % от исходной. Тонические медленные волны достигают в лимфангионах человека

1500 мкН, амплитуда фазных сокращений при этом не уменьшается. Все стимулирующие эффекты серотонина являются дозозависимыми, блокируются метизергидом ($1 \cdot 10^6$ М). В кольцевых сегментах брыжейки быка серотонин также активирует сократительную активность за счет взаимодействия с Д-серотониновыми рецепторами.

Гепарин (0,3–25 Ед./мл) в лимфангионах крысы вызывает дозозависимые двуфазные изменения параметров сократительной активности: малые концентрации стимулируют, средние и высокое – тормозят. В грудном протоке прирост частоты и амплитуды составляет 153 и 129 %, в лимфангионах кишечного ствола – 173 и 190 % соответственно. Гепарин (2,5–20 Ед./мл) в лимфангионах человека вызывает только тормозные эффекты: снижение ритма в 41,2 % лимфангионов, уменьшение амплитуды в 25 %, снижение тонуса в 33 % лимфангионов. Тормозные эффекты углубляются при увеличении концентрации гепарина вплоть до полного прекращения сократительной активности. Медленное расслабление достигает 270–800 мкН. После отмывания быстро восстанавливаются исходный тонус и исходные параметры фазной ритмической активности.

В ряде экспериментов были использованы кольцевые сегменты лимфатических сосудов брыжейки крупного рогатого скота в условиях перфузии. Действие гепарина (0,1–10 ЕД/мл) оказывало стимулирующее влияние на сократительную активность, которое усиливалось по мере увеличения дозы гепарина. Применение гепарина в более высоких концентрациях (15–50 ЕД/мл) приводило к развитию тормозных эффектов, проявляющихся в снижении амплитуды сокращений и уменьшении ритма фазной спонтанной активности. На фоне предварительного сокращения миоцитов (20 мМ КСl) гепарин в данных концентрациях вызывал выраженное снижение уровня тонического напряжения гладких мышц. Сравнительный анализ данных, полученных на деэндотелизированных сосудах и на сосудах с интактным эндотелием, показал, что обе группы имеют одинаковую направленность изменений сократительной активности, но разную степень выраженности. В сосудах с удаленным эндотелием активирующее действие гепарина в низких концентрациях (0,1–10 Ед./мл) было более выражено; напротив, релаксационные ответы на высокие дозы гепарина (15–50 Ед./мл) были более выражены в сосудах с сохраненным эндотелием. Следовательно, гепарин, как в низких, так и в высоких концентрациях, инициирует высвобождение эндотелием релаксирующего фактора.

Факторы воспаления – интерлейкины – участвуют в местной регуляции моторики лимфангионов. ИЛ-1 ($1,10^{-1}$ – $1,10^{-7}$ г/л) при прямом воздействии на лимфангионы грудного протока и кишечного ствола крысы уменьшал моторику и производительность лимфангионов. ИЛ-2 в тех же концентрациях оказывал умеренное стимулирующее влияние на лимфангионы крысы. К тому же ИЛ-1 ($1,10^{-5}$ г/л) вызывал дозозависимую дегрануляцию лаброцитов – до 30 % и, следовательно, высвобождение тканевых гормонов. Это возможные механизмы вовлечения сократительного

Центральная регуляция моторики лимфангиона



Рис. 3. Схема центральных и местных механизмов регуляции моторики лимфангиона

Fig. 3. Scheme of central and local mechanisms of regulation of motility of lymphangion

аппарата лимфатических сосудов в ответные реакции организма на воспаление.

Гормоны центрального действия существенно изменяют моторику лимфангионов экспериментальных животных и человека. Адреналин в широком диапазоне концентраций, действуя через альфа-адренорецепторы, активизирует моторику в «молчащем» лимфангионе, увеличивает ее параметры, но, действуя одновременно через бета-адренорецепторы, препятствует чрезмерному возрастанию ритма и недостаточному наполнению лимфангиона в диастолу. Окситоцин увеличивает силу и частоту фазных сокращений, повышает тонус лимфангиона. Возможно, эти эффекты связаны с увеличением входа Ca^{2+} в миоциты. Глюкокортикоиды оказывают в зависимости от концентрации как стимулирующие, так и тормозные влияния.

Таким образом, лимфангион можно рассматривать как самостоятельный функциональный элемент лимфатического сосуда. Он обладает специализированным гладкомышечным аппаратом, осуществляющим спонтанные ритмические сокращения и прокачивающим лимфу в центральном направлении, а также поддерживающим собственный тонус. Лимфангион располагает также необходимыми регуляторными механизмами, определяющими параметры его работы в покое, при естественных физиологических нагрузках, в процессе адаптации к патологическим состояниям (рис. 3).

Сократительная деятельность лимфангиона (и гладкомышечного аппарата лимфатического русла в целом) имеет три уровня регуляции. Первый – саморегуляция ритма и силы сокращений в зависимости от уровня эндолимфатического давления. Этим обеспечивается соответствие между объемами диастолического наполнения и систолического выброса и, следовательно, между уровнем образования и уровнем активного транспорта лимфы. Второй уровень регуляции осуществляется местными нервными и гуморальными механизмами, изменяющими насосную и емкостную функции лимфангионов в соответствии с функциональным состоянием региона и уровнем

лимфообразования в нем. Регуляторные гуморальные агенты и лекарственные препараты могут воздействовать на миоциты снаружи, проникая из интерстиция, и изнутри, из лимфы, вовлекая при этом эндотелий и провоцируя выделение эндотелинов. Третий уровень регуляции представлен центральными нервными и гормональными влияниями, подчиняющими интенсивность активного транспорта лимфы интересам всего организма. За счет этих механизмов реализуются лимфомоторные рефлекс при стрессе, снижении ОЦК и АД, при кровопотерях, увеличивающие сброс лимфы в кровеносную систему. При увеличении лимфообразования – в процессе мышечной работы, беременности, а также в патологии при венозной недостаточности, воспалении – соответственно возрастает активный транспорт лимфы и предотвращаются отеки. Это одна из форм участия лимфатической системы в общем адаптационном процессе организма.

Однако транспорт лимфы существенно нарушается при лимфедеме, распространенность ее возрастает в связи с поражением лимфатических структур при лечении онкологических заболеваний. Поэтому пересмотр вопросов патогенеза, диагностики и лечения лимфедемы с новых позиций – ведущей роли активного транспорта лимфы – представляется актуальным. Авторами (А. В. Борисов, Р. П. Борисова, Н. А. Бубнова) выполнена комплексная морфо-функциональная оценка состояния сократительного аппарата лимфангионов сосудов нижней конечности человека в норме и при лимфедеме в сочетании с клинической картиной заболевания [12, 14, 15]. Исследованы структура, моторика и реактивность изолированных лимфангионов лимфатических сосудов нижней конечности человека в норме ($n=28$) и при лимфедеме ($n=79$), взятых при реконструктивных операциях. Установлено, что изолированные лимфангионы человека в норме обладают спонтанной ритмической активностью с частотой около 4 в мин, амплитудой 1000 мН и формируют медленные изменения тонуса. Все механизмы нервной и гуморальной регуляции моторики и реактивность

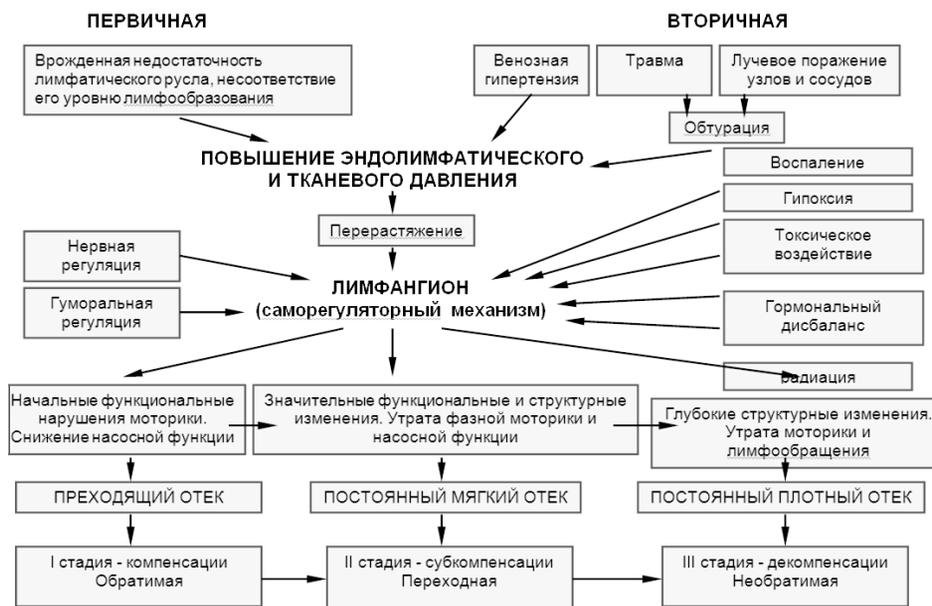


Рис. 4. Схема формирования первого и последующих этапов лимфедемы

Fig. 4. Scheme of the formation of the first and subsequent stages of lymphedema

лимфангионов нижней конечности человека не имеют принципиальных отличий от описанных выше для лимфангионов экспериментальных животных. Следовательно, параметры спонтанных ритмических сокращений лимфангионов нижней конечности человека также формируются в результате интеграции местных и центральных влияний на пейсмейкер, миоциты фазного и тонического пула.

Патогенетические факторы (дисплазия и обструкция лимфатических путей, воспаление, травма, венозная недостаточность и др.) приводят к стойкому повышению эндолимфатического давления и нарушают тончайший баланс регуляторных влияний, контролирующих электрические и сократительные процессы в лимфангионе. Формируется гиперреактивность: снижение порогов чувствительности к естественным эндогенным регуляторам, увеличение частоты и снижение амплитуды фазных сокращений. Регистрируется повышение тонуса и переход в контрактурное сокращение длительностью более 10 мин. Это снижает насосную функцию лимфангионов и дополнительно повышает эндолимфатическое давление. В других лимфангионах выявляется реакция гипореактивности: пороги чувствительности повышаются, реакции на естественные эндогенные регуляторы извращаются. Норадреналин, серотонин в физиологических концентрациях не увеличивают (как обычно), а снижают параметры фазной активности и даже полностью тормозят насосную функцию. Формируется порочный круг, существенно нарушающий функциональное состояние сократительного аппарата лимфангионов и приводящий в дальнейшем к появлению структурных нарушений. Механизм активного транспорта лимфы постепенно разрушается, что способствует появлению переходящего отека (рис. 4).

Этот первый этап начальных структурно-функциональных нарушений остается почти незамеченным самим больным и, к сожалению, редко попадает в поле зрения врача, но именно на этом этапе коррекция возникших изменений является наиболее эффективной. Фармакологическая поддержка мото-

рики лимфангионов и снижение эндолимфатического давления могут восстановить их насосную функцию.

Второй этап характеризуется значительными функциональными и структурными изменениями. Значительно снижается насосная функция лимфангионов, формируется постоянный отек. Это связано с существенным повреждением мышечного слоя манжетки, разрушением миоцитов и нексусов, изменением формы лимфангионов и уменьшением их количества. Третий этап выражается полным разрушением структуры и функции мышечного аппарата лимфангионов, отсутствием сократительной активности и прекращением активного транспорта лимфы (рис. 5).

Сосуды утрачивают сегментацию на лимфангионы, утрачивают тонус, склерозируются. Отек становится плотным, конечность существенно увеличивается в объеме.

Классические подходы к анализу лимфограмм позволяют оценить степень развития лимфатического русла, целостность лимфатических сосудов и степень сохранности их пропускной способности. В связи с изменением в последние десятилетия взглядов на основные механизмы лимфотока нами предложен новый подход к анализу лимфограмм, при котором особое внимание уделяется состоянию и функции лимфангионов сосудистого русла.

А. В. Борисовым на основании проведенных исследований на лабораторных животных установлено, что в норме лимфангионы в фазе диастолического наполнения хорошо контурируются и внешне напоминают веретено. В случае значительного тугого наполнения калибр лимфангиона продолжает увеличиваться, а длина сокращаться, и цепочка лимфангионов становится похожей на бусы. В фазе систолы лимфангион выбрасывает содержимое в соседний центральный лимфангион, при этом «веретено» уменьшается по всем параметрам, особенно в диаметре. На высоте сокращения лимфангион почти не виден. Соседние лимфангионы могут работать в противофазе, тогда сосуд представляет собой последовательность из

**Формы фазной сократительной активности
в биоптатах сосудов нижней конечности
у больных лимфедемой**

Данные микроскопии:
количество миоцитов
в сетке Стефанова

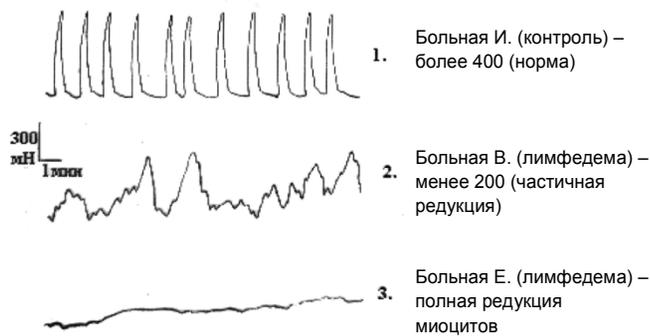


Рис. 5. Сравнение характера моторики лимфангионов и сохранности миоцитов в норме и при лимфедеме

Fig. 5. Comparison of the motility of lymphangions and the preservation of myocytes in normal and with lymphedema

чередующихся расслабленных и сокращенных лимфангионов. Мелкокалиберные сосуды при сокращении нескольких лимфангионов одновременно могут иметь вид четок (сокращенные лимфангионы почти не видны, а контрастируются лишь тонкие клапанные синусы, растянутые содержимым). На основании этих исследований предложен новый способ диагностики функции лимфатических сосудов по лимфограммам [10]. Если сосуд, по данным лимфографии, сегментирован на лимфангионы, которые имеют форму «веретен», «бус» или «четок», то можно считать, что сократительный аппарат лимфатического сосуда сохранил свои функциональные свойства. Если сосуд не сегментирован на лимфангионы, имеет форму трубы, то сократительный аппарат лимфангионов свои структурные и функциональные свойства утратил. При этом активный транспорт лимфы невозможен.

Выявленные периодические изменения диаметра лимфатических сосудов не являются случайными признаками. Анализ повторных лимфограмм, выполненных с разными временными интервалами (от 1 недели до 2–3 лет), показал постоянство наблюдаемой картины. Поэтому можно утверждать, что сегментация сосуда на лимфангионы, а также форма и длина последних являются постоянными характеристиками, отражающими состояние сократительной активности лимфангионов.

Диаметр сосуда и отдельных лимфангионов – величины переменные, зависящие от уровня эндолимфатического давления и тонуса сосудов. Поэтому, наряду с формой и длиной лимфангионов, эти показатели могут отражать динамику эндолимфатического давления и изменения сократительной функции лимфатических сосудов. При нарастании эндолимфатического давления по мере израсходования компенсаторного резерва и разрушения сократительного аппарата «веретена» постепенно переходят «бусы», а затем (в патологии) и в «трубы». Лимфатические сосуды в форме трубы свидетельствуют о необратимых нарушениях моторики их лимфангионов. При повторных исследованиях в таких сосудах нам ни разу не удалось обнаружить в них ни одного сокращения.

С представленных позиций детально проанализированы лимфограммы 526 больных первичной и

вторичной лимфедемой, а также 30 лиц без признаков нарушения лимфообращения в конечностях (контрольная группа). На основании оценки перечисленных показателей выделены три основных типа сохранности сократительной функции лимфатических сосудов.

1. Полная сохранность моторики лимфатических сосудов (сегментация всех сосудов на лимфангионы с преобладанием формы «веретена»; наличие значительного количества сокращенных лимфангионов).

2. Частичное нарушение моторики лимфатических сосудов (наличие сегментации на лимфангионы с преобладающими формами «бус» и «четок», часто сопровождающееся увеличением калибра сосудов; появление фрагментов «труб», малое количество сокращенных лимфангионов)

3. Полная утрата моторики лимфатических сосудов (отсутствие сегментации на лимфангионы; сосуды в форме «трубы»; отсутствие сокращенных лимфангионов).

Проведенный анализ указанных показателей лимфограмм здоровых людей (контрольная группа) показал, что в норме среднее количество сосудов возрастает в направлении: голень – область коленного сустава – бедро ($4,26 \pm 0,33$; $5,55 \pm 0,68$ и $5,80 \pm 0,71$ соответственно). Из них количество сегментированных сосудов составило в тех же сегментах конечностей соответственно 83,8, 86,2 и 84,7 %. При первичной лимфедеме общее число сосудов в этих же отделах было в 2 раза ниже, чем в норме, из них количество сегментированных составило 18,3, 52,6 и 30,0 % соответственно.

У больных вторичной лимфедемой также наблюдалось снижение общего количества сосудов и число сегментированных. Однако снижение было менее выраженным, чем у пациентов с первичной формой заболевания. Относительное количество сегментированных сосудов составило в соответствующих сегментах конечности 33,9, 64,1 и 72,5 %. Наименьшее относительное число сегментированных на лимфангионы сосудов на голени объясняется тем, что здесь для самого раннего нарушения сократительной функции лимфангионов имеются следующие условия: небольшое количество сосудов в норме; небольшой их калибр и мощность мышечного слоя; широкий диапазон уровней лимфообразования в покое и при нагрузке; действие силы тяжести; повышенное интерстициальное и венозное давление при вертикальном положении тела.

При изучении калибра сосудов обнаружены следующие закономерности: при первичной лимфедеме выявляется снижение калибра с развитием склероза стенки сосуда; при вторичной – увеличение калибра и снижение тонуса сосуда, особенно на уровне голени. На уровне бедра при вторичной форме заболевания отмечено уменьшение калибра лимфатических сосудов, что может быть связано с выраженными склерозирующими процессами в ближайших сосудах на фоне блока лимфооттока в паховых лимфатических узлах. Предлагаемый способ оценки сократительной деятельности лимфатических сосудов конечностей по форме их контуров не имеет аналогов.

Изучение лимфографических критериев сохранности моторной функции лимфатических сосудов в

условиях недостаточности лимфообращения позволило выявить ряд закономерностей.

1. Определение преобладающей формы лимфангионов в сосудистой сети показало, что при лимфедеме полноценные сосуды с преобладанием «веретен» составляют меньшинство или вообще отсутствуют. Параллельно увеличивается количество сосудов в форме «трубы», не способных к активному транспорту лимфы.

2. При сравнении сохранности сократительной функции сосудов на разных уровнях нижней конечности отчетливо прослеживается тенденция к более выраженным патологическим изменениям в лимфатических сосудах голени. Здесь выявлено минимальное количество сосудов, малое количество сегментированных на лимфангионы в форме «веретен», преобладание сосудов в форме «трубы».

3. При первичной лимфедеме в большей степени, чем при вторичной, поражается сократительный аппарат лимфангионов. На фоне врожденной гипоплазии прослеживается во всех сегментах конечности преобладание сосудов в форме «трубы», сохранивших пропускную способность, но утративших насосную функцию.

Сопоставление лимфографической картины лимфатического русла при лимфедеме с результатами электронной и световой микроскопии биоптатов, взятых при операции у этих же больных, показало, что в сосудах, утративших сегментацию на лимфангионы, резко снижено количество миоцитов в манжетке, наблюдается разрушение клеточных структур. Выявлена также четкая корреляция структурных и функциональных нарушений: у больных с преобладанием на лимфограмме сегментированных сосудов биоптаты обнаруживают хорошую сократительную активность и адекватные реакции на биологически активные вещества (адреналин, гистамин и т. д.). В случае преобладания на лимфограмме сосудов в виде «трубы» биоптаты у этих больных не обладают спонтанной сократительной активностью. Клиническая картина заболевания и результаты лечения тесно связаны с состоянием сократительного аппарата лимфангионов: чем более выражены морфофункциональные признаки его поражения, тем ярче картина недостаточности лимфотока и неблагоприятнее прогноз.

Таким образом, новая теория активного транспорта лимфы, изучение структуры и функциональной роли лимфангионов в норме и при лимфедеме, описание лимфографических критериев степени сохранности сократительного аппарата лимфангионов создают новые подходы для ранней диагностики, патогенетического лечения и профилактики патологии лимфообращения.

Исследовано прямое воздействие на сократительную активность лимфангионов человека и животных основных групп препаратов, используемых в клинике для коррекции кровообращения и лимфообращения [12, 16].

Папаверин и Дибазол ($1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М) вызывали дозозависимое угнетение спонтанного ритма и расслабление лимфатических сосудов. Эффекты Но-шпы на лимфатические сосуды проявлялись в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М в виде повышения частоты

спонтанных сокращений и снижения тонуса. Повышение концентрации исследуемого вещества вызывало не только положительный хронотропный эффект и расслабление, но приводило к появлению отрицательного инотропного эффекта. Начиная с концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ М, Но-шпа оказывала двуфазное действие. Первоначально происходило увеличение частоты спонтанных сокращений гладких мышц лимфатических сосудов, снижение амплитуды и повышение тонуса, с последующим угнетением спонтанных сокращений и снижением тонуса до исходного уровня и ниже. Эуфиллин ($2 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М) снижал амплитуду и частоту сокращений, и тонус сосудов. В более высоких концентрациях он оказывал двуфазный эффект – сначала полностью угнетал спонтанный ритм на фоне расслабления, а затем вызывал повышение тонуса выше исходного уровня.

Влияния Строфантина К на гладкие мышцы лимфатических сосудов в концентрациях от $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ г/л проявлялось в виде повышения частоты сокращений и снижения их амплитуды на фоне нарастающего тонуса. При действии Строфантина К в дозе $1 \cdot 10^{-6}$ г/л и выше спонтанные сокращения полностью угнетались на фоне нарастающего тонического сокращения. При отмывании препаратов нормальным раствором Кребса в течение 10–15 мин происходило полное восстановление исходных параметров сократительной активности. В ряде экспериментов изучались сочетанные эффекты Строфантина К и Эуфиллина на лимфатические сосуды. На фоне тонического сокращения, вызванного Строфантином в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/л, эуфиллин в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/л вызывал дополнительный прирост тонического сокращения сосудов на 200–300 %. Можно предположить, что Строфантин К в низких концентрациях будет усиливать лимфоток, а в высоких – снижать. Сочетанное применение Строфантина К и Эуфиллина будет вызывать залповый выброс лимфы в кровеносное русло с последующим существенным угнетением.

Исследование препаратов, оптимизирующих кровоток и микроциркуляцию, показало, что, увеличивая лимфообразование, они по-разному влияют на активный транспорт лимфы. Компламин в малых концентрациях ($1 \cdot 10^{-9}$ г/л) увеличивает частоту фазных сокращений лимфангионов крысы и человека. Дальнейшее увеличение концентрации приводит к урежению фазных сокращений, а при достижении концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/л происходит полное прекращение моторики лимфангиона. Торможение спонтанного ритма лимфангионов сохраняется и становится более выраженным на фоне блокады бета-адренорецепторов, следовательно, оно не связано с активацией последних.

Трентал также действует двухфазно на лимфангионы крысы, повышая частоту сокращений в малых концентрациях ($1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ г/л), но урежая ритм или полностью угнетая моторику в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ г/л. В лимфангионах человека торможение моторики происходит уже при концентрации $1 \cdot 10^{-9}$ г/л, а полные прекращения моторики наблюдается при $1 \cdot 10^{-6}$ г/л. При этом расчетная терапевтическая концентрация Трентала в тканях составляет примерно $1 \cdot 10^{-4}$ г/л, следовательно, она может оказаться губи-

тельной для активного транспорта лимфы. Никотиновая кислота также угнетает сократительную активность лимфангионов человека. Сходные эффекты трех вышеперечисленных веществ связаны, вероятно, с общностью строения их молекул.

Солкосерил ($1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ г/л) в пороговых и максимальных дозах увеличивает частоту и амплитуду фазных сокращений лимфангионов крысы (максимально до 195 %), а средние концентрации оказывают тормозное влияние (до 58 % от исходного). В лимфангионах человека обнаружены лишь стимулирующие влияния всех концентраций (максимально до 170 %) и инициация сократительной активности в «молчащих» лимфангионах.

Троксевазин в широком диапазоне концентраций ($1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ г/л) вызывает дозозависимое увеличение частоты и амплитуды фазных сокращений лимфангионов крысы и человека, а также инициирует сократительную активность в неактивных лимфангионах. Важно подчеркнуть, что при средних концентрациях Троксевазина происходит снижение тонуса, на фоне которого существенно возрастают амплитуда и, соответственно, насосная функция лимфангиона.

Индукторы эндогенного интерферона представляют собой новый класс противовирусных, противоопухолевых и иммуномодулирующих препаратов. Циклоферон – перспективный индуктор синтеза интерферонов, который обладает собственным (не только опосредованным через эндогенный интерферон) иммуномодулирующим действием. Циклоферон является низкомолекулярным индуктором интерферона на основе акридонуксусной кислоты. Установлена высокая эффективность препарата в комплексной терапии острых и хронических бактериальных и вирусных инфекций. Однако данных о влиянии данных препаратов на транспортную функцию лимфатических сосудов в литературе нами не найдено. Циклоферон в отношении сократительной функции лимфатических сосудов оказывает выраженный дозозависимый эффект. При действии в концентрации $6 \cdot 10^{-4}$ г/л вызывает увеличение амплитуды (на $63 \pm 5,7$ %) и снижение частоты (на $25 \pm 3,7$ %) фазных сокращений на изолированных участках мезентериальных лимфатических сосудов быка, существенного влияния на тонус гладкомышечных клеток не обнаружено. В концентрации $12 \cdot 10^{-4}$ г/л циклоферон повышал тонус (на $30 \pm 2,3$ %), амплитуда фазных сокращений уменьшалась на $35 \pm 3,7$. Учитывая высокую скорость развития эффекта, следует полагать, что препарат оказывает непосредственное влияние на миоциты лимфатических сосудов.

Экспериментальные исследования антибиотиков из группы пенициллина (бензилпенициллина натриевая соль), цефалоспоринов (клафоран) и аминогликозидов (гентамицина сульфат) в концентрациях, наиболее часто применяемых в клинической практике, проводились на изолированных участках лимфатических сосудах брыжейки быка, содержавших лимфангион со своим клапаном и проксимальный клапан от следующего лимфангиона. Производилась регистрация продольного и поперечного смещения препарата, а также величины систолического выброса.

С использованием этих данных определялись частота сокращений и величина минутного объема.

Бензилпенициллина натриевая соль исследовалась в двух дозах – 1 млн и 2 млн Ед. С дозой 1 млн было проведено 8 перфузий. При этом систолический объем уменьшался до 46,6 % от исходного, при этом частота сокращений возрастала до 126,2 %, что поддерживало минутный объем на уровне 50,7 %. При повышении дозы до 2 млн Ед наблюдалось уменьшение систолического объема до 39,3 %, при этом частота сокращений увеличивалась до 144,7 %, минутный объем уменьшался до 47,4 % от исходного. Раствор Клафорана исследовался в концентрации 2,5 г/л и 5 г/л, было проведено по 12 перфузий. При перфузии раствором Клафорана в концентрации 2,5 г/л отмечалось уменьшение систолического объема до 81,1 % от исходного, минутного объема до 71,4 %, а также наблюдалось уменьшение частоты сокращений до 87,3 %. При увеличении концентрации до 5 г/л было выявлено более выраженное уменьшение систолического и минутного объемов. Так, систолический объем достоверно уменьшался до 51,6 % от исходного, минутный объем – до 48,1 %, частота сокращений не изменялась (96,5 %). Действие гентамицина сульфата изучалось также в двух концентрациях: 8 и 16 г/л. С концентрацией 8 г/л было проведено 5 перфузий: во всех случаях на 2-й минуте действия антибиотика происходило полное обратимое угнетение сократительной и насосной функции лимфангиона. При увеличении концентрации до 16 г/л во всех случаях наблюдалось полное угнетение сократительной деятельности лимфатических сосудов.

На основании полученных экспериментальных данных можно предположить, что все исследуемые растворы антибиотиков угнетают сократительную активность гладкомышечных клеток лимфатических сосудов и снижают систолический выброс лимфангионов, что приводит к уменьшению лимфотока. Однако действие этих растворов антибиотиков на насосную функцию лимфангионов неодинаково. Так, раствор Клафорана в меньшей степени блокирует сократительную активность лимфатических сосудов, чем бензилпенициллина натриевая соль. При перфузии же раствором гентамицина сульфата наблюдается полное угнетение функциональной деятельности лимфангионов. Это, в свою очередь, дает основание предполагать, что применение раствора гентамицина сульфата ведет к созданию быстрого и продолжительного искусственного блока в сосудистом русле, при этом создается возможность более длительного контакта антибиотика с микроорганизмами в очаге воспаления. С другой стороны, представляется вполне допустимым, что раствор Клафорана может действовать на отдаленные от места введения очаги воспаления, так как незначительно угнетает транспортную функцию лимфатических сосудов и не приводит к полному блоку сократительной активности лимфангионов.

Следовательно, при выборе фармакологических препаратов для коррекции микроциркуляции, функции вен и лимфатических сосудов, лимфотропной и эндолимфатической терапии следует учитывать

характер их прямого воздействия на сократительный аппарат сосуда, его регуляторные механизмы и возможность нежелательных изменений активного транспорта лимфы и венозного оттока. Таким образом, новая теория активного транспорта лимфы, изучение структуры и функциональной роли лимфангионов в норме и при лимфедеме, описание лимфографических критериев степени сохранности сократительного аппарата лимфангионов создают новые подходы для ранней диагностики, лечения и профилактики патологии лимфообращения.

Все рисунки, использованные в настоящей статье, являются интеллектуальной собственностью авторского коллектива.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Breslin JW, Yang Y, Scallan JP, Sweat RS, Adderley SP, Murfee WL. Lymphatic Vessel Network Structure and Physiology. *Compr Physiol*. 2018 Dec 13;9(1):207–299. Doi: 10.1002/cphy.c180015.
2. von der Weid PY, Rahman M, Imtiaz MS, van Helden DF. Spontaneous transient depolarizations in lymphatic vessels of the guinea pig mesentery: pharmacology and implication for spontaneous contractility. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008 Nov;295(5):H1989–2000. Doi: 10.1152/ajpheart.00007.2008.
3. Поташиов Л. В., Бубнова Н. А., Борисов А. В. и др. Хирургическая лимфология. – СПб.: СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2000. [Potashov LV, Bubnova NA, Borisov AV et al. *Surgical lymphology*. SPb., 2000. (In Russ.)].
4. Лобов Г. И. Механизмы регуляции активной транспортной функции лимфатических сосудов // Иммуногенез и лимфоток. – СПб.: СПбГМА, 2001. – Вып. 2. – С. 17–25. [Lobov GI. Mechanisms of regulation of the active transport function of the lymphatic vessels. *Immunogenesis and lymph flow*. St. Petersburg, SPbGMA, 2001;2:17–25. (In Russ.)].
5. Semo J, Nicenboim J, Yaniv K. Development of the lymphatic system: new questions and paradigms. *Development*. 2016 Mar 15;143(6):924–935. Doi: 10.1242/dev.132431.
6. Yuan KC, Fang JF, Hsieh SY, Shih HN. Comparative proteomic analysis of rodent plasma and mesenteric lymph. *Chin J Physiol*. 2013 Jun 30;56(3):163–173. Doi: 10.4077/CJP.2013.BAB116.
7. Wang Y, Baeyens N, Corti F, Tanaka K, Fang JS, Zhang J, Jin Y, Coon B, Hirschi KK, Schwartz MA, Simons M. Syndecan 4 controls lymphatic vasculature remodeling during mouse embryonic development. *Development*. 2016 Dec 1;143(23):4441–4451. Doi: 10.1242/dev.140129.
8. Орлов Р. С., Борисова Р. П. Сокращения лимфатических сосудов, их регуляция и функциональная роль // Вестн. АМН СССР. – 1982. – № 7. – С. 75–83. [Orlov RS, Borisova RP. Contraction of the lymphatic vessels, their regulation and functional role. *West. USSR Academy of Medical Sciences*. 1982;7:75–83. (In Russ.)].
9. Орлов Р. С., Борисов А. В., Борисова Р. П. Лимфатические сосуды. Структура и механизмы сократительной

активности. – Л.: Наука, 1983. – 254 с. [Orlov RS, Borisov AV, Borisova RP. *Lymphatic vessels. The structure and mechanisms of contractile activity*. Leningrad, Nauka, 1983:254. (In Russ.)].

10. Борисов А. В. Функциональная морфология лимфангиона. Лимфатический сосуд. – Л.: ЛСГМИ, 1984. – С. 5–13. [Borisov AV. *Functional morphology of the lymphangion. Lymphatic vessel*. Leningrad, LSGMI, 1984:5–13. (In Russ.)].

11. Лобов Г. И., Кубышкина Н. А. Сократительная функция лимфатических сосудов при ацидозе // Структурно-функциональные основы организации лимфатической системы. – СПб.: СПбГМА, 1998. – С. 84–86. [Lobov GI, Kubyshkina NA. Contractile function of the lymphatic vessels with acidosis. *Structural and functional foundations of the organization of the lymphatic system*. SPb, SPbGMA, 1998:84–86. (In Russ.)].

12. Орлов Р. С., Борисова Р. П., Бубнова Н. А. и др. Лимфатические сосуды: тонус, моторика, регуляция // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. – 1991. – С. 63. [Orlov RS, Borisova RP, Bubnova NA, Gashev AA, Erofeev NP, Lobov GI, Pankova MN, Petunov SG. *Lymphatic vessels: tone, motility, regulation*. *Physiological Journal of the USSR named after I. M. Sechenov*. 1991:63. (In Russ.)].

13. Ерофеев Н. П., Вчерашний Д. Б. Современные представления о физиологии лимфотока // Медицина XXI век. – 2006. – Т. 3, № 4. – С. 40–43. [Erofeev NP, Vcherashnii DB. *Modern ideas about the physiology of lymph flow*. *Medicine XXI century*. 2006;3(4):40–43. (In Russ.)].

14. Борисов А. В. Конструкция лимфангиона в норме и патологии // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2005. – Т. 2, № 14. – С. 66–68. [Borisov AV. *The design of the lymphangion is normal and pathological*. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2005;2(14):66–68. (In Russ.)].

15. Борисов А. В. Анатомия лимфангиона. – Нальчик: Полиграфсервис, 2007. – 296 с. [Borisov AV. *Anatomy of the lymphangion*. Nalchik, Polygraphservice, 2007:296. (In Russ.)].

16. Horstman E. *Über die funktionelle struktur die mesenterialen lymphgefasse*. *Morph. Jb*. 1952;91(4):583–610.

Сведения об авторах

Бубнова Наталья Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры общей хирургии, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: bubnova44@list.ru.

Борисова Римма Павловна – д-р мед. наук, профессор, Северо-Западный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: proff.borisova@mail.ru.

Кубышкина Наталья Александровна – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной физиологии, Северо-Западный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: natkub@mail.ru.

Information about authors

Bubnova Natalya A. – MD Professor of the Department of General Surgery, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: bubnova44@list.ru.

Borisova Rimma P. – MD Professor, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia, e-mail: proff.borisova@mail.ru.

Kubyshkina Natalya A. – Associate Professor of the Department of Normal Physiology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia, e-mail: natkub@mail.ru.

УДК 616-005.3
DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98

Н. Н. ПЕТРИЩЕВ¹, О. В. ХАЛЕПО², Ю. А. ВАВИЛЕНКОВА²,
Т. Д. ВЛАСОВ¹

COVID-19 и сосудистые нарушения (обзор литературы)

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Смоленск, Россия
214019, Россия, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28
E-mail: lazmed@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 29.06.20; принята к печати 31.07.20

Резюме

Обзор посвящен вопросам патогенеза заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, внедрение которого в клетки человека опосредовано ангиотензин-превращающим ферментом-2 и рядом других клеточных рецепторов, что вызывает дисбаланс в ренин-ангиотензиновой системе, вазоконстрикцию и провоспалительный эффект. Ангиотензин-превращающий фермент-2 представлен на клетках альвеолярного эпителия, что определяет поражение дыхательной системы, повреждение эндотелия сосудов легких, способствует развитию острого респираторного дистресс-синдрома и является важнейшим звеном патогенеза их повреждения при COVID-19. Экспрессия ангиотензин-превращающего фермента-2 на эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов при инфицировании вирусом SARS-CoV-2 способствует вовлечению сердечно-сосудистой системы в системное повреждение, а развитие «эндотелиита», чему способствует и гиперцитокинемия, приводит к основным проявлениям заболевания и системному нарушению микроциркуляции в различных органах, исследование состояния которой имеет прогностическое значение и определяет подходы к патогенетической терапии, особенно у критических пациентов. Системная дисфункция эндотелия, развивающаяся при COVID-19, во многом определяет и нарушения системы гемостаза. Предпосылки интенсивной адгезии тромбоцитов к эндотелию, их агрегации и образованию тромбоцитарных тромбов, которые выявляются у больных, умерших от COVID-19, нарушение функциональной активности системы фибринолиза могут определяться активацией эндотелия, а сохранение антикоагулянтной активности крови отличает коагулопатию у таких больных от типичного ДВС-синдрома. Мониторинг состояния системы гемостаза при COVID-19 важен для оценки тяжести и прогноза заболевания, своевременной коррекции выявленных нарушений.

Ключевые слова: вирус SARS-CoV-2, патогенез повреждения COVID-19, ангиотензин-превращающий фермент-2, ренин-ангиотензиновая система, дисфункция эндотелия, микроциркуляция, система гемостаза

Для цитирования: Петрищев Н. Н., Халепо О. В., Вавиленкова Ю. А., Власов Т. Д. COVID-19 и сосудистые нарушения (обзор литературы). Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):90–98. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98.

UDC 616-005.3
DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98

N. N. PETRISHCHEV¹, O. V. KHALEPO², Y. A. VAVILENKOVA²,
T. D. VLASOV

COVID-19 and vascular disorders (literature review)

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

² Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia
28, Krupskoy str., Smolensk, Russia, 214019
E-mail: lazmed@yandex.ru

Received 29.06.20; accepted 31.07.20

Summary

The review describes pathogenesis of the disease caused by the new SARS-CoV-2 virus. It infects the human cells by linking angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) and a number of other receptors. The virus imbalances the renin-angiotensin system, results to vasoconstriction and acts like pro-inflammatory agent. ACE2 is exposed on the alveolar epithelium cell surface. It is the main gates for virus entering and damaging of the respiratory system resulted in an acute respiratory distress syndrome. The injuring of the pulmonary vessel endothelium is the most important part of the COVID-19 pathogenesis. ACE2 of the endothelial and smooth muscle cell surface upon the SARS-CoV-2 infection facilitates the injury of cardiovascular system. The development of endotheliitis induced by «cytokine storm» leads to the main signs of the disease and the multiple

disorder of the microcirculation. The investigation of that condition has a prognostic value and determines the treatment especially in critically ill patients. Systemic endothelial dysfunction upon the COVID-19 largely triggers the hemostasis disorders. High activity of platelets adhesion and aggregation, blood coagulation in died COVID-19 patients, disorder of fibrinolysis system functional activity could be induced by the endothelium activation. The unchanged anticoagulation blood activity in the COVID-19 patients distinguishes them from the patients with disseminated intravascular coagulation. Monitoring of the hemostasis system in COVID-19 is important for the disease severity assess and its prognosis, for just-in-time correction of detected deviations.

Keywords: SARS-CoV-2 virus, pathogenesis of COVID-19 injury, angiotensin-converting enzyme-2, renin-angiotensin system, endothelial dysfunction, microcirculation, hemostasis system

For citation: Petrishchev N. N., Khalepo O. V., Vavilenkova Y. A., Vlasov T. D. COVID-19 and vascular disorders (literature review). *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2020;19(3):90–98. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98.

SARS-CoV-2 и его рецепторы на клетках сосудов

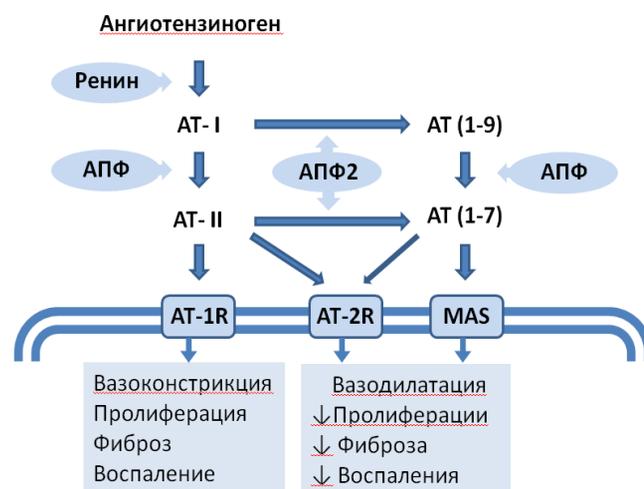
Патогенез заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, во многом объясняется входными воротами этого вируса и последствиями его внедрения в клетки. В настоящее время обсуждается возможность нескольких мембранных белков для внедрения вируса. Было высказано предположение о том, что внедрение SARS-CoV-2 в клетки человека опосредовано ангиотензин-превращающим ферментом-2 (АПФ2). АПФ2 – особый фермент ренин-ангиотензиновой системы. Его активное изучение началось после 2002 г. на фоне исследований, связанных с эпидемией, вызванной другой коронавирусной инфекцией – SARS-CoV – возбудителем тяжелого острого респираторного синдрома (атипичной пневмонии). Для вируса SARS-CoV-2 этот белок также является входными воротами [1]. Математическое моделирование рецептор-связывающего домена SARS-CoV-2 показало, что его аффинность к АПФ2 в 10–20 сильнее, чем SARS-CoV, что может иметь большое значение в распространении инфекции от человека к человеку [2].

АПФ2 входит в ренин-ангиотензиновую систему (РАС), являясь частью сбалансированного механизма ее регуляции для уменьшения действия ангиотензина-II. Хорошо известно, что АТ-II через первый тип рецепторов вызывает вазоконстрикцию, провоспалительное действие, стимуляцию пролиферации и некоторые другие эффекты. Посредством воздействия на рецепторы 2-го типа ангиотензин-II ограничивает вазоконстрикцию и другие эффекты активации рецепторов 1-го типа, но не менее важное значение имеет и механизм, реализуемый через АПФ2. АПФ2 имеет структуру, на 42 % сходную с АПФ1 [3], и превращает АТ-II в ангиотензин (1–7), обладающий собственной активностью посредством взаимодействия с Mas-рецептором, что приводит к эффектам, противоположным основному действию АТ-II (рисунок). Более того, АТ(1–7) способен связываться с ангиотензиновыми рецепторами 2-го типа, хотя и в 5 раз слабее, чем АТ-II [4]. АПФ2 также способен превращать и АТ-I в неактивный метаболит АТ(1–9). Поэтому АПФ2 рассматривается как один из важных компонентов регуляции РАС.

SARS-CoV-2 внедряется в клетку через АПФ2 и угнетает активность этого фермента, вызывая таким образом дисбаланс в работе РАС в сторону вазоконстрикции, провоспалительного эффекта и других проявлений, связанных с основным действием АТ-II.

Предполагается, что мутации в гене АПФ2 могут как увеличивать, так и уменьшать вероятность инфицирования SARS-CoV-2 и влиять на тяжесть течения заболевания [5].

В самом начале возникновения заболеваемости COVID-19 вопрос о применении препаратов, влияющих на ренин-ангиотензиновую систему, был дискуссионным. Некоторые авторы высказывали опасения относительно применения антагонистов (блокаторов) рецепторов к АТ-II (БАР) и ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ), что, по их мнению, увеличивало риск заболеваемости и возникновения более тяжелых случаев течения заболевания. Эти опасения были связаны со следующим: было установлено, что группами риска для COVID-19 являются пациенты с коморбидной патологией, такой как артериальная гипертензия, сахарный диабет, цереброваскулярная патология, ишемическая болезнь сердца и другие заболевания. Ранее было показано, что лечение некоторыми препаратами из групп ИАПФ и БАР повышает экспрессию АПФ2 [6]. Кроме того, у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, наличие коморбидной патологии сопровождалось более высоким уровнем экспрессии АПФ2 в легких, чем у тех, кто исходно не имел фоновых заболеваний [7]. Большая часть этих пациентов постоянно получают



Основные компоненты ренин-ангиотензиновой системы:

АТ – ангиотензин; АПФ – ангиотензин-превращающий фермент;

АТ-1R – ангиотензиновый рецептор 1-го типа; АТ-2R – ангиотензиновый рецептор 2-го типа; MAS – рецептор для АТ(1–7)

The main components of the renin-angiotensin system: AT – angiotensin; АПФ – angiotensin converting enzyme; АТ-1R – angiotensin receptor type 1; MAS – receptor for angiotensin (1–7)

терапию ИАПФ или БАР, в связи с чем первое время отмечалась настороженность к этим препаратам, поскольку, гипотетически, они могли быть связанными с повышением содержания АПФ2 в крови. А поскольку именно АПФ2 является основным рецептором – входными воротами для вируса, то предполагалось возможное участие этих препаратов в повышении риска заболевания и тяжелого течения COVID-19. Позднее было проведено несколько исследований, показавших отсутствие повышенного риска для тех, кто принимает ИАПФ и БАР [8].

В значительной степени проявления COVID-19 связаны с дисфункцией органов и тканей, клетки которых поражаются вирусом, что, в свою очередь, напрямую зависит от входных ворот для вируса – присутствия АПФ2 на их мембране. Ангиотензин-превращающий фермент-2 представлен на клетках альвеолярного эпителия, особенно на альвеолоцитах 2-го типа. Кроме того, АПФ2 экспрессируется в бронхах (клетки Клара), на кардиомиоцитах, на клетках эпителия слизистой оболочки носа, ротовой полости, носоглотки, эпителия желудка, тонкой кишки, толстой кишки, на клетках эпидермиса (базальный слой), эпителия почек и даже на клетках некоторых структур мозга. А с учетом того, что АПФ2 имеется на эндотелии, его экспрессия отмечается в большинстве органов [9–12].

АПФ2 не единственный белок клеточной мембраны, необходимый для внедрения вируса. Возможно и участие других рецепторов (белков) клеточной мембраны. Так, в работе M. Hoffmann et al. [13] показано, что сериновая протеаза TMPRSS2, представленная на мембране клеток, выступает в качестве корцептора для вируса. Этот фермент расщепляет спайковый белок SARS-CoV-2, облегчая проникновение в клетку и активацию вируса, и этот процесс можно затормозить применением ингибитора TMPRSS2. В связи с такой особенностью проникновения вируса в клетку в литературе обсуждаются и механизмы большего риска заражения и тяжелых форм течения COVID-19 у лиц мужского пола [14]. Помимо таких гендерных различий, как сопутствующие заболевания и образ жизни, обсуждается механизм, связанный с тем, что экспрессия TMPRSS2 регулируется андрогенами [15]. Однако вопрос о регуляции экспрессии TMPRSS2 вне гормон-зависимых тканей, например, в легких, не подтверждается в экспериментальных исследованиях, поэтому остается открытым [16].

В литературе обсуждаются и другие клеточные рецепторы для SARS-CoV-2. Так, наряду с АПФ2, способностью соединяться со спайковым белком вируса обладает внеклеточная матриксная металлопротеиназа CD147, также известная как базигин [17]. Кроме того, возможным рецептором для вируса SARS-CoV-2 рассматривается дипептидил пептидаза 4 (ДПП4, CD26), поскольку этот белок является входными воротами для некоторых других коронавирусов [18]. Показано, что экспрессия ДПП4 и экспрессия АПФ2 коррелируют, что также не позволяет исключить участие ДПП4 в проникновении в клетку SARS-CoV-2 [19]. Однако основным рецептором для вируса рассматривается ангиотензин-превращающий фермент-2 (АПФ2).

Повреждение эндотелия и нарушение микроциркуляции

Присутствие на эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов АПФ2 – причина вовлечения сердечно-сосудистой системы в системное повреждение, которое отмечается почти у всех больных с COVID-19.

Эндотелий – одна из тканей, вовлекаемых в поражение вирусом SARS-CoV-2, в связи с чем в отдельных работах даже употребляют термин «эндотелиит» [20]. При этом возникает выраженная дисфункция эндотелия, связанная с внедрением вируса в клетки. Это сопровождается повреждением эндотелия, эндотелиальной дисфункцией, а также периваскулярным воспалением, которое усиливает повреждение эндотелия [21].

Несмотря на большую плотность экспрессии АПФ2 на эндотелиальных клетках, есть данные об органических особенностях распределения белка АПФ2 на эндотелии. В настоящее время имеется единственная работа, в которой исследовался клинический материал, полученный при биопсии или аутопсии. В общей сложности было исследовано распределение АПФ2 в тканях 15 органов от 93 пациентов с различными диагнозами [9]. Авторы отметили, что АПФ2 присутствует на эндотелии как артериальных, так и венозных сосудов практически всех органов. Более того, АПФ2-положительную окраску показали гладкомышечные клетки артериальных сосудов. АПФ2 был найден даже на эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов головного мозга, притом что в других клетках мозга не был обнаружен. Однако на эндотелии синусоидных капилляров печени АПФ2 не экспрессируется. Таким образом, присутствие на эндотелии сосудов рецептора для внедрения вируса делает его одной из важнейших мишеней для SARS-CoV-2. Кроме эндотелия и гладкомышечных клеток, АПФ2 в значительном количестве экспрессируется на мембране перицитов, что также способствует развитию сосудистых нарушений [10].

Внедрение вируса SARS-CoV-2 в эндотелиоциты доказано многочисленными исследованиями. При микроскопическом исследовании тканей пациентов с COVID-19 в нескольких работах было выявлено повреждение эндотелия различных органов. Так, у пациента с COVID-19, пневмонией при исследовании легочных артерий среднего диаметра было обнаружено эндотелиальное повреждение с вакуолизацией цитоплазмы, признаками десквамации эндотелиоцитов [22]. Вирус SARS-CoV-2 обнаруживался также в эндотелии и внеклеточном пространстве капилляров легких [23]. У пациента с COVID-19, осложненным мезентериальной ишемией с последующей резекцией участка кишки, при гистологическом исследовании резецированного участка был выявлен выраженный «эндотелиит» сосудов подслизистого слоя с признаками прямого поражения эндотелиоцитов вирусом, явлениями апоптоза, периваскулярного воспаления и моноклеарной инфильтрацией [20]. Авторы предполагают, что индуцированное COVID-19 повреждение эндотелия может объяснить системное нарушение микроциркуляторной функции в различных органах у пациентов с COVID-19 [20].

Важным механизмом участия повреждения эндотелия в развитии COVID-19 инфекции является угнетение активности АПФ2, вызванное вирусом [24]. Это приводит к нарушению регуляции ренин-ангиотензиновой системы и повышению АТ-II, что, в свою очередь, нарушает регуляцию тонуса сосудов, стимулирует пролиферацию и оказывает провоспалительное действие. Уменьшение активности АПФ2, а также активация АПФ, увеличение АТ-II и его воздействия на рецепторы 1-го типа усиливают повреждение легких в эксперименте и способствуют развитию острого респираторного дистресс-синдрома [25]. Как известно, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – самая основная причина наиболее тяжелых осложнений и смертности при COVID-19. Однако при этом в литературе нет убедительных сведений о том, что в условиях снижения активности АПФ2 происходит повышение тонуса сосудов и вазоконстрикция. Основным результатом дисбаланса АПФ и АПФ2 является увеличение проницаемости сосудов и усиление воспаления, которое сопровождается вирусное повреждение клеток [25]. Воспаление, повреждение эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов приводят к снижению адекватной регуляции сосудистого тонуса, что подтверждается и в клинике. Так, при развитии COVID-19-ассоциированного острого респираторного дистресс-синдрома выделяют L- и H-типы пневмонии. L-тип отличается относительно небольшим объемом поражения легких, небольшим отеком, но при этом гипоксемией, связанной со снижением соотношения «вентиляция/перфузия», что, по мнению авторов, вызвано нарушением регуляции перфузии легких, в частности, вазоплегией и потерей способности к гипоксической вазоконстрикции. При H-типе COVID-19 пневмонии на фоне выраженного объема повреждения и отека сохраняется шунтирование крови «справа налево», что связано с сохраненной перфузией невентилируемых областей легких [26].

Таким образом, повреждение эндотелия сосудов легких и нарушение его функции является важнейшим, если не главным звеном патогенеза повреждения легких при COVID-19. Некоторые авторы рассматривают эндотелиоциты в качестве главной мишени SARS-CoV-2, что приводит, в итоге, к основным проявлениям заболевания [27]. В качестве основных механизмов повреждения эндотелия, помимо прямого воздействия вируса и дисбаланса АПФ/АПФ2, рассматриваются активация нейтрофилов и повреждение эндотелия их ферментами и активными формами кислорода; цитокины, которые активируют и повреждают эндотелиоциты; активация гиалуронидаз, нарушающих структуру гликокаликса; активация ангиогенеза, сопровождающегося дисфункцией и повышением проницаемости эндотелия [23, 24]. Особое внимание при COVID-19 уделяется действию цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, колоний-стимулирующий фактор гранулоцитов (КСФ-Г), моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1) и многие другие [28, 29]. Гиперцитокинемия при COVID-19, которую описывают как «цитокиновый шторм», приводит к многочисленным процессам, как прямо, так и опосредованно влия-

ющим на эндотелий [30]. Так, увеличивается его проницаемость, происходит выброс и стимуляция синтеза тромбогенных факторов, активируются клетки иммунной системы, повреждающие эндотелий. Причем эти процессы должны происходить системно, а с учетом прямого повреждения эндотелия вирусом, с большой вероятностью, происходят во многих сосудах.

Ко времени написания настоящего обзора всего в нескольких работах, посвященных патогенезу COVID-19, упоминается о необходимости исследовать состояние микроциркуляции в тканях и органах для лучшего понимания прогноза и патогенетической терапии, особенно у критически тяжелых пациентов. Эти работы [31, 32] базируются преимущественно на теоретическом обосновании обязательности нарушений микроциркуляции в различных тканях, возникших как следствие гиперцитокинемии и других механизмов повреждения эндотелия. В единичных проведенных исследованиях на пациентах с COVID-19 показано нарушение микроциркуляции. Так, с помощью контрастно-усиленной ультрасонографии было отмечено нарушение микроциркуляции в печени, почках и других органах у больных с тяжелыми формами течения заболевания [33]. Однако до глубокого понимания этого вопроса, основанного на нескольких исследованиях, выполненных с помощью разных методик и в разных отделах сосудистого русла, пока еще далеко. При этом в условиях инфекционного стационара и необходимости проведения таких исследований у кровати больного, с учетом тяжести заболевания, трудно ожидать большого числа подобных работ в ближайшее время.

Изменения в системе гемостаза при SARS-CoV-2-инфекции

Одним из основных изменений в организме при COVID-19 является нарушение функционирования системы гемостаза, которое определяется как гиперкоагуляционный статус, претромботическое состояние, комбинация слабовыраженного синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) с тромботической микроангиопатией, сочетание эндотелиопатии и активации тромбоцитов [32, 34–36].

Системная дисфункция эндотелия и коагулопатия при COVID-19 ассоциированы с повышением риска летального исхода, вследствие венозной (около 70 % пациентов, находящихся в критическом состоянии) или артериальной тромбоэмболии, значительно реже – геморрагических осложнений. Риск тромбоэмболических осложнений повышается при длительной иммобилизации и наличии сопутствующих заболеваний, при которых имеет место дисфункция эндотелия (сахарный диабет и др.) [32, 34, 35, 37–40].

Множественный тромбоз сосудов и системные нарушения ведут к полиорганной недостаточности, характерной для тяжелого течения COVID-19.

Роль дисфункции эндотелия как одного из ключевых факторов патогенеза COVID-19 общепризнана. Впервые на тесную связь между состоянием эндотелия и свертываемостью крови обратил внимание

Ю. Ф. Конгейм (1865), который полагал, что кровь в сосудах остается жидкой, пока контактирует с неповрежденным эндотелием. В настоящее время известно, что в эндотелии образуется большое количество тромбогенных и атромбогенных факторов, соотношение между которыми определяет тромбозостойкость и тромбогенность стенки сосудов, а также активность тромбоцитов, коагуляционный и фибринолитический потенциал крови.

В клинических исследованиях функциональную активность эндотелия обычно оценивают по содержанию в крови тромбогенных, атромбогенных и других факторов эндотелиального происхождения. При COVID-19 уровень целого ряда биомаркеров эндотелия повышен у большинства реанимационных больных. Это касается фактора Виллебранда (vWF), фактора VII, тканевого активатора плазминогена (tPA) и его ингибитора (PAI-1), растворимых тромбомодулина, E-селектина и P-селектина [35].

При COVID-19 в качестве специфического лабораторного маркера дисфункции эндотелия рассматривают растворимую форму тромбомодулина, увеличение которой в плазме ассоциировано с прогрессированием заболевания и неблагоприятным исходом. По мнению Goshua G. et al. [35], при COVID-19 происходит отщепление тромбомодулина от мембраны эндотелия, и образующаяся растворимая форма поступает в кровь, при этом уменьшается количество тромбомодулина, связанного с мембраной эндотелиоцитов, что ведет к повышению тромбогенности сосудов.

При иммуногистохимическом исследовании посмертных препаратов легких пациентов, умерших от SARS-CoV-2-инфекции, было выявлено повышение экспрессии маркеров эндотелиальной дисфункции – молекулы межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM-1) и каспазы-1. Авторы [41] связывают экспрессию молекулы ICAM-1 с формированием стойкого эндотелиита. Активация каспазы-1 с высвобождением провоспалительных цитокинов играет важную роль в механизмах развития пироптоза, который ведет к фрагментации эндотелиоцитов и их гибели.

Системная дисфункция эндотелия, развивающаяся при COVID-19, во многом определяет последующие нарушения системы гемостаза, в том числе развитие тромбоцитопении. У значительной части (70–90 %) больных, поступающих в стационар в тяжелом состоянии, отмечается умеренное снижение числа тромбоцитов ($100\text{--}150 \cdot 10^9/\text{л}$), т. е. такое, которое не ведет к развитию кровотечений, однако, по мере увеличения тяжести заболевания, тромбоцитопения может нарастать, вплоть до критического уровня [37, 39].

Рассматривается несколько возможных механизмов тромбоцитопении при COVID-19 [42]:

- угнетение тромбоцитопоэза в результате прямого действия SARS-CoV-2 на клетки мегакариоцитарного ряда;
- угнетение тромбоцитопоэза под влиянием провоспалительных цитокинов;
- разрушение тромбоцитов иммунной системой;
- тромбоцитопения как результат потребления тромбоцитов в процессе тромбообразования.

Вполне вероятно, что все эти механизмы в той или иной степени реализуются при COVID-19, но на сегодняшний день наиболее обоснована точка зрения, согласно которой, тромбоцитопения при COVID-19 является следствием множественного тромбоза сосудов и вовлечения тромбоцитов в этот процесс через стадию адгезии к эндотелию. У умерших больных в сосудах легких и других органов, в том числе и в капиллярах, выявляются множественные тромбоцитарные тромбы. При этом признаков гемолиза, шистоцитов, характерных для тромботической микроангиопатии, не обнаруживается. Предполагается, что это связано с активной адгезией тромбоцитов к эндотелию при участии vWF.

vWF секретируется эндотелием в виде мультимеров с различной молекулярной массой, частично он депонируется в эндотелии, а также поступает в субэндотелий и кровь. Секретция vWF увеличивается при активации эндотелия. vWF участвует в образовании тромба (первичный тромбоцитарно-сосудистый гемостаз), опосредуя адгезию тромбоцитов к коллагену субэндотелия, а также их агрегацию в зоне повреждения сосудистой стенки. Активность vWF зависит от его молекулярной массы – чем больше размеры мультимеров, тем выше активность. В крови имеется образующийся в печени ферментный комплекс ADAMTS13 (adisintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13), включающий в себя дисинтегрин, металлопротеиназу и тромбоспондин 1 типа, которые «рассекают» мультимеры vWF.

У пациентов с COVID-19 уровень vWF в крови значительно повышен, что рассматривается как проявление активации эндотелия, в том числе в результате прямого проникновения вирусных частиц. По данным R. Escher et al. [43] у пациентов с COVID-19, ранее здоровых, уже на 21-й день пребывания в стационаре уровень vWF был в 3 раза выше нормы. Высказывается предположение, что активность ADAMTS13 при COVID-19 снижена (проявление нарушений функции печени), и, следовательно, преобладают более крупные мультимеры vWF, имеющие наибольшую активность.

Таким образом, при COVID-19 имеются предпосылки интенсивной адгезии тромбоцитов к эндотелию, их агрегации и образования тромбоцитарных тромбов, которые, как правило, выявляются у больных, умерших от COVID-19.

Рассматривается еще один механизм активации кровяных пластинок и образования тромбоцитарных тромбов при COVID-19, связанный с антифосфолипидными антителами (АФЛ). У многих тяжелых больных COVID-19 выявлен высокий титр АФЛ, которые, как известно, взаимодействуют с липидами клеточных мембран, в том числе тромбоцитов [44]. В результате происходит активация тромбоцитов, экспрессия GPIIb/IIIa, усиливается синтез тромбоксана A_2 , и, в конечном счете, усиливается агрегация тромбоцитов.

Тромбоцитопения развивается при многих инфекционных заболеваниях, в том числе вызванных вирусами. Один из механизмов, который при этом рассматривается, – взаимодействие вирусов с

рецепторами тромбоцитов (цитомегаловирус с TLR2, ротавирус с GPIa/IIb, аденовирус с GPIIb/IIIa, вирус гепатита С с GPVI и др.) [45]. Последствием такого взаимодействия является активация тромбоцитов, в том числе циркулирующих, активация системы гемостаза и т. д.

Взаимодействуют ли SARS-CoV-2 с рецепторами тромбоцитов, пока не известно, но этот механизм развития дисфункции тромбоцитов при COVID-19 не исключается.

Уменьшение числа тромбоцитов у больных COVID-19 редко достигает уровня, требующего специальной коррекции. Тем не менее ряд исследователей считают, что степень выраженности тромбоцитопении является одним из предикторов тяжести течения и исхода болезни.

Роль активации тромбоцитов в патогенезе COVID-19, по-видимому, не ограничивается их участием в тромбозе. Известно, что они участвуют также в развитии воспаления, иммунных реакций, регуляции микроциркуляции, ангиогенеза. Однако этот аспект тромбоцитопатии в патогенезе COVID-19 пока не изучен.

Наряду с изменениями в тромбоцитарном звене системы гемостаза, при COVID-19 нарушается функциональная активность систем свертывания крови и фибринолиза. Повышается экспрессия тканевого фактора на лейкоцитах, макрофагах, моноцитах и других клетках, который инициирует внешний путь свертывания крови. Что касается отдельных прокоагулянтов, то наиболее подробно при COVID-19 изучена динамика фибриногена и фактора VIII (фVIII).

У большинства пациентов с COVID-19 при поступлении в стационар концентрация фибриногена в крови определяется на верхней границе нормы, что рассматривается как компонент острофазовой реакции при воспалении. Однако у ряда больных незадолго до смерти развивается выраженная гипофибриногенемия (менее 1,0 г/л). Таким образом, несмотря на то, что фибриноген постоянно потребляется в процессе тромбообразования, уровень его в крови в течение долгого времени сохраняется на достаточном уровне, что свидетельствует об увеличении его синтеза в печени. При прогрессировании тромбоза (увеличение потребления фибриногена), при развитии полиорганной недостаточности (системные нарушения микроциркуляции, в частности, в печени) синтез фибриногена нарушается, и поддержание нормального уровня становится невозможным.

В литературе имеется несколько сообщений об изменении фVIII в крови при COVID-19. Данный фактор образуется главным образом в печени. Повышение фVIII в крови рассматривается как один из факторов риска тромбоза. У пациентов с COVID-19 концентрация фVIII значимо возрастает, в отличие от классического ДВС-синдрома. При COVID-19 у пациентов повышен в крови vWF, который защищает фVIII от протеолиза [35].

Интегральными лабораторными показателями активности внутреннего и внешнего путей свертывания крови являются активированное парциальное

тромбопластиновое время (АПТВ) и протромбиновое время (ПВ) соответственно. Эти показатели несколько удлиняются при COVID-19, особенно при тяжелом течении заболевания [46]. Вероятно, это связано с потреблением и недостаточным восстановлением прокоагулянтов, участвующих в образовании протромбиназы (фXII, фXI, фX и другие, за исключением фVIII, о котором речь шла выше). С учетом данных об удлинении АПТВ и ПВ можно предположить, что синтез этих прокоагулянтов при COVID-19 на фоне усиленного потребления ограничен. Имеющиеся в литературе данные о скорости свертывания крови при COVID-19 и активности отдельных прокоагулянтов получены в условиях *in vitro* и не дают оснований говорить об ускорении этого процесса *in vivo*, т. е. гиперкоагуляции в обычном понимании этого явления. Необходимо отметить, что данные нарушения могут остаться незамеченными, если ориентироваться только на международное нормализованное отношение (МНО).

Коагуляционный потенциал крови зависит не только от концентрации прокоагулянтов, но и антикоагулянтов (антитромбин, кофактор гепарина II, протеин С и др.). Антикоагулянтное звено системы гемостаза при COVID-19 изучено недостаточно. Имеются данные о небольшом снижении концентрации антитромбина в плазме у тяжелых больных (в среднем до 80 % от нормы) и более значительном – ниже 70 % – у пациентов с сопутствующей патологией печени, активность протеина С и S существенно не изменяется [33, 34]. Таким образом, антикоагулянтная активность крови в целом сохраняется, что отличает коагулопатию при COVID-19 от типичного ДВС-синдрома [36, 47, 48].

Обсуждается вопрос о возможной роли β2-гликопротеина в механизме гиперкоагуляции при COVID-19. β2-гликопротеин образуется в печени и является физиологическим антикоагулянтом, ингибирующим внутренний путь свертывания крови. У значительной части тяжелых больных COVID-19 (28 %) выявляются антитела к β2-гликопротеину, что, вероятно, приводит к снижению его антикоагулянтной активности [49].

COVID-19 ассоциирован с активацией фибринолиза, о чем свидетельствует увеличение в крови продукта протеолиза фибрина D-димера. По данным M. Levy et al. [34], увеличение концентрации D-димера более 0,5 мг/л было выявлено у 46 % тяжелых больных. С. Huang et al. [50] констатировали, что уровень D-димера у выживших больных был ниже, чем у умерших. По данным F. Zhou et al. [51], если поступлении в стационар уровень D-димера был выше 1 г/л, риск смерти увеличивался в 18 раз.

Активация фибринолитической системы при COVID-19 является следствием активации эндотелия и поступления в кровь tPA. Взаимодействие tPA с плазминогеном происходит преимущественно на поверхности фибрина, образующийся при этом плазмин расщепляет фибрин с образованием D-димера.

Увеличение D-димера при COVID-19 – это безусловный показатель вторичного фибринолиза.

При этом, в отличие от первичного фибринолиза, не происходит значительного разрушения циркулирующих факторов свертывания крови. Наряду с tPA из поврежденного эндотелия выделяется и PAI-1. Это, по-видимому, имеет значение для ограничения чрезмерного увеличения фибринолитической активности [35].

Таким образом, при COVID-19 выявлены изменения во всех звеньях системы гемостаза, при этом основное значение имеет сочетание системной дисфункции эндотелия и активация тромбоцитарно-сосудистого механизма тромбоза.

Мониторинг состояния системы гемостаза при COVID-19 очень важен для оценки тяжести и прогноза заболевания, а также своевременной коррекции выявленных нарушений.

Развитие у пациентов COVID-19 жизнеугрожающих тромбозов определило терапевтический подход, в основе которого в настоящее время лежит назначение пациентам препаратов гепарина, как низкомолекулярных, так и нефракционированных. Перспективным представляется использование эндотелиопротекторов, препятствующих инфицированию эндотелия и развитию его дисфункции (рекомбинантные ACE2-препаратами, ингибиторы трансмембранной сериновой протеазы-2 – TMPRSS2 и др.) [29].

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Kai H, Kai M. Interactions of Coronaviruses with ACE2, Angiotensin II, and RAS Inhibitors—Lessons From Available Evidence and Insights Into COVID-19. *Hypertens Res.* 2020;43(7):648–654. Doi: 10.1038/s41440-020-0455-8.
2. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020;367:1260–1263. Doi:10.1126/science.abb2507.
3. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1–9. *Circ Res.* 2000;87(5):E1–E9. Doi:10.1161/01.res.87.5.e1.
4. Bosnyak S. Relative affinity of angiotensin peptides and novel ligands at AT1 and AT2 receptors. *Clin. Sci. (Lond.)* 2011;121:297–303. Doi: 10.1042/cs20110036.
5. Stawiski EW, Diwanji D, Suryamohan K et al. Human ACE2 receptor polymorphisms predict SARS-CoV-2 susceptibility. *bioRxiv.* 2020; April 10. Doi: 10.1101/2020.04.07.024752.
6. Vaduganathan M, Vardeny O, Pharm D, Michel PDT et al. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;(382):1653–1659. Doi: 10.1056/NEJMSr2005760.
7. Pinto BGG., Antonio ER, Oliveira AER., Singh Y et al. AIP2 Expression Is Increased in the Lungs of Patients With Comorbidities Associated With Severe COVID-19. *J Infect Dis.* 2020; Jun 11. Doi: 10.1093/infdis/jiaa332.
8. Fernández-Ruiz I. RAAS Inhibitors Do Not Increase the Risk of COVID-19 *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(7):383. Doi: 10.1038/s41569-020-0401-0.
9. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004;203(2):631–637. Doi: 10.1002/path.1570.
10. Chen L, Li X, Chen M, Feng Y, Xiong C. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc Res.* 2020;(30). Doi: 10.1093/cvr/cvaa078.
11. Bombardini T, Picano E. Angiotensin-Converting Enzyme 2 as the Molecular Bridge Between Epidemiologic and Clinical Features of COVID-19. *The Canadian Journal of Cardiology.* 2000;36(5):784.e1–784.e2. Doi:10.1016/j.cjca.2020.03.026.
12. Zhang, J, Xie, B, Hashimoto K. Current status of potential therapeutic candidates for the COVID-19 crisis. *Brain Behav. Immun.* 2020. Doi: 10.1016/j.bbi.2020.04.046.
13. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Muller MA, Drosten C, Pohlmann S. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020;(181):271–280.e278. Doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
14. Gebhard C, Regitz-Zagrosek V, Neuhauser HK, Morgan R, Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biol Sex Differ.* 2020;(11):29. Doi: 10.1186/s13293-020-00304-9.
15. Clinckemalie L, Spans L, Dubois V, Laurent M, Helsen C, Joniau S, Claessens F. Androgen Regulation of the TMPRSS2 Gene and the Effect of a SNP in an Androgen Response Element. *Mol Endocrinol.* 2013;27(12):2028–2040. Doi: 10.1210/me.2013-1098.
16. Baratchian M, McManus J, Berk M, Nakamura F et al. No evidence that androgen regulation of pulmonary TMPRSS2 explains sex-discordant COVID-19 outcomes. *bioRxiv.* 2020. Doi: 10.1101/2020.04.21.051201.
17. Ulrich H, Pillat M. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. *Stem Cell Rev Rep.* 2020; Apr 20:1–7. Doi: 10.1007/s12015-020-09976-7.
18. Raj VS et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature.* 2013;495(7440):251–254. Doi: 10.1038/nature12005.
19. Qi F et al. Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;526(1):135–140. Doi: 10.1016/j.bbrc.2020.03.044.
20. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P et al. Endothelial Cell Infection and Endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;2(395(10234)):1417–1418. Doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
21. Huertas A, Montani D, Savale L et al. Endothelial Cell Dysfunction: A Major Player in SARS-CoV-2 Infection (COVID-19)? *Eur Respir J.* 2020; Jun 18. Doi: 10.1183/13993003.01634-2020.
22. Copin MC, Parmentier E, Duburcq T, Poissy J, Mathieu D; Lille COVID-19 ICU and Anatomopathology Group. Time to consider histologic pattern of lung injury to treat critically ill patients with COVID-19 infection. *Intensive Care Med.* 2020:1–3. Doi:10.1007/s00134-020-06057-8.
23. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M et al., Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;(383):120–128. Doi: 10.1056/NEJMoa2015432.
24. Teuwen LA, Geldhof V, Pasut A, Carmeliet P. COVID-19: the vasculature unleashed. *Nat Rev Immunol.* 2020;May 21:1–3. Doi: 10.1038/s41577-020-0343-0.

25. Imai Y, Kuba K, Rao S et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*. 2005;(436):112–116. Doi: 10.1038/nature03712.
26. Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P, Busana M, Romitti F, Brazzi L, Camporota L. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatment for different phenotypes?. *Intensive Care Medicine*. 2020. Doi: 10.1007/s00134-020-06033-2.
27. Sardu C, Gambardella J, Morelli MB et al. Hypertension, Thrombosis, Kidney Failure, and Diabetes: Is COVID-19 an Endothelial Disease?. *A Comprehensive Evaluation of Clinical and Basic Evidence*. *J Clin Med*. 2020;9(5):1417. Doi: 10.3390/jcm9051417.
28. Li XC, Zhang J, Zhuo JL. The vasoprotective axes of the renin-angiotensin system: physiological relevance and therapeutic implications in cardiovascular, hypertensive and kidney diseases. *Pharmacol Res*. 2017;(125):21–38. Doi: 10.1016/j.phrs.2017.06.005.
29. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020;46(4):586–590. Doi: 10.1007/s00134-020-05985-9.
30. Li H, Liu L, Zhang D, Xu J, Dai H, Tang N. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet*. 2020;(395):1517–1520. Doi: 10.1016/S0140-6736(20)30920-X.
31. Colantuoni A, Martini R, Caprari P et al. COVID-19 Sepsis and Microcirculation Dysfunction. *Front. Physiol*. 2020; 26 June. Doi: 10.3389/fphys.2020.00747.
32. Martini R. The compelling arguments for the need of microvascular investigation in COVID-19 critical patients. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2020;75(1):27–34. Doi: 10.3233/CH-200895.
33. Jung EM, Stroszczyński C, Jungc F. Contrast enhanced ultrasonography (CEUS) to detect abdominal microcirculatory disorders in severe cases of COVID-19 infection: First experience. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2020;(74):353–361. Doi: 10.3233/CH-209003.
34. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol*. 2020;7(6):e438–e440. Doi: 10.1016/S2352-3026(20)30145-9.
35. Goshua G, Pine AB, Meizlish ML, Chang CH, Zhang H, Bahel P, Baluha A, Bar N, Bona RD, Burns AJ, Dela Cruz CS, Dumont A, Halene S, Hwa J, Koff J, Menninger H, Neparidze N, Price C, Siner JM, Tormey C, Rinder HM, Chun HJ, Lee AI. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. *Lancet Haematol*. 2020;7(8):e575–e582. Doi: 10.1016/S2352-3026(20)30216-7.
36. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, Grasselli G, Novembrino C, Chantarangkul V, Pesenti A, Peyvandi F, Tripodi A. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2020;18(7):1738–1742. Doi: 10.1111/jth.
37. Llitjos JF, Leclerc M, Chochois C, Monsallier JM, Ramakers M, Auvray M, Merouani K. High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients. *J Thromb Haemost*. 2020;18(7):1743–1746. Doi: 10.1111/jth.14869.
38. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D, Kant KM, Kaptein FHJ, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H. Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: an updated analysis. *Thromb Res*. 2020;(191):148–150. Doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.041.
39. Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L, Cecconi M, Ferrazzi P, Sebastian T, Kucher N, Studt JD, Sacco C, Alexia B, Sandri MT, Barco S. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res*. 2020;(191):9–14. Doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.024.
40. Boonyawat K, Crowther MA. Venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost*. 2015;41(1):68–74. Doi: 10.1055/s-0034-1398386.
41. Nagashima S, Mendes MC, Camargo Martins AP, Borges NH, Godoy TM, Miggiolaro AFRDS, da Silva Dezidério F, Machado-Souza C, de Noronha L. Endothelial Dysfunction and Thrombosis in Patients With COVID-19. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020. Doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314860.
42. Xu P, Zhou Q, Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. *Ann Hematol*. 2020;99(6):1205–1208. Doi: 10.1007/s00277-020-04019-0.
43. Escher R, Breakey N, Lämmle B. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation. *Thromb Res*. 2020;(190):62. Doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.014.
44. Siguret V, Voicu S, Neuwirth M, Delrue M, Gayat E, Stéphanian A, Mégarbane B. Are antiphospholipid antibodies associated with thrombotic complications in critically ill COVID-19 patients?. *Thromb Res*. 2020;(195):74–76. Doi: 10.1016/j.thromres.2020.07.016.
45. Assinger A. Platelets and infection – an emerging role of platelets in viral infection. *Front Immunol*. 2014;(5):649. Doi: 10.3389/fimmu.2014.00649.
46. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844–847. Doi: 10.1111/jth.14768.
47. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Fagot Gandet F, Fafi-Kremer S, Castelain V, Schneider F, Grunebaum L, Anglés-Cano E, Sattler L, Mertes PM, Meziani F. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2020;(46):1089–1098. Doi: 10.1007/s00134-020-06062-x.
48. Asakura H, Ontachi Y, Mizutani T, Kato M, Saito M, Kumabashiri I, Morishita E, Yamazaki M, Aoshima K, Nakao S. An enhanced fibrinolysis prevents the development of multiple organ failure in disseminated intravascular coagulation in spite of much activation of blood coagulation. *Crit Care Med*. 2001;(29):1164–1168. Doi: 10.1097/00003246-200106000-00015.
49. Xiao M, Zhang Y, Zhang S, Qin X, Xia P, Cao W, Jiang W, Chen H, Ding X, Zhao H, Zhang H, Wang C, Zhao J, Sun X, Tian R, Wu W, Wu D, Ma J, Chen Y, Zhang D, Xie J, Yan X, Zhou X, Liu Z, Wang J, Du B, Qin Y, Gao P, Lu M, Hou X, Wu X, Zhu H, Xu Y, Zhang W, Li T, Zhang F, Zhao Y, Li Y, Zhang S. Brief Report: Anti-phospholipid antibodies in critically ill patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Arthritis Rheumatol*. 2020. Doi: 10.1002/art.41425.
50. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506. Doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
51. Zhou F, Yu T, Du R et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054–1062. Doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.

Информация об авторах

Петришев Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, руководитель центра лазерной медицины, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, руководитель Российской Ассоциации по региональной гемодинамике и микроциркуляции, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lazmed@yandex.ru.

Халепо Ольга Владиславовна – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, Смоленский государственный медицинский университет, г. Смоленск, Россия, e-mail: halepo71@mail.ru.

Вавиленкова Юлия Анатольевна – старший преподаватель кафедры патологической физиологии, Смоленский государственный медицинский университет, г. Смоленск, Россия, e-mail: vavilenkova@gmail.com.

Власов Тимур Дмитриевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, директор Научно-образовательного института биомедицины, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Information about authors

Petrishchev Nikolay N. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Professor of the Department of Pathophysiology with the course of clinical pathophysiology, Head of the Center for Laser Medicine, Pavlov University, Head of the Russian Association for Regional Hemodynamics and Microcirculation, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lazmed@yandex.ru.

Khalepo Olga V. – Candidate of Medical Sciences, Docent, Head of the Department of Pathological Physiology, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, e-mail: halepo71@mail.ru.

Vavilenkova Yulia A. – Senior Lecturer, Department of Pathological Physiology, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, e-mail: vavilenkova@gmail.com.

Vlasov Timur D. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathophysiology with the course of clinical pathophysiology, Pavlov University, Director of the Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Saint Petersburg, Russia, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Журнал «Регионарное кровообращение и микроциркуляция» входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук по научным специальностям и соответствующим им отраслям науки:

с 28.12.2018 г.

- 14.01.04 – Внутренние болезни (медицинские науки);
- 14.01.05 – Кардиология (медицинские науки);
- 14.01.11 – Нервные болезни (медицинские науки);
- 14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки);
- 14.01.17 – Хирургия (медицинские науки);
- 14.01.26 – Сердечно-сосудистая хирургия (медицинские науки).

Дополнительно к вышеприведенному списку с 15.10.2019 г.

- 03.03.01 – Физиология (биологические науки);
- 03.03.01 – Физиология (медицинские науки);
- 14.01.05 – Кардиология (биологические науки);
- 14.03.01 – Анатомия человека (медицинские науки);
- 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки);
- 14.03.03 – Патологическая физиология (биологические науки).

При направлении статьи в редакцию рекомендуется руководствоваться следующими правилами, составленными с учетом «Единых требований к рукописям, предоставляемым в биомедицинские журналы» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

1. Рукопись. Направляется в редакцию в электронном варианте через online-форму. Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft Word (иметь расширение *.rtf, так как в нем исключается конфликт между различными версиями программы MS Word).

2. Объем полного текста рукописи должен составлять примерно 0,5 авторского листа (20 000 знаков).

3. Формат текста рукописи. Текст должен быть напечатан шрифтом Times New Roman, иметь размер 12 pt и межстрочный интервал 1,0 pt. Отступы с каждой стороны страницы – 2 см. Выделения в тексте можно проводить ТОЛЬКО курсивом или полужирным начертанием букв, но НЕ подчеркиванием. Из текста необходимо удалить все повторяющиеся пробелы и лишние разрывы строк (в автоматическом режиме через сервис MS Word «Найти и заменить»).

4. Файл с текстом статьи, загружаемый в форму для подачи рукописей, должен содержать всю информацию для публикации (в том числе рисунки и таблицы). При регистрации на сайте журнала всем авторам необходимо указать ORCID!

Структура рукописи должна соответствовать следующему шаблону:

Русскоязычная аннотация

• *Авторы статьи.* При написании авторов статьи фамилию следует указывать после инициалов имени и отчества (П.С. Иванов, С.И. Петров, И.П. Сидоров).

• *Название статьи.*

• *Название учреждения.* Необходимо привести официальное ПОЛНОЕ название учреждения (без сокращений). Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести названия учреждений и ФИО авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре перед названиями учреждений и фамилиями соответствующих авторов.

• *Резюме статьи* должно быть (если работа оригинальная) структурированным: введение, цель, материалы и методы, результаты, заключение. Резюме должно полностью соответствовать содержанию работы. Объем текста резюме должен быть в пределах 150–200 слов.

Аббревиатуры и сокращения в аннотации необходимо раскрыть.

В аннотации не должно быть общих слов. Рекомендуем обратиться к руководствам по написанию аннотаций, например: <http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstracts-and-titles/> (анг.) или: <http://www.scieditor.ru/jour/article/view/19> (рус.)

• *Ключевые слова.* Необходимо указать ключевые слова – от 4 до 10, способствующие индексированию статьи в поисковых системах. Ключевые слова должны попарно соответствовать на русском и английском языках.

Англоязычная аннотация

• *Author names.* ФИО необходимо писать в соответствие с заграничным паспортом или так же, как в ранее опубликованных в зарубежных журналах статьях, корректный формат: Evgeniy A. Ivanov, Yuriy V. Petrov, Anatoliy Yu. Sidorov. Авторам, публикующимся впервые и не имеющим заграничного паспорта, следует воспользоваться стандартом транслитерации BGN/PCGN.

• *Article title.* Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

• *Affiliation.* Необходимо указывать ОФИЦИАЛЬНОЕ АНГЛОЯЗЫЧНОЕ НАЗВАНИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ. В англоязычной аффилиации не рекомендуется писать приставки, определяющие статус организации, например: «Федеральное государственное бюджетное научное учреждение» («Federal State Budgetary Institution of Science»), «Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования», или аббревиатуру этой части названия («FGBNU», «FGBOU VPO»).

Наиболее полный список названий российских учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: eLibrary.ru.

• *Abstract*. Англоязычная версия резюме статьи должна по смыслу и структуре полностью соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка.

• *Keywords*. Необходимо указать ключевые слова – от 4 до 10 (должны соответствовать русскоязычной версии). Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

Основной текст статьи (на русском и/или английском языках) должен быть структурированным по разделам. Структура полного текста рукописи, посвященной описанию результатов оригинальных исследований, должна соответствовать формату IMRAD (Introduction, Methods, Results and Discussion). Рекомендуется соблюдать следующую структуру: введение, цель, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение.

• *Таблицы* (должны быть выполнены в программе MS Word) следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Названия таблиц необходимо перевести на английский язык.

• *Рисунки* (графики, диаграммы, схемы, чертежи и другие иллюстрации, рисованные средствами MS Office) должны быть помещены в текст и сопровождаться нумерованной подрисунковой подписью, которую необходимо перевести на английский язык. Кроме того, каждый рисунок следует дополнительно загрузить на сайт (в специальной форме для подачи статьи) отдельным файлом того программного обеспечения, в котором рисунок был выполнен (*.rtf, *.xls, и т.п.). Ссылки на рисунки в тексте обязательны.

• *Фотографии* и другие нерисованные иллюстрации должны быть помещены в текст и сопровождаться нумерованной подрисунковой подписью, которую необходимо перевести на английский язык. Кроме того, каждую фотографию следует дополнительно загрузить на сайт (в специальную форму для подачи статьи) отдельным файлом в формате *.tif (*.doc и *.docx – только в том случае, если на изображении нанесены дополнительные пометки). Разрешение изображения должно быть ≥ 300 dpi.

Файлам изображений необходимо присвоить название, соответствующее номеру рисунка в тексте. В описании файла следует отдельно привести подрисунковую подпись, которая должна соответствовать названию изображения, помещаемого в текст (пример: Рис. 1. Сеченов Иван Михайлович).

Дополнительная информация (на русском и английском языках)

• Благодарности на русском языке (в этом разделе должны быть указаны люди, которые помогли в работе над статьей, но не являются авторами, а также информация о финансировании как научной работы, так и процесса публикации статьи – фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется.

• Благодарности на английском языке (Acknowledgements).

• Информация о конфликте интересов (перевод этой информации также должен быть сделан). Авторы должны раскрыть потенциальные и явные конфликты интересов, связанные с рукописью. Конфликтом интересов может считаться любая ситуация (финансовые отношения, служба или работа в учреждениях, имеющих финансовый или политический интерес к публикуемым материалам, должностные обязанности и др.), способная повлиять на автора рукописи и привести к сокрытию, искажению данных или изменить их трактовку. Наличие конфликта интересов у одного или нескольких авторов не является поводом для отказа в публикации статьи. Выявленное редакцией сокрытие потенциальных и явных конфликтов интересов со стороны авторов может стать причиной отказа в рассмотрении и публикации рукописи.

Список литературы

Оформление списка литературы осуществляется в соответствии с требованиями «Ванкуверского стиля» с указанием в конце источника индекса DOI (digital object identifier, уникальный цифровой идентификатор статьи в системе CrossRef). Поиск DOI на сайте <http://search.crossref.org>. Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке.

Правила оформления списка литературы

Нумерация в списке литературы осуществляется по мере цитирования, а не в алфавитном порядке. В тексте статьи библиографические ссылки даются цифрами в квадратных скобках: [1, 2, 3, 4, 5].

ВНИМАНИЕ!

Не цитируются:

- тезисы, если они не обнаруживаются поисковыми системами;
- учебники, учебные пособия;
- статистические сборники (указываются в постраничных сносках);
- диссертации;
- авторефераты диссертаций.

Источниками в списке литературы могут быть печатные (опубликованные, изданные полиграфическим способом) и электронные издания (книги, имеющие ISBN, или статьи из периодических журналов, имеющие ISSN).

Все имена авторов русскоязычных источников дополнительно необходимо указать на транслите в системе «BSI». Название русскоязычных журналов на английском языке должно быть взято у издателя (как правило, на сайте журнала есть английская версия). Названия иностранных журналов и книги следует ставить в оригинале.

При транслитерации следует использовать стандарт BGN/PCGN (United States Board on Geographic Names/ Permanent Committee on Geographical Names for British Official Use), рекомендованный международным издательством Oxford University Press как «British Standard». Для транслитерации текста в соответствии со стандартом BGN можно воспользоваться ссылкой <http://www.translit.ru>. Автор несет полную ответственность за точность и достоверность данных, приведенных в рукописи статьи, присылаемой в редакцию журнала.

Примеры оформления ссылок:

Статья в журнале на английском языке:

Kim J.Y., Lim B.J., Sohn H.J., Shin D., Oh S.H. Increased expression of cathelicidin by direct activation of protease activated receptor 2: possible implications on the pathogenesis of rosacea. *Yonsei Med J.* 2014;55(6):1648–1655. Doi:10.3349/ymj.2014.55.6.1648.

Статья в журнале на русском языке:

Короткевич А.А., Коков А.Н. Гибридные технологии лучевой диагностики ишемической болезни сердца: современные возможности и перспективы // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2015. – № 1. – С. 5–9. [Korotkevich A.A., Kokov A.N. Hybrid technology of beam diagnostics in the diagnosis of coronary heart disease: current opportunities and prospects. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2015;(1):5–9. (In Russ.)]. Doi: 10.17802/2306-1278-2015-1-5-9.

ВНИМАНИЕ! В списке литературы следует приводить всех авторов публикации!

Сведения об авторах

Необходимо указать полные сведения о каждом авторе на русском и английском языке (ФИО, ученая степень, ученое звание, должность, место работы, e-mail).

5. Соответствие нормам этики. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, что все пациенты и добровольцы, участвовавшие в научном и клиническом исследовании, дали на это письменное добровольное информированное согласие, которое должны хранить автор(-ы) статьи, а исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.). В случае проведения исследований с участием животных – соответствовал ли протокол исследования этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных. В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, ее расположения, номера протокола и даты заседания комитета).

6. Сопроводительные документы. При подаче рукописи в редакцию журнала необходимо дополнительно загрузить файлы, содержащие сканированные изображения заполненных и заверенных сопроводительных документов (в формате *.pdf).

К сопроводительным документам относятся:

1) письмо-направление от учреждения (на официальном бланке). Письмо предоставляется с места работы автора, заверяется печатью и подписью руководителя организации. Для каждой указанной в рукописи организации необходимо предоставить отдельное сопроводительное письмо. Документ должен содержать сведения, что данный материал не был опубликован в других изданиях и не принят к печати другим издательством/издающей организацией, конфликт интересов отсутствует. В статье отсутствуют сведения, не подлежащие опубликованию.

2) письмо-согласие, подписанное каждым автором: «Настоящим подтверждаю(ем) передачу прав на публикацию статьи ФИО авторов «Название статьи» в неограниченном количестве экземпляров в журнале «Регионарное кровообращение и микроциркуляция», включая электронную версию журнала».

7. Авторские права. Авторы, публикующие статьи в данном журнале, соглашаются со следующим:

1) авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2) авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договоренности, касающиеся не-эксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде, со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3) авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

МАТЕРИАЛЫ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ СЛЕДУЕТ ЗАГРУЖАТЬ НА САЙТ ЖУРНАЛА

Информация по заполнению электронной формы для отправки статьи в журнал подробно описана на сайте <http://www.microcirc.ru>.

Тел/факс (812) 338-70-69 • e-mail: microcirculation@yandex.ru

15371 – индекс в каталоге «Роспечать»
42410 – индекс в каталоге «Пресса России»

Главный редактор – профессор *Н. Н. Петрищев*
Зам. главного редактора – д-р мед. наук *Т. Д. Власов*
Ответственный секретарь – д-р мед. наук *С. Н. Тульцева*

Верстка – А. А. Чиркова
Корректор – В. А. Черникова
Адрес редакции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

«Regional blood circulation and microcirculation» is on the list of peer-reviewed scientific journals that publish the main results of dissertations for a Candidate of Sciences degree, for a Doctor of Sciences degree in scientific specialties and related fields of science:

from December 28th 2018:

- 14.01.04 – Internal medicine (Medical Sciences);
- 14.01.05 – Cardiology (Medical Sciences);
- 14.01.11 – Nervous diseases (Medical Sciences);
- 14.01.13 – Radiology (Medical Sciences);
- 14.01.17 – Surgery (Medical Sciences);
- 14.01.26 – Cardiovascular surgery (Medical Sciences)

Additional list from November 15th 2019:

- 03.03.01 – Physiology (Biological Sciences),
- 03.03.01 – Physiology (Medical Sciences),
- 14.01.05 – Cardiology (Biological Sciences),
- 14.03.01 – Human anatomy (Medical Sciences),
- 14.03.03 – Pathological physiology (Medical Sciences),
- 14.03.03 – Pathological physiology (Biological Sciences).

Submitting the manuscript, the authors are kindly requested to adhere to the following regulations based on the «Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals», developed by the International Committee of Medical Journal Editors.

1. Manuscript requirements. We accept submissions strictly online, via the form available at our website. Please upload your manuscript as a Microsoft Office Word document. The best format is *.rtf as it excludes conflict between different versions of MS Word program.

2. Length of the manuscript should be about 20,000 typographical units.

3. Text formatting. Lettering should be in Times New Roman (font size 12 pt with 1.0 line spacing and 2 cm margins from both sides. Kindly refrain from using underlining in your document (italic and bold formatting is acceptable). Repeating blanks and excessive line breaks should be removed from the text in automatic regime through Microsoft word service «find and replace text».

4. The file with the text of the article, uploaded to the form for submission of manuscripts, should contain all the information for publication (including figures and tables). When registering on the journal's website, all authors must indicate ORCID!

Please organize your text according to the following template:

- *Authors of the article.* The authors' names should be indicated as follows: first name, patronym initial, family name (Evgeniy A. Ivanov, Yuriy V. Petrov, Anatoliy Yu. Sidorov).

- *Article title.*

- *The name of the institution.* It should be official and complete, without abbreviations. If the authors are from different institutions, it is necessary to link the names of institutions and family names, given names and patronymics by adding superscript numbers before the names of institutions and family names of the corresponding authors.

- *Annotation of an original article* should be structured: introduction, aims of the study, followed by materials and methods and finishing with the results and conclusions. The resume should completely correspond to the article content. Please note that your abstract should be within 150–200 words. Abbreviations in annotation must be explained. Non-specific terms should be avoided. Instructions on writing annotations can be found at <http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstracts and titles/>.

- *Keywords.* Provide 4–10 keywords necessary for indexing purposes.

Full text must be properly structured. Full text structure should conform to IMRAD (Introduction, Methods, Results and Discussion) format; subdivisions should be indicated. The following structure is recommended: introduction, the objective of the study, materials and methods, results, discussion, conclusions.

- *Tables* must be drawn in MS Word. They should be put in the text, they should have numbered title and user-friendly clearly denoted graphic charts. Please make sure that table data is in line with the numbers in the body of the text but does not duplicate them. Table references must be given in the text.

- *Figures* (graphs, diagrams, schemes and other illustrations prepared by means of MS Office) must be put in the text and have a numbered legend. In addition, each figure should be additionally uploaded to the website (in a special form for submitting the article) as a separate file of the software in which the figure was prepared (*.rtf, *.xls, etc.). References to figures in the text are required.

- *Photographs* and other illustrations must be placed in the text and accompanied by a numbered caption. In addition, each photo must be additionally uploaded to the website (in a special form for submitting an article) as a separate file in *.tif format (*.doc and *.docx – only if additional marks are made on the image). Image resolution should be ≥ 300 dpi.

An image file must be given a name corresponding to the number of the figure in the text. A separate figure legend corresponding to the title of photograph in the text should be included in file description (example: Fig 1. Hans Selye).

Additional information

• **Acknowledgements.** This section indicates individuals who provided help during the research but are not authors as well as information about funding of research and preparation of the paper (fund, commercial or governmental organization, private individual, etc). It is not required to indicate the amount of funding.

• **Conflict of interest.** The authors are required to disclose potential and evident conflicts of interest related to the manuscript. A conflict of interest is any situation (financial relationships, work at institutions interested in published material financially or politically, job duties, etc) that can influence the author(s) and lead to concealing, falsification of the data or their misinterpretation. Disclosure of the conflict of interest by one or a few authors does not cause rejection to publish the paper. Evidence for concealment of potential and evident conflicts of interest may imply rejection of consideration and publication of the manuscript;

Reference list.

Reference list should comply with the requirements of the Vancouver style, with indication of DOI (digital object identifier) at the end of each reference. DOI can be found at <http://search.crossref.org>. To obtain DOI, it is necessary to type article title in English in search box.

References

Number the references in square brackets ([1, 2, 3, 4, 5]) in the list in the order in which they appear in the text, not in alphabetical order.

ATTENTION!

Not cited:

- abstracts if they are not found by search engines;
- textbooks, teaching aids;
- statistical collectors (indicated in page footnotes);
- dissertations;
- abstracts of dissertations.

Sources in the list of references can be printed (published, published by printing) and electronic publications (books with ISBN, or articles from periodicals having ISSN).

Example of a reference: Kim J.Y., Lim B.J., Sohn H.J., Shin D., Oh S.H. Increased expression of cathelicidin by direct activation of protease activated receptor 2: possible implications on the pathogenesis of rosacea. *Yonsei Med J.* 2014;55(6):1648–1655. Doi:10.3349/ymj.2014.55.6.1648.

ATTENTION! All authors of publications should be indicated in the list of references!

Information about authors.

Complete information about each author must be provided (full name, academic degree, academic title, position, place of work, e-mail).

5. Ethics statement. In order to publish the results of the original work, it is necessary to indicate that all patients and volunteers who participated in the scientific and clinical study gave written voluntary informed consent to this, which should be kept by the author (s) of the article, and the study was carried out in accordance with the requirements of the World Medical Association Declaration of Helsinki (updated in 2013). In the case of studies involving animals, it is necessary to indicate whether the protocol of the research corresponds to the ethical principles and standards of biomedical research involving animals. In both cases, it is necessary to indicate whether the protocol of the research has been approved by the ethics committee (with the name of the organization, its location, protocol number and date of the meeting of the committee).

6. Supporting documents. Manuscript submission requires uploading scanned images of certified supporting documents (in *.pdf format).

Supporting documents include:

1) Referral letter from the author's place of work authenticated by seal and signed by the head of institution and by all coauthors (for each institution indicated in manuscript a separate cover letter is required). The letter must state that the submitted material has not been previously published or accepted by another publisher, that there is no conflict of interest, and article contains no information that is not subject to publishing.

2) Letter of consent signed by each author: «Herewith we confirm transfer of publication right, authors' names, article title in unlimited number of copies in journal "Regional hemodynamics and microcirculation", including on-line version».

7. Copyright. Authors who publish with this journal agree to the following terms:

1) the authors retain their copyrights of the work and grant the journal the right to publish the work in the first place under the terms of the Creative Commons Attribution License, which allows others to distribute this work with the mandatory preservation of references to authors of the original work and the original publication in this journal;

2) the authors retain their rights to conclude separate contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the published version of the work with reference to its original publication in this journal;

3) the authors have the right to post their article on the Internet before and during the process of reviewing it by this journal, as this can lead to productive discussion and more references citing the article (see the Effect of open access).

THE CONTENTS SHOULD BE UPLOADED TO THE JOURNAL WEBSITE

Detailed information on completing an online form for article submission can be found at <http://www.microcirc.ru>.

Telephone/Fax (812) 338-70-69 • e-mail: microcirculation@yandex.ru

15371 – index in the «Rospechat» agency catalog
42410 – index in the «Russian pressa» agency catalog

Editor-in-chief – *N. N. Petrishchev*
Vice editor – *T. D. Vlasov*
Senior Associate Editor – *S. N. Tultseva*
E-mail address for correspondence: tultseva@yandex.ru

Layout designer – *A. A. Chirkova*
Corrector – *V. A. Chernikova*
Editorial board address: 6-8, Lev Tolstoy Str., St. Petersburg, Russian Federation, 197022