



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

Основан в ноябре 2001 года

научно-
практический
журнал

том 23

2024

№ 3 (91)

Содержание

Contents

Обзоры

Reviews

**Власова Т. И., Якушкина А. С., Петрищев Н. Н.,
Чефу С. Г., Власов Т. Д.**
Механизмы и значение спонтанной агрегации
тромбоцитов в патологии

4

**Vlasova T. I., Yakushkina A. S., Petrishchev N. N.,
Chefu S. G., Vlasov T. D.**
Mechanisms and significance of spontaneous platelet
aggregation in pathology

Смирнова Н. Н., Куприенко Н. Б.
Роль регуляторов фосфорно-кальциевого обмена
в развитии кардиоренального синдрома

12

Smirnova N. N., Kuprienko N. B.
Role of phosphorus-calcium metabolism regulators
in cardiorenal syndrome development

Оригинальные статьи (клинические исследования)

Original articles (clinical investigations)

Горбач А. П., Щурова Е. Н., Горбач Е. Н.
Отличительные особенности состояния
микроциркуляции кожного покрова в различных
участках спины у детей с врожденным сколиозом

19

Gorbach A. P., Shchurova E. N., Gorbach E. N.
Distinctions of the state of skin integument
microcirculation in different parts of the back
in children with congenital scoliosis

Лёвочкина Э. Д., Беляев Н. Г., Князева Е. А.
Исследование связи между данными
кардиоспецифических аутоантител ANTI-ACTC1,
ANTI-MYH7B, ANTI-cTnl и результатами
электрокардиограммы

29

Levochkina E. D., Belyaev N. G., Knyazeva E. A.
Investigation of the relationship between the data
of cardio specific autoantibodies ANTI-ACTC1,
ANTI-MYH7B, ANTI-cTnl and electrocardiogram
results at early stage of diagnosis of myocardial
damage

Бирюков А. В., Малаев Д. У., Кретов Е. И.
3-месячный анализ неинтимального слоя
у стентов с различным профилем при стабильной
ишемической болезни сердца

38

Biryukov A. V., Malaev D. U., Kretov E. I.
3-month analysis of neointimal coverage
with different profiles stents in stable ischemic
heart disease

**Пушкина Я. А., Сычев И. В., Сергутова Н. П.,
Гончарова Л. Н.**
Влияние курения кальяна на жесткость сосудистой
стенки у лиц молодого возраста по данным
объемной сфигмографии

43

**Pushkina Ya. A., Sychev I. V., Sergutova N. P.,
Goncharova L. N.**
Effect of hookah smoking on vascular wall stiffness
in young people according to volumetric
sphygmography

Вахитов К. М., Вахитов М. Ш., Куважукова А. Ф., Владимиров П. А. 50 **Vakhitov K. M., Vakhitov M. Sh., Kuvazhukova A. F., Vladimirov P. A.**
Анатомические особенности глубокой артерии бедра как фактор, влияющий на степень хронической артериальной недостаточности
Anatomical features of the profunda femoris artery as a factor in the degree of chronic limb ischemia

Моисеев А. А., Бедров А. Я., Крутиков А. Н., Попов Г. И., Супрунович А. А., Крейль В. А., Белозерцева А. В., Белова К. А., Верт А. С., Хубулава Г. Г. 57 **Moiseev A. A., Bedrov A. Ya., Krutikov A. N., Popov G. I., Suprunovich A. A., Kreil V. A., Belozertseva A. V., Belova K. A., Vert A. S., Khubulava G. G.**
Значение транскутанной оксиметрии при пробе с физической нагрузкой в диагностике синдрома высокой перемежающейся хромоты
The role of transcutaneous oximetry at exercise test in the diagnosis of proximal claudication

Оригинальные статьи (экспериментальные исследования)

Original articles (experimental investigations)

Таминкина Ю. А., Павличенко Н. Н., Гилерович Е. Г., Кирик О. В., Коржевский Д. Э. 64 **Taminkina Yu. A., Pavlichenko N. N., Gilerovich E. G., Kirik O. V., Korzhevsky D. E.**
Опыт использования интракраниального введения эндотелина-1 для индукции ишемического повреждения головного мозга у крыс при оценке эффективности клеточной терапии
Experience of using intracranial introduction of endothelin-1 for inducing ischemic brain damage in rats to evaluate cell therapy efficacy

Марченко В. А., Зелинская И. А., Подъячева Е. Ю., Мухаметдинова Д. В., Торопова Я. Г., Галагудза М. М., Лиознов Д. А., Жилинская И. Н. 70 **Marchenko V. A., Zelinskaya I. A., Podyacheva E. Yu., Mukhametdinova D. V., Toropova Ya. G., Galagudza M. M., Lioznov D. A., Zhilinskaya I. N.**
Системные нарушения вазомоторной активности кровеносных сосудов, вызванные вирусом гриппа А(H1N1)pdm09, на фоне преморбидной хронической кардиомиопатии
Systemic alteration of vasomotor activity of blood vessels in Wistar rats with premorbid chronic cardiomyopathy infected with influenza A(H1N1)pdm09

Иванов А. Н., Сахань М. А., Ермаков А. В., Савкина А. А., Степанова Т. В., Никитина В. В., Ленгерт Е. В., Кириязи Т. С. 81 **Ivanov A. N., Sahan M. A., Ermakov A. V., Savkina A. A., Stepanova T. V., Nikitina V. V., Lengert E. V., Kiriyaзи T. S.**
Влияние полилактидных раневых покрытий с таниновой кислотой на концентрацию маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи
Influence of polylactide wound dressings with tannic acid on serum concentration of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation in white rats during healing of experimental full-thickness skin defect

Кукушкин Г. В., Свиридкина Л. П. 89 **Kukushkin G. V., Sviridkina L. P.**
Влияние лекарственных препаратов различных групп на фармакокинетику цефотаксима в сопоставлении с их действием на лимфатический дренаж тканей
Effect of drugs of various groups on the pharmacokinetics of cefotaxime in comparison with their effect on lymphatic tissue drainage

Правила для авторов 96 Author guidelines

Regional blood circulation and microcirculation

Editor-in-chief

T. D. Vlasov (Saint Petersburg, Russia)
Vice Editor,
S. N. Tultseva (Saint Petersburg, Russia)
Scientific Editor,
V. A. Pugach (Saint Petersburg, Russia)
Executive Secretary,
N. A. Bubnova (Saint Petersburg, Russia),
M. M. Galagudza (Saint Petersburg, Russia),
V. I. Kozlov (Moscow, Russia),
A. V. Muravyov (Yaroslavl, Russia),
N. N. Petrishchev (Saint Petersburg, 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),
K. V. Zhmerenetsky (Khabarovsk, Russia),
N. Sh. Zagidullin (Ufa, Russia),
O. G. Zverev (Saint Petersburg, Russia),
A. N. Ivanov (Saratov, Russia),
A. S. Izmaylov (Saint Petersburg, Russia),
T. N. Kiseleva (Moscow, Russia),
V. B. Koshelev (Moscow, Russia),
A. I. Krupatkin (Moscow, Russia),
G. I. Lobov (Saint Petersburg, Russia),
L. N. Maslov (Tomsk, 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),
Muhiddin Tabarov (Dushanbe, Tajikistan),
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 Власов Т. Д. – главный редактор (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Тульцева С. Н. – научный редактор (Санкт-Петербург),
к. б. н., Пугач В. А. – ответственный секретарь (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Бубнова Н. А. (Санкт-Петербург),
чл.-корр. РАН, профессор Галагудза М. М. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Козлов В. И. (Москва),
д. б. н., профессор Муравьев А. В. (Ярославль),
д. м. н., профессор Петрищев Н. Н. (Санкт-Петербург),
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 Александр (Бирмингем, Великобритания),
профессор Вааге Ярле (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),
чл.-корр. РАН, доцент Жмеренецкий К. В. (Хабаровск),
д. м. н., профессор Загидуллин Н. Ш. (Уфа),
д. м. н., профессор Зверев О. Г. (Санкт-Петербург),
д. м. н., доцент Иванов А. Н. (Саратов),
д. м. н., доцент Измайлов А. С. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Киселева Т. Н. (Москва),
д. б. н., профессор Кошелев В. Б. (Москва),
д. м. н., профессор Крупаткин А. И. (Москва),
д. м. н., профессор Лобов Г. И. (Санкт-Петербург),
д. м. н., профессор Маслов Л. Н. (Томск),
д. м. н., профессор Милюков В. Е. (Москва),
профессор Митагвария Нодар (Тбилиси, Грузия),
д. м. н., профессор Морозов К. М. (Москва),
д. м. н., профессор Никифоров В. С. (Санкт-Петербург),
профессор Прис Аксель (Берлин, Германия),
профессор Салдана Карлота (Лиссабон, Португалия),
д. м. н., Старчик Д. А. (Санкт-Петербург),
профессор Табаров Мухиддин (Душанбе, Таджикистан),
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 № 77-90-25

Подписано в печать: 20.08.2024 г. Формат: А4. Печать офсетная. Тираж 1000. Заказ № 198.

УДК 616-005.6

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11

Т. И. ВЛАСОВА¹, А. С. ЯКУШКИНА¹, Н. Н. ПЕТРИЩЕВ²,
С. Г. ЧЕФУ², Т. Д. ВЛАСОВ²

Механизмы и значение спонтанной агрегации тромбоцитов в патологии

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия 430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

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

E-mail: vlasova-t.i@mrsu.ru

Статья поступила в редакцию 16.06.24 г.; принята к печати 05.08.24 г.

Резюме

Тромбоциты – уникальные форменные элементы крови, которые помимо свертывания крови модулируют процессы фибринолиза, воспаления, физиологической регенерации, репарации, ангиогенеза, формирования костной ткани, формирования системы мать–плацента–плод и др. Особый интерес представляет феномен спонтанной агрегации тромбоцитов *in vivo* при различных физиологических и патологических состояниях, что связано с расширением возможностей оценки рисков тромботических явлений. Отдельный аспект данной проблемы связан с изучением механизмов и биологической роли обратимой агрегации тромбоцитов. До настоящего времени значение данного явления в условиях нормы и патологии остается не вполне понятным. Данный обзор посвящен феномену спонтанной обратимой агрегации тромбоцитов, современному представлению о его механизмах, подходах к диагностике и его ассоциации с разного рода патологическими состояниями.

Ключевые слова: тромбоциты, спонтанная агрегация тромбоцитов, обратимая агрегация тромбоцитов

Для цитирования: Власова Т. И., Якушкина А. С., Петрищев Н. Н., Чифу С. Г., Власов Т. Д. Механизмы и значение спонтанной агрегации тромбоцитов в патологии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):4–11. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11.

UDC 616-005.6

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11

T. I. VLASOVA¹, A. S. YAKUSHKINA¹, N. N. PETRISHCHEV²,
S. G. CHEFU², T. D. VLASOV²

Mechanisms and significance of spontaneous platelet aggregation in pathology

¹ Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia

68, Bol'shevistskaya str., Saransk, Russia, 430005

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

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

E-mail: vlasova-t.i@mrsu.ru

Received 16.06.24; accepted 05.08.24

Summary

Platelets are unique blood elements that, in addition to blood coagulation, modulate the processes of fibrinolysis, inflammation, physiological regeneration, repair, angiogenesis, bone tissue formation, formation of the mother-placenta-fetus system, etc. Of particular interest is the phenomenon of spontaneous platelet aggregation *in vivo* under various physiological and pathological conditions, which is associated with expanded capabilities for assessing the risks of thrombotic events. A separate aspect of this problem is associated with the study of the mechanisms and biological role of reversible platelet aggregation. To date, the significance of this phenomenon under normal and pathological conditions remains not entirely clear. This review is devoted to the phenomenon of spontaneous reversible platelet aggregation, the modern understanding of its mechanisms, approaches to its diagnosis and its association with various pathological conditions.

Keywords: platelets, spontaneous platelet aggregation, reversible platelet aggregation

For citation: Vlasova T. I., Yakushkina A. S., Petrishchev N. N., Chifu S. G., Vlasov T. D. Mechanisms and significance of spontaneous platelet aggregation in pathology. Regional hemodynamics and microcirculation. 2024;23(3):4–11. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11.

Введение

Тромботические нарушения остаются ведущей причиной смертности и заболеваемости, несмотря на то, что сегодня успешно применяются дезагрегантная и антикоагулянтная терапия. В настоящее время исследователями все больше осознаются негемостатические функции тромбоцитов, уделяется колоссальное внимание механизмам межклеточного взаимодействия и агрегации тромбоцитов, их роли в иммунологическом ответе. Исследования в данных областях создают перспективы совершенствования диагностических подходов, открытия новых фармакологических мишеней для антиагрегантной терапии кардиоваскулярных заболеваний и расширения показаний к PRP-терапии (использования в лечебных целях плазмы, богатой тромбоцитами).

Тромбоциты – уникальные форменные элементы крови, основной функцией которых является участие в процессе гемостаза. Помимо свертывания крови тромбоциты модулируют процессы фибринолиза, воспаления, физиологической регенерации, репарации, ангиогенеза, формирования костной ткани, формирования системы мать–плацента–плод. Кроме того, они являются активными участниками всех этапов канцерогенеза [1–4].

На настоящий момент известно, что тромбоциты способны модулировать исходы повреждений центральной нервной системы, стимулируя пролиферацию, миграцию и дифференцировку стволовых клеток и ангиогенез [5]; повреждений печени, содействуя репаративным и антифибротическим процессам путем воздействия на звездчатые клетки [6, 7]; заживления ран, выделяя факторы роста и регуляторы апоптоза [8].

Широкий спектр процессов, в которых тромбоциты принимают участие, определен структурой и особенностью рецепторного аппарата кровяных пластинок, а также большим количеством и плеiotропностью эффектов биологически активных веществ, содержащихся в их гранулах. При активации тромбоцитов происходит выделение микровезикул, которые обладают сильным прокоагулянтными свойствами [9]. Как интактные тромбоциты, так и микрочастицы тромбоцитов содержат широкий спектр биологически активных веществ, микроРНК, способных влиять на различные физиологические и патологические процессы [10, 11].

Важнейшей функцией тромбоцитов является их способность к адгезии и агрегации. Лабораторная оценка агрегационной активности тромбоцитов является распространенной методикой оценки состояния клеточного компонента системы гемостаза и определения эффективности препаратов с дезагрегантной активностью.

Последнее время отмечается увеличение научного интереса к спонтанной агрегации тромбоцитов *in vivo* при различных состояниях с целью оценки рисков тромботических явлений и прогрессирования основного заболевания.

Отдельный аспект данной проблемы связан с изучением механизмов и биологической роли обратимой агрегации тромбоцитов. До настоящего вре-

мени значение данного явления в условиях нормы и патологии остается не вполне понятным.

Данный обзор посвящен феномену спонтанной обратимой агрегации тромбоцитов, современному представлению о его механизмах, подходах к диагностике и его ассоциации с разного рода патологическими состояниями.

Эволюция методов агрегометрии

Спонтанная агрегация тромбоцитов (САТ) является классическим маркером гиперреактивности тромбоцитов и определяется как агрегация, происходящая при перемешивании богатой тромбоцитами плазмы при температуре 37 °С без добавления агонистов [12].

Первый метод, при помощи которого были оценены адгезивная и агрегационная способности тромбоцитов, был разработан А. J. Hellem et al. в 1960 г. Цитратную кровь фильтровали с постоянной скоростью через пластиковую пробирку, содержащую стеклянные бусины диаметром 0,5 мм. Время контакта составляло 30 с. Разница в количестве тромбоцитов до и после фильтрации признавалось количеством адгезированных тромбоцитов [13].

При использовании этого метода впервые была выявлена связь между «адгезивностью» тромбоцитов и гематокритом крови. На основе этого открытия, было сделано предположение, что эритроциты должны иметь мощный агент, активирующий тромбоциты, и это привело к открытию агрегирующих свойств у молекулы АДФ. Потребность в более точных количественных и надежных методах оценки функции тромбоцитов побудила G. Vorn и J. R. O'Brien разработать метод оптической трансмиссионной агрегометрии (агрегометрии светопропускания) в 1962 г. [14].

В 1974 г. K. Wu и J. C. Hoak представили новый метод количественной оценки индуцированной агрегации тромбоцитов, основанный на определении соотношения агрегатов и неагрегированных тромбоцитов [15].

В 1989 г. З. А. Габбасовым и соавторами был описан метод флуктуаций светопропускания, вызванных изменением количества тромбоцитов в оптическом канале. Относительную дисперсию таких колебаний использовали в качестве параметра для оценки степени агрегации тромбоцитов и анализа кинетики агрегации. Установлено, что непрерывная регистрация этого параметра позволяет обнаружить образование микроагрегатов при спонтанной агрегации и агрегации, индуцированной очень низкими концентрациями АДФ [16].

Несколько позднее, в 1997 г. отечественными исследователями был предложен способ оценки внутрисосудистой активности тромбоцитов с использованием фазово-контрастной микроскопии с подсчетом количества тромбоцитов (дискоэритроцитов, сфероэритроцитов) на 200 клеток в обогащенной тромбоцитами плазме (после повторного разведения) и последующим расчетом процентного отношения [17].

Оптическая трансмиссионная агрегометрия, являясь на сегодняшний день «золотым стандартом» среди методов оценки агрегации тромбоцитов, не является чувствительным методом при тромбоцитопении и рекомендуется при количестве тромбоцитов выше $150 \times 10^9/\text{л}$, а для изучения агрегации тромбоцитов в

условиях тромбоцитопении возможно использовать метод проточной цитометрии [18, 19]. Одним из методов определения агрегационной активности тромбоцитов является импедансная агрегометрия, основанная на измерении сопротивления образца при пропускании электрического тока, что связано с образованием агрегатов на электродах и увеличением импеданса. Из преимуществ данного метода следует отметить использование цельной крови, что снижает вероятность диагностических неточностей, связанных с пробоподготовкой обогащенной тромбоцитами плазмы [20].

Механизмы спонтанной агрегации тромбоцитов

Отдельной проблемой изучения спонтанной агрегации является тот факт, что некоторые преданалитические события могут способствовать недостоверной оценке спонтанной агрегации тромбоцитов, ввести в заблуждение исследователя, дав ложную корреляцию между лабораторными данными и клинической оценкой пациента.

Гемолиз эритроцитов приводит к высвобождению АДФ – вещества, стимулирующего агрегацию тромбоцитов. Гемолиз *in vitro* является результатом преданалитических событий, связанных со сбором образцов, неправильными методами транспортировки, экстремальными температурами, обращением с образцами – задержкой обработки и длительным хранением. Гемолиз при сборе образцов может быть вызван неправильным размером иглы, неправильным перемешиванием пробирок, неправильным наполнением пробирок, чрезмерной аспирацией крови, длительным наложением жгута. Таким образом, гемолиз может начаться с момента венопункции и затем продолжаться вплоть до проведения анализа [21, 22]. Отдельным методологическим вопросом является определение концентрации адениловых нуклеотидов *in vitro* при использовании разных антикоагулянтов: в частности ЭДТА замедляет деградацию АТФ [23]. Такие преданалитические шаги как охлаждение образцов крови сразу после их сбора, обработка образцов хлорной кислотой также препятствуют распаду АТФ, а двойное центрифугирование охлажденных образцов крови минимизирует механически вызванное высвобождение АТФ [24]. Тем не менее, при всей сложности методологии анализа, существуют исследования, позволяющие обозначить границы нормы концентрации АДФ в плазме крови [24, 25].

У некоторых пациентов может наблюдаться спонтанная агрегация тромбоцитов в результате ЭДТА-зависимой псевдотромбоцитопении. У таких лиц точный подсчет числа тромбоцитов может быть осуществлен при взятии крови с цитратом в качестве антикоагулянта [26].

Во избежание повышения САТ в результате процессов, связанных с лабораторным анализом, необходимо использовать стандартизированную методику исследования САТ в плазме, богатой тромбоцитами, соблюдая правила ведения преаналитического периода [27].

В настоящее время обсуждаются гендерные особенности агрегации тромбоцитов, что, вероятно, может отразиться на пересмотре референсных значений параметра [28].

Истинными механизмами, усиливающими процесс САТ, описанными в литературе и не связанными с процессом лабораторного анализа, являются изменение напряжения сдвига, увеличение концентраций слабых агонистов процесса агрегации (внутрисосудистый гемолиз с высвобождением АДФ, повышение уровня адреналина, серотонина) и изменение количественного состава и конфигурации рецепторов на поверхности тромбоцитов. При изменении напряжения сдвига в условиях воздействия сил сдвига, превышающих нормальные (например, при повышении артериального давления), тромбоциты могут спонтанно активироваться без контакта с субэндотелием. Это связано с повышением аффинности фактора Виллебранда к рецепторам тромбоцитов в этих условиях [29]. Элонгационный поток со скоростью выше 300 с-1 или скорость сдвига, превышающая 5000 с-1, может разворачивать циркулирующий фактор Виллебранда, обнажая его сайты связывания и обеспечивая его адгезию к тромбоцитам через их мембранный комплекс GPIb-IX-V [30].

Кроме того, значительное воздействие сил сдвига на эндотелий приводит к его денудации с обнажением коллагена.

Механизмы САТ в ответ на АДФ давно и многократно исследованы. Запуск процесса активации связан с взаимодействием лиганда (АДФ) с пуриnergическими рецепторами тромбоцита (P2Y1, P2Y12 и P2X1) [31]. Взаимодействие АДФ и связанного с G-белком P2Y1 приводит к повышению внутриклеточного Ca²⁺, сокращению фибрилл цитоскелета, изменению конформации гликопротеиновых рецепторов-интегринов и частичному выбросу гранул [30]. Роль P2Y12-рецептора связана с активацией фосфоинозитольного сигнального пути, что ведет к частичной агрегации тромбоцитов [32]. Также обсуждается влияние различных эндогенных биологически активных веществ (плазмин, каллекреин) и экзогенных агентов на процесс АДФ-зависимой активации тромбоцитов [33–35]. Большой научный интерес вызывает обратимая агрегация тромбоцитов, наблюдаемая в ответ на стимуляцию АДФ в присутствии кальция. Данный феномен хорошо известен, но представление о его механизмах продолжает активно расширяться [36]. Одна из гипотез данного явления предполагает ослабление чувствительности тромбоцита к АДФ в связи с интернализацией и десенситизацией P2Y1 и частично P2Y12 после взаимодействия [37].

Роль АДФ в САТ *in vivo* ассоциирована с внутрисосудистым гемолизом. В частности, повышенный уровень САТ был обнаружен в крови (но не в плазме, обогащенной тромбоцитами) у пациентов с сахарным диабетом, что было связано с хрупкостью эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом, при разрушении которых высвобождается АДФ, который и стимулирует агрегацию [38].

В настоящее время рассматриваются механизмы обратимой САТ, связанные с увеличением концентраций других слабых агонистов, в частности адреналина и серотонина (оценка *in vitro* при наличии физиологических концентраций Ca²⁺ в плазме). В качестве объяснения обратимости данного явления выступает

гипотеза об отсутствии секреции гранул тромбоцитами в ответ на данные агонисты или снижение продукции тромбоксана A_2 [39].

Также имеются данные, что концентрация растворимого Р-селектина сопряжена со спонтанной агрегацией тромбоцитов у пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей и головного мозга [40].

Другим механизмом развития спонтанной агрегации является изменение характеристик рецепторов тромбоцитов. Известно, что спонтанная агрегация тромбоцитов коррелирует с количеством гликопротеина Пб/IIIa на поверхности тромбоцитов [26] и зависит от его конформации, что продемонстрировано и при наследственных тромбоцитопатиях.

В настоящее время в качестве механизма спонтанной агрегации тромбоцитов рассматривается путь их активации через рецепторы, связанные с ITAM (immunoreceptor tyrosinebased activation motifs). Тромбоциты экспрессируют 3 рецептора, связанных с ITAM: (1) ITAM-содержащую γ -цепь Fc-рецептора, которая ассоциируется с гликопротеидом VI – рецептором коллагена, ламинина и фибрина в поврежденной сосудистой стенке, (2) ITAM-содержащий Fc γ RIIA, рецептор для иммунных комплексов, и (3) CLEC-2, ITAM-содержащий рецептор для подопланина, экспрессируемого на некоторых типах клеток [41].

Было продемонстрировано, что высокий уровень спонтанной агрегации тромбоцитов в крови, наблюдаемый у небольшого процента здоровых добровольцев, обусловлен стимуляцией Fc γ RIIA тромбоцитов иммунными комплексами, содержащими IgG, что подтверждается ингибированием САТ антителами против Fc γ RIIA и Fc-фрагмента IgG. Высокий уровень САТ может быть связан либо с высокой реактивностью Fc γ RIIA тромбоцитов на следовые количества иммунных комплексов IgG, либо с повышенными уровнями циркулирующих иммунных комплексов с IgG. В подтверждение первой ситуации было обнаружено, что экспрессия Fc γ RIIA в тромбоцитах повышена у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, ишемический инсульт). Высокая реактивность Fc γ RIIA тромбоцитов также может быть объяснена генетическим полиморфизмом Fc γ RIIA [42].

Различные IgG-опсонизированные патогены и иммунные комплексы могут вызывать Fc γ RIIA-опосредованную агрегацию тромбоцитов [43]. Стимуляция Fc γ RIIA приводит к стимуляции тирозинкиназы Брутона. Фармакологическое блокирование тирозинкиназы Брутона *in vivo* или *in vitro* приводит к ингибированию процесса САТ [42]. Через рецептор Fc γ RIIA происходит запуск внутриклеточной цепи реакций, конечным этапом которых являются повышение внутриклеточного уровня Ca^{2+} и активация протеинкиназы C, которые необходимы для агрегации тромбоцитов [43].

Еще одним механизмом, лежащим в основе активации САТ, может быть усиление посредством Fc γ RIIA, при отсутствии специфичных для Fc γ RIIA внеклеточных стимулов агрегации, вызванной подпороговыми концентрациями других стимуляторов.

В частности, это могут быть стимулы, активирующие путь Gi-белка в тромбоцитах, такие как адреналин или CXCL12 (хемокин подсемейства СХС), которые, как известно, присутствуют в крови в низких концентрациях [42].

Значения спонтанной агрегации тромбоцитов в клинике различных состояний

Известно, что при исследовании здоровых добровольцев, показатель САТ повышался и коррелировал с возрастом. Приводятся данные, что самые низкие средние значения спонтанной агрегации тромбоцитов наблюдались у людей в возрасте от 20 до 30 лет ($3,3 \pm 3,3$ %) и самый высокий показатель – у людей после 90 лет ($10,9 \pm 5,9$ %). Наблюдаемое увеличение САТ у здоровых добровольцев с возрастом может указывать на наличие субклинической протромботической активности крови и воспаления низкой степени выраженности, то есть процессов, связанных с субклиническим течением «возрастных» заболеваний, прежде всего, атеросклероза, что делает САТ возможным биомаркером будущих коронарных событий и смертности, особенно в группах низкого риска [44].

Показатель САТ может отличаться не только у людей разных возрастов, существуют также и половые различия. Тромбоциты экспрессируют рецепторы эстрогенов, которые могут влиять на функцию тромбоцитов и их гемостатическую способность. Результаты показывают, что эстрадиол и/или прогестерон влияют на спонтанную агрегацию, поскольку было обнаружено, что она является наименьшей у женщин в середине лютеиновой фазы цикла. Кроме того, спонтанная агрегация была значительно ниже у женщин, принимающих оральные контрацептивы, чем у мужчин и женщин, не принимающих данные препараты, при этом индуцированная агрегация в данных группах не отличалась [45]. Тем не менее риски тромбозов при приеме оральных контрацептивов в среднем остаются выше, чем в популяции женщин, не принимающих данную терапию, что связано с влиянием компонентов препаратов на другие звенья системы гемостаза.

Многочисленные исследования показывают, что спонтанная агрегация тромбоцитов, измеренная в богатой тромбоцитами плазме и крови, увеличивается у пациентов с различными заболеваниями, включая диабет, острый коронарный синдром и инфаркт миокарда. *In vivo* взаимодействие тромбоцитов с эритроцитами может быть наиболее вероятным в местах атеросклеротического стеноза артерий, где аномальные условия кровотока способствуют обратимой деформации эритроцитов и утечке АДФ [46]. Было показано, что ни прием аспирина, ни прием двойной антитромботической терапии (аспирин и клопидогрел) не влиял на САТ при остром коронарном синдроме (ОКС) [47].

В то же время антитромбоцитарная терапия ингибитором ФДЭ-3 цилостазолом у пациентов с сахарным диабетом и терапия тикагрелором у онкологических пациентов снижали САТ [48, 49].

Сообщалось, что САТ увеличена у пациентов с пароксизмальной и персистирующей формами фибрилляции предсердий (ФП), не принимающих бета-блокаторы. Наиболее выраженное увеличение

спонтанной агрегации отмечено в группе пациентов с персистирующей формой ФП [50].

Кроме того, было показано, что САТ временно увеличивается в периоперационном периоде при открытой сосудистой хирургии при проведении каротидной эндартерэктомии, открытой пластике аневризмы и шунтировании сосудов нижних конечностей [51].

Изменение САТ может сопровождать как физиологически протекающую беременность, так и патологию беременности. Сообщалось, что уровень спонтанной агрегации тромбоцитов был снижен у женщин на ранних сроках беременности по сравнению со здоровыми небеременными женщинами из контрольной группы [52]. Спонтанная агрегация тромбоцитов была снижена у женщин с гипертензивными расстройствами беременности и у женщин, чья беременность сопровождалась задержкой внутриутробного роста плода, по сравнению с женщинами с нормально протекающей беременностью [53].

Показатель САТ оценивался и в медицине критических состояний. Было показано, что у пациентов в критическом состоянии усиливается процесс спонтанной агрегации тромбоцитов, а переливание эритроцитов может дополнительно усилить реакцию спонтанной агрегации тромбоцитов [54].

Изменение САТ при инфекционных заболеваниях изучалось на примере ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С. Было показано, что по сравнению с контрольными субъектами, ВИЧ-1-инфицированные субъекты имели повышенную как спонтанную агрегацию тромбоцитов, так и агрегацию тромбоцитов в ответ на аденозиндифосфат, коллаген и арахидоновую кислоту [55].

Сообщалось о повышенных уровнях липополисахаридов у лиц, инфицированных ВИЧ. Тромбоциты способны взаимодействовать с бактериальным ЛПС и впоследствии формировать тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты (ТЛА). Повышенные уровни циркулирующих ТЛА напрямую коррелировали с маркерами иммунной активации, прогрессирования заболевания и агрегации тромбоцитов у лиц, не получающих антиретровирусную терапию [56].

Считается также, что тромбоциты могут напрямую ингибировать репликацию ВИЧ, распознавая молекулярные паттерны, связанные с повреждением и патогеном, активируясь и привлекая иммунные клетки, что может привести к клиренсу вируса. Но при этом во время инфекции ВИЧ чрезмерно выраженный системный воспалительный ответ, приводящий к активации и дисфункции тромбоцитов, способствует гиперкоагуляции и повышает риск тромбоза [57].

Статистически значимо высокую активность спонтанной агрегации тромбоцитов имели и пациенты с циррозом печени на фоне вирусного гепатита С [58].

САТ на фоне травматических повреждений изучалась на примерах холодовой и ожоговой травм. Было показано, что при исследовании показателя САТ у больных с местной холодовой травмой конечностей отмечается некоторое снижение агрегационного потенциала тромбоцитов относительно группы контроля, но данная тенденция была статистически не значима [59].

В то же время у детей после термической травмы наблюдалось увеличение спонтанной агрегации тромбоцитов, которая оставалась повышенной до полного закрытия ожоговых ран [60].

Заключение

Несмотря на непрерывное совершенствование антиагрегантной терапии, статистика развития тромботических осложнений соматических заболеваний остается неутешительной. Одним из классических компонентов процесса гемостаза являются тромбоциты. В последнее время все больше внимания уделяется и негемостатическим функциям тромбоцитов, таким как участие в процессах воспаления и регенерации, а также механизмам лейкоцитарно-тромбоцитарного и тромбоцитарно-эндотелиального взаимодействия.

В физиологических условиях циркулирующие в крови тромбоциты постоянно испытывают воздействие различных факторов, в том числе эндогенных индукторов агрегации, различных биологически активных веществ, включая цитокины, а также гемодинамическое воздействие, особенно при турбулентном кровотоке. Под влиянием этих воздействий происходит активация тромбоцитов, которая может проявляться в высвобождении из них биологически активных веществ, развитие спонтанной обратимой агрегации, образование агрегатов с лейкоцитами. При патологии эти изменения выходят за пределы физиологических колебаний и их можно рассматривать как один из универсальных механизмов патогенеза.

Особый интерес представляет феномен спонтанной обратимой агрегации *in vivo*.

Окончательно не ясными остаются его триггерные агенты, механизмы и биологическая роль. Кроме того, существуют технические трудности лабораторного исследования данного явления, связанные с особенностями пробоподготовки и выбором метода исследования. Изучение роли гемодинамических факторов, биологически активных веществ, влияющих на процессы агрегации и активации тромбоцитов, молекулярных структурных особенностей самих тромбоцитов является важным шагом к пониманию механизмов САТ и ее биологической роли *in vivo* в условиях нормы и патологии. В настоящее время в качестве механизмов данного феномена рассматриваются изменение концентрации ряда слабых агонистов (АДФ, серотонин, адреналин), рецепторного аппарата тромбоцитов (в частности, модификация конформации гликопротеиновых рецепторов, уменьшение количества пуриновых рецепторов, активация тромбоцитов через FcγRIIA), гемодинамических параметров.

Кроме того, анализ спонтанной агрегации тромбоцитов при различных клинических состояниях показывает перспективность этого показателя при должной стандартизации метода его оценки в качестве дополнительного прогностического маркера при сердечно-сосудистых заболеваниях, патологии беременности, инфекционных заболеваниях и травмах.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Финансирование / Financing

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00278, <https://rscf.ru/project/24-25-00278/> / The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-25-00278, <https://rscf.ru/project/24-25-00278/>.

Литература / References

- Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2011;105 Suppl 1:S13-33. Doi: 10.1160/THS10-11-0720.
- Haemmerle M, Stone RL, Menter DG, Afshar-Kharghan V, Sood AK. The Platelet Lifeline to Cancer: Challenges and Opportunities. *Cancer Cell.* 2018;33(6):965-983. Doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.002.
- Hayon Y, Shai E, Varon D, Leker RR. The role of platelets and their microparticles in rehabilitation of ischemic brain tissue. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2012;11(7):921-925. Doi: 10.2174/1871527311201070921.
- Salamanna F, Maglio M, Sartori M, Tschon M, Fini M. Platelet Features and Derivatives in Osteoporosis: A Rational and Systematic Review on the Best Evidence. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1762. Doi: 10.3390/ijms21051762.
- Rivera FJ, Kazanis I, Ghevaert C, Aigner L. Beyond Clotting: A Role of Platelets in CNS Repair? *Front Cell Neurosci.* 2016;9:511. Doi: 10.3389/fncel.2015.00511.
- Gawaz M, Vogel S. Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Blood.* 2013;122(15):2550-2554. Doi: 10.1182/blood-2013-05-468694.
- Kurokawa T, Zheng YW, Ohkohchi N. Novel functions of platelets in the liver. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016;31(4):745-751. Doi: 10.1111/jgh.13244.
- Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29(3):153-162. Doi: 10.1016/j.blre.2014.10.003.
- Siddon AJ, Tormey CA, Snyder EL. Platelet Transfusion Medicine. In book: *Platelets. 4th ed.* / eds by A.D. Michelson. Acad Press, 2019:1137-1159.
- Brill A, Varon D. Angiogenesis. In book: *Platelets. 2nd ed.* / eds by A.D. Michelson. Acad Press, 2007:757-768.
- Italiano JE, Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, Ryeom S, Folkman J, Klement GL. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet a granules and differentially released. *Blood.* 2008;111(3):1227-1233. Doi: 10.1182/blood-2007-09-113837.
- Brass L. Understanding and Evaluating Platelet Function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010;(1):387-396. Doi: 10.1182/asheducation-2010.1.387.
- Hellem AJ, Borchgrevink CF, Ames SB. The role of red cells in haemostasis: the relation between haematocrit, bleeding time and platelet adhesiveness. *Br J Haematol.* 1961;7:42-50. Doi: 10.1111/j.1365-2141.1961.tb00318.x.
- Coller BS. Historical perspective and future directions in platelet research. *J Thromb Haemost.* 2011;9 Suppl 1(Suppl 1):374-395. Doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04356.x.
- Wu KK, Hoak JC. A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency. *Lancet.* 1974;2(7886):924-926. Doi: 10.1016/s0140-6736(74)91131-3.
- Gabbasov ZA, Popov EG, Gavrilov IYu, Pozin EYa. Platelet aggregation: the use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension. *Thromb Res.* 1989;54(3):215-223. Doi: 10.1016/0049-3848(89)90229-6.
- Метод определения внутрисосудистой активности тромбоцитов и его значение в клинической практике / Шитикова А.С., Белязо О.Е., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. // *Клин. лаб. диагност.* – 1997. – № 2. – С. 23–35. [Shitikova AS, Belyazo OE, Tarkovskaya LR, Kargin VD. Method for determining intravascular platelet activity and its significance in clinical practice. *Clin Lab Diagnost.* 1997;(2):23-35. (in Russ.)].
- Vinholt PJ, Frederiksen H, Hvas AM, Sprogøe U, Nielsen C. Measurement of platelet aggregation, independently of patient platelet count: a flow-cytometric approach. *J Thromb Haemost.* 2017;15(6):1191-1202. Doi: 10.1111/jth.13675.
- Пономаренко Е.А., Игнатова А.А., Федорова Д.В. и др. Функциональная активность тромбоцитов: физиология и методы лабораторной диагностики // *Вопр. гематол./онкол. и иммунопатол. в педиатрии.* – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 112–119. [Ponomarenko YeA, Ignatova AA, Fedorova DV, Zharkov PA, Panteleyev MA. Functional activity of platelets: physiology and laboratory diagnostic methods. *Pediatric Hematol/Oncol Immunopathol.* 2019;18(3):112-119. (in Russ.)]. Doi: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-112-119.
- Cardinal DC, Flower R. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods.* 1980;3(2):135-158.
- Wan Azman WN, Omar J, Koon TS, Tuan Ismail TS. Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories. *Oman Med J.* 2019;34(2):94-98. Doi: 10.5001/omj.2019.19.
- Toshima H, Sugihara H, Hamano H, Sato M, Yamamoto M, Yamazaki S, Yamada Y, Taki M, Izumi S, Hoshi K, Fusegawa Y, Satoh K, Ozaki Y, Kurihara S. Spontaneous platelet aggregation in normal subject assessed by a laser light scattering method: an attempt at standardization. *Platelets.* 2008;19(4):293-239. Doi: 10.1080/09537100701883457.
- Gorman MW, Marble DR, Ogimoto K, Feigl EO. Measurement of adenine nucleotides in plasma. *Luminescence.* 2003;18(3):173-181. Doi: 10.1002/bio.721.
- Ledderose C, Valsami EA, Junger WG. Optimized HPLC method to elucidate the complex purinergic signaling dynamics that regulate ATP, ADP, AMP, and adenosine levels in human blood. *Purinergic Signal.* 2022;18(2):223-239. Doi: 10.1007/s11302-022-09842-w.
- Jabs CM, Ferrell WJ, Robb HJ. Plasma ADP levels: direct determination with luciferase luminescence using a biometer. *Clin Biochem.* 1978;11(5):190-193. Doi: 10.1016/s0009-9120(78)80027-7.
- Козловский В.И., Ковтун О.М., Сероухова О.П. и др. Методы исследования и клиническое значение агрегации тромбоцитов. Фокус на спонтанную агрегацию // *Вестн. ВГМУ.* – 2013. – № 4. – С. 79–91. [Kozlovskiy VI, Kovtun OM, Seroukhova OP, Detkovskaya IN, Kozlovskiy IV. Research methods and clinical significance of platelet aggregation. *Focus on spontaneous aggregation.* *Bull VSMU.* 2013;(4):79-91. (in Russ.)].
- Suzuki S, Kudo H, Koyama T. Assessment of spontaneous platelet aggregation using laser light scattering in healthy subjects: an attempt to standardize. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(6):676-85. Doi: 10.1111/ijlh.12208.
- Чефу С.Г. Гендерные особенности агрегационной активности тромбоцитов у крыс стока Wistar / И.З. Чхаидзе, Л.Н. Бельдиман, Е.Ю. Васина, Н.Н. Петрищев // *Научная интеграция в биомедицине: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. труд.* – Санкт-Петербург, 2023. – С. 272–288. [Chefu SG, Chkhaidze IZ, Beldiman LN, Vasina EYu, Petrishchev NN. Gender differences of Wistar rat platelet activity. In the collection: *Scientific integration in biomedicine: fundamental and applied aspects.* St. Petersburg, 2023:272-288. (in Russ.)].

29. Власов Т.Д., Яшин С.М. Артериальные и венозные тромбозы. Всегда ли применима триада Вирхова? // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – № 21 (1). – С. 78–86. [Vlasov TD, Yashin SM. Arterial and venous thrombosis. Is the Virchow's triad always valid? *Regional blood circulation and microcirculation*. 2022;21(1):78-86. (in Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-1-78-86.
30. Yakusheva AA, Butov KR, Bykov GA, Závodszyk G, Eckly A, Ataullakhanov FI, Gachet C, Pantelev MA, Mangin PH. Traumatic vessel injuries initiating hemostasis generate high shear conditions. *Blood Adv*. 2022;6(16):4834-4846. Doi: 10.1182/bloodadvances.2022007550.
31. Gachet C. Platelet activation by ADP: the role of ADP antagonists. *Ann Med*. 2000;32 Suppl 1:15-20.
32. Kauffenstein G, Bergmeier W, Eckly A, Ohlmann P, Leon C, Cazenave JP et al. The P2Y₁₂ receptor induces platelet aggregation through weak activation of the alpha_{IIb} beta₃ integrin – a phosphoinositide 3-kinase-dependent mechanism. *FEBS Lett*. 2001;505(2):281-290. Doi: 10.1016/s0014-5793(01)02824-1.
33. Ishii-Watabe A, Uchida E, Mizuguchi H, Hayakawa T. On the mechanism of plasmin-induced platelet aggregation. Implications of the dual role of granule ADP. *Biochem Pharmacol*. 2000;59(11):1345-1355. Doi: 10.1016/s0006-2952(00)00279-3.
34. Ottaiano TF, Andrade SS, de Oliveira C, Silva MCC, Buri MV, Juliano MA, Girão MJBC, Sampaio MU, Schmaier AH, Wlodawer A, Maffei FHA, Oliva MLV. Plasma kallikrein enhances platelet aggregation response by subthreshold doses of ADP. *Biochimie*. 2017;135:72-81. Doi: 10.1016/j.biochi.2017.01.010.
35. Zhang Q, Liao X, Wu F. The naphthoquinone plumbagin suppresses ADP-induced rat platelet aggregation through P2Y₁-PLC signaling pathway. *Pak J Pharm Sci*. 2017;30(2(Suppl.)):573-578.
36. Filkova AA, Martyanov AA, Garzon Dasgupta AK, Pantelev MA, Sveshnikova AN. Quantitative dynamics of reversible platelet aggregation: mathematical modelling and experiments. *Sci Rep*. 2019;9(1):6217. Doi: 10.1038/s41598-019-42701-0.
37. Baurand A, Eckly A, Hechler B, Kauffenstein G, Galzi J-L, Cazenave J-P et al. Differential regulation and relocalization of the platelet P2Y receptors after activation: a way to avoid loss of hemostatic properties? *Mol Pharmacol United States*. 2005;67(3):721-733.
38. Krause S, May J, Koslowski H, Heptinstall S, Lösche W. Enhanced Spontaneous Platelet Aggregation and red Blood Cell Fragility in Whole Blood Obtained from Patients with Diabetes. *Platelets*. 1991;2(4):203-206. Doi: 10.3109/09537109109005511.
39. Филькова А.А., Пантелеев Н.А., Свешникова А.Н. Обратимая агрегация тромбоцитов в присутствии ионов кальция: механизмы и потенциальная значимость // *Вопр. гематол./онкол. и иммунопатол. в педиатрии*. – 2019. – № 18 (3). – С. 120–129. [Fil'kova AA, Panteleyev NA, Sveshnikova AN. Reversible platelet aggregation in the presence of calcium ions: mechanisms and potential significance. *Pediatric Hematol/Oncol Immunopathol*. 2019;18(3):120-129. (in Russ.)]. Doi: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-120-129.
40. Cleanthis M, Smout J, Bhattacharya V, Ashour H, Dyker A, Ford GA, Mikhailidis DP, Stansby GP. Soluble but not platelet P-selectin correlates with spontaneous platelet aggregation: a pilot study. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2008;14(2):227-233. Doi: 10.1177/1076029607305915.
41. Robert H. Lee, Lucia Stefanini, Wolfgang Bergmeier. Platelet Signal Transduction. In book: *Platelets*. 4th ed. / eds by A.D. Michelson. Acad Press, 2019:329-348.
42. Duan R, Goldmann L, Li Y, Weber C, Siess W, von Hundelshausen P. Spontaneous Platelet Aggregation in Blood Is Mediated by FcγRIIA Stimulation of Bruton's Tyrosine Kinase. *Int J Mol Sci*. 2021;23(1):76. Doi: 10.3390/ijms23010076.
43. Arman M, Krauel K. Human platelet IgG Fc receptor FcγRIIA in immunity and thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2015;13(6):893-908. Doi: 10.1111/jth.12905.
44. Kuhnla A, Reinthaler M, Braune S, Maier A, Pindur G, Lendlein A, Jung F. Spontaneous and induced platelet aggregation in apparently healthy subjects in relation to age. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2019;71(4):425-435. Doi: 10.3233/CH-199006.
45. Berlin G, Hammar M, Tapper L, Tynngård N. Effects of age, gender and menstrual cycle on platelet function assessed by impedance aggregometry. *Platelets*. 2019;30(4):473-479. Doi: 10.1080/09537104.2018.1466387.
46. Bampalis VG, Brantl SA, Siess W. Why and how to eliminate spontaneous platelet aggregation in blood measured by multiple electrode aggregometry. *J Thromb Haemost*. 2012;10(8):1710-1714. Doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04819.x.
47. Mazurov AV, Khaspekova SG, Yakushkin VV, Khachikyan MV, Zyuryaev IT, Ruda MY. Spontaneous platelet aggregation in patients with acute coronary syndrome. *Bull Exp Biol Med*. 2013;155(1):89-91. Doi: 10.1007/s10517-013-2087-3.
48. Araki S, Matsuno H, Haneda M, Koya D, Kanno Y, Kume S, Isshiki K, Araki H, Ugi S, Kawai H, Kashiwagi A, Uzu T, Maegawa H. Cilostazol attenuates spontaneous microaggregation of platelets in type 2 diabetic patients with insufficient platelet response to aspirin. *Diabetes Care*. 2013;36(7):e92-e93. Doi: 10.2337/dc12-2702.
49. Wright JR, Chauhan M, Shah C, Ring A, Thomas AL, Goodall AH, Adlam D. The TICONC (Ticagrelor-Oncology) Study: Implications of P2Y₁₂ Inhibition for Metastasis and Cancer-Associated Thrombosis. *JACC Cardio Oncol*. 2020;2(2):236-250. Doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.009.
50. Огуркова О.Н., Сулова Т.Е., Баталов Р.Е. Исследование спонтанной и стимулированной агрегации тромбоцитов у пациентов с разными типами фибрилляции предсердий // *Клин. лаб. диагност.* – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 35–41. [Ogurkova ON, Suslova TE, Batalov RE. Study of spontaneous and stimulated platelet aggregation in patients with different types of atrial fibrillation. *Clin Lab Diagnost*. 2021;66(1):35-41. (in Russ.)]. Doi: 10.18821/0869-2084-2021-66-1-35-41.
51. Schneider GS, Rockman CB, Berger JS. Platelet activation increases in patients undergoing vascular surgery. *Thromb Res*. 2014;134(5):952-956. Doi: 10.1016/j.thromres.2014.08.009.
52. Umazume T, Yamada T, Morikawa M, Ishikawa S, Furuta I, Koyama T, Matsuno K, Minakami H. Platelet aggregation in citrated whole blood of the first trimester of pregnancy. *Clin Chim Acta*. 2015;448:60-64. Doi: 10.1016/j.cca.2015.06.011.
53. Burke N, Flood K, Muellers S, Murray A, Dunne E, Cotter B, Dempsey M, Dicker P, Geary MP, Kenny D, Malone FD. Reduced spontaneous platelet aggregation: a novel risk factor for adverse pregnancy outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016;199:132-136. Doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.02.010.
54. van Hezel ME, van Manen L, Boshuizen M, Straat M, De Cuyper IM, Beuger B, Nieuwland R, Tanck MWT, de Korte D, Zwaginga JJ, van Bruggen R, Juffermans NP. The effect of red blood cell transfusion on platelet function in critically ill patients. *Thromb Res*. 2019;184:115-121. doi: 10.1016/j.thromres.2019.10.028.
55. O'Brien M, Montenont E, Hu L, Nardi MA, Valdes V, Merolla M, Gettenberg G, Cavanagh K, Aberg JA, Bhardwaj N, Berger JS. Aspirin attenuates platelet activation and immune activation in HIV-1-infected subjects on antiretroviral therapy: a pilot study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013;63(3):280-288. Doi: 10.1097/QAI.0b013e31828a292c.

56. Nkambule BB, Davison G, Ipp H. Platelet leukocyte aggregates and markers of platelet aggregation, immune activation and disease progression in HIV infected treatment naive asymptomatic individuals. *J Thromb Thrombolysis*. 2015;40(4):458-467. Doi: 10.1007/s11239-015-1212-8.

57. Awamura T, Nakasone ES, Gangcuangco LM, Subia NT, Bali AJ, Chow DC, Shikuma CM, Park J. Platelet and HIV Interactions and Their Contribution to Non-AIDS Comorbidities. *Biomolecules*. 2023;13(11):1608. Doi: 10.3390/biom13111608.

58. Галеева Н.В. Тромбоцитарный гемостаз и хронический гепатит С // *Вестн. соврем. клин. мед.* – 2019. – № 2. – С. 23–28. [Galeyeva NV. Platelet hemostasis and chronic hepatitis C. *Bull Modern Clin Med*. 2019;(2):23-28. (in Russ.)]. Doi: 10.20969/VSKM.2019.12(2).23-28.

59. Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Михайличенко С.И. Изменения агрегации тромбоцитов у больных с криотравмой // *Хир. практика.* – 2011. – Т. 3. – С. 21–23. [Mikhailichenko MI, Sharovalov KG, Mikhailichenko SI. Changes of platelet aggregation in patients with create vol. *Surg Pract*. 2011;3:21-23. (in Russ.)].

60. Агрегация и размер тромбоцитов у детей с ожоговой болезнью / Левин Г.Я., Поповичева А.Н., Соснина Л.Н., Шереметьев Ю.А. // *Рос. журн. гематол. и трансфузиол.* – 2019. – № 4. – С. 462–470. [Levin GYa, Popovicheva AN, Sosnina LN, Sheremet'yev YuA. Platelet aggregation and size in children with burn disease. *Russ J Hematol Transfusiol*. 2019;(4):462-470. (in Russ.)]. Doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-462-470.

Информация об авторах

Власова Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева, г. Саранск, Россия, e-mail: vlasova-t.i@bk.ru, ORCID: 0000-0002-2624-6450.

Якушкина Анастасия Сергеевна – соискатель кафедры нормальной и патологической физиологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный универси-

тет имени Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия, e-mail: anastacia.yakushkina@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7190-9268.

Петришев Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lazmed@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-4760-2394.

Чефу Светлана Григорьевна – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных исследований ЦЛМ НОИ Биомедицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: chefusveta@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9249-660X.

Власов Тимур Дмитриевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: tvlasov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-6951-7599.

Authors information

Vlasova Tatyana I. – MD, Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: vlasova-t.i@bk.ru, ORCID: 0000-0002-2624-6450.

Yakushkina Anastasia S. – Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: anastacia.yakushkina@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7190-9268.

Petrishchev Nikolay N. – MD, Professor, Department of Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lazmed@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-4760-2394.

Chefu Svetlana G. – Candidate (PhD) of Biological Sciences, Head, Laboratory of Experimental Research, Center for Laser Medicine, Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Pavlov University, Saint Petersburg, e-mail: chefusveta@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9249-660X.

Vlasov Timur D. – MD, Professor, Head, Department of Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: tvlasov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-6951-7599.

УДК 616-092

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-12-18

Н. Н. СМЕРНОВА, Н. Б. КУПРИЕНКО

Роль регуляторов фосфорно-кальциевого обмена в развитии кардиоренального синдрома

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: nephro-uro-kids@mail.ru

Статья поступила в редакцию 20.03.24 г.; принята к печати 27.05.24 г.

Резюме

Кардиоренальный синдром – сложное состояние, относящееся к категории острой или хронической патологии почек, вызывающих сердечно-сосудистые заболевания, и, наоборот, острых или хронических заболеваний сердца, провоцирующих дисфункцию почек. Взаимосвязь патологии сердечно-сосудистой системы и почек обусловлена общностью факторов риска патологии обеих систем. В последние годы доказана связь регуляторов минерального обмена – витамина D, паратиреотропного гормона, эндокринных факторов роста фибробластов 19, 21, 23, белка Клото – с развитием сердечной недостаточности, мерцательной аритмии, гипертрофии левого желудочка сердца, а также с прогрессированием хронической болезни почек. Ранними маркерами хронической болезни почек и сердечно-сосудистых заболеваний признаны повышенный уровень фактора роста фибробластов-23 и снижение растворимой фракции белка Клото в плазме крови. Дальнейшее изучение влияния регуляторов минерального обмена на кардиоренальный синдром создает новое направление в лечении сердечно-сосудистых заболеваний и хронической болезни почек.

Ключевые слова: кардиоренальный синдром, витамин D, паратиреотропный гормон, эндокринные факторы роста фибробластов, белок Клото.

Для цитирования: Смирнова Н. Н., Куприенко Н. Б. Роль регуляторов фосфорно-кальциевого обмена в развитии кардиоренального синдрома. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):12–18. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-12-18.

UDC 616-092

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-12-18

N. N. SMIRNOVA, N. B. KUPRIENKO

Role of phosphorus-calcium metabolism regulators in cardiorenal syndrome development

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

Received 20.03.24; accepted 27.05.24

Summary

Cardiorenal syndrome is a complex condition that belongs to the category of acute or chronic kidney pathology that causes cardiovascular disease, and, conversely, acute or chronic heart disease that provokes kidney dysfunction. The relationship between the pathology of the cardiovascular system and the kidneys is due to the commonality of risk factors for the pathology of both systems. In recent years, the link between regulators of mineral metabolism - vitamin D, parathyroid hormone, endocrine growth factors of fibroblasts 19,21,23, Klotho protein with the development of heart failure, atrial fibrillation, left ventricular hypertrophy, as well as the progression of chronic kidney disease has been proven. The increased levels of fibroblast growth factor-23 and a decrease in the soluble fraction of Klotho protein in plasma are recognized as early markers of chronic kidney disease and cardiovascular disease. Further study of the influence of mineral exchange regulators on cardiorenal syndrome creates a new direction in the treatment of cardiovascular diseases and chronic kidney disease.

Keywords: cardiorenal syndrome, vitamin D, parathyroid hormone, endocrine growth factors of fibroblasts, Klotho protein

For citation: Smirnova N. N., Kuprienko N. B. Role of phosphorus-calcium metabolism regulators in cardiorenal syndrome development. Regional hemodynamics and microcirculation. 2024;23(3):12–18. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-12-18.

Патология сердечно-сосудистой системы и хроническая болезнь почек (ХБП) все чаще диагностируются у педиатрических пациентов и представляют собой факторы риска сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности в более позднем возрасте. Кардиореналь-

ный синдром (КРС) – сложное состояние, относящееся к категории острой или хронической патологии почек, вызывающих сердечно-сосудистые заболевания, и, наоборот, острых или хронических заболеваний сердца, провоцирующих дисфункцию почек.

Таблица 1

Подтипы кардиоренального синдрома по определению ADQI (2010) [1]

Table 1

Cardiorenal syndrome subtypes as defined by ADQI (2010) [1]

Острый кардиоренальный синдром (тип 1): острое ухудшение сердечной функции, приводящее к дисфункции почек
Хронический кардиоренальный синдром (тип 2): хронические нарушения сердечной функции, приводящие к дисфункции почек
Острый ренокардиальный синдром (тип 3): острое ухудшение функции почек, вызывающее сердечную дисфункцию
Хронический ренокардиальный синдром (тип 4): хронические нарушения функции почек, приводящие к сердечно-сосудистым заболеваниям
Вторичные кардиоренальные синдромы (тип 5): системные состояния, вызывающие одновременную дисфункцию сердца и почек

Таблица 2

Система классификации кардиоренального синдрома по Хатамизаде и др. (2013) [2]

Table 2

Cardiorenal syndrome classification by Hatamizadeh et al. (2013) [2]

Категория КРС (подклассификация)	Проявление
Гемодинамический (острый/хронический)	Нарушение функции почек вследствие сердечного выброса
Уремический (острый/хронический)	Уремическая кардиомиопатия, уремический плеврит, уремический перикардит
Сосудистый (острый/хронический)	Ишемическая болезнь сердца, тромбоз почечной артерии, стеноз почечной артерии
Нейрогуморальный (острый/хронический)	Аномальные уровни кальция, калия, магния в сыворотке крови и активированная РААС
Анемия и/или метаболизм железа (острая/хроническая)	Дефицит железа, почечное канальцевое повреждение, инфекция, дефицит фолиевой кислоты
Минеральный обмен (в основном хронический)	Витамин D, повышенный уровень FGF 23, гиперкальциемия, гиперфосфатемия
Недоедание/воспаление-кахексия (в основном хроническая)	Кахексия, нарушение питания и воспаление

Примечание: РААС – ренин-ангиотензиновая система; FGF-23 – фактор роста фибробластов 23.

Общий термин и отдельные подтипы (табл. 1) были разработаны Инициативой по качеству острого диализа (ADQI) (Дискретные подтипы кардиоренального синдрома по определению ADQI) [1].

Хатамизаде и др. предложили классифицировать КРС на семь отдельных категорий, основанных на патофизиологических механизмах и реакции на стратегии лечения: 1) гемодинамический; 2) уремический; 3) сосудистый; 4) нейрогуморальный; 5) анемия и/или метаболизм железа; 6) минеральный обмен; 7) нарушение питания–воспаление–кахексия (табл. 2) [2].

Сложная взаимосвязь между сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) и заболеваниями почек является результатом взаимодействия многочисленных факторов риска ССЗ, и факторов риска, связанных с ХБП, таких как уремические токсины и маркеры минеральных и костных нарушений при ХБП [3–5].

Накопленные данные свидетельствуют о том, что хроническая болезнь почек (ХБП) и минеральные и костные нарушения (ХБП-МКН) тесно связаны со смертностью от ССЗ. Выявление возможных ранних биомаркеров ХБП-МКН привело к изучению

роли витамина D, фактора роста фибробластов-23 (FGF23), белка Клото (Klotho) и паратиреоидного гормона (ПТГ) в патогенезе КРС. В настоящее время хорошо известно, что действие этих факторов при ХБП выходит за рамки только нарушений костного метаболизма. Существует тесная зависимость между уровнями FGF-23, ПТГ, витамина D, кальция, фосфатов и белком Клото. Эта физиологическая сеть состоит из механизма обратной связи, посредством которого нарушения уровня одного из этих веществ приводят к изменениям уровней всех других [6].

В последние годы стали известны молекулярные механизмы обмена кальция и фосфора не только в костной ткани, но и в соматических органах – сердце, сосудах, почках и роль витамина D, FGF-23, ПТГ, белка Клото в регуляции обмена этих элементов [7].

Активная форма витамина D-1,25(OH)2D- реализует свое действие, связываясь со специфическим ядерным рецептором витамина D (VDR). Установлено существенное воздействие активированного VDR на экспрессию более чем 200 генов, лишь небольшая часть которых (7–10 %) кодирует белки, вовлеченные в обеспечение фосфорно-кальциевого обмена. Помимо

генов белков-регуляторов фосфорно-кальциевого обмена, активированный VDR регулирует экспрессию таких генов, как *REN* (ренин; обеспечивает регуляцию артериального давления, являясь ключевым элементом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы регуляции), *IGFBP* (связывающий белок инсулиноподобного фактора роста; усиливает действие инсулиноподобного фактора роста), *FGF23* и *FGFR23* (фактор роста фибробластов-23 и его рецептор, регулирует уровни фосфат-аниона, процессы клеточного деления фибробластов), *TGFβ1* (трансформирующий фактор роста бета-1; регулирует процессы клеточного деления и дифференцировки остеоцитов, хондроцитов, фибробластов и кератиноцитов), *LRP2* (ЛПНП-рецептор-связанный белок 2; является посредником эндоцитоза липопротеинов низкой плотности) и *INSR* (рецептор инсулина; обеспечивает эффекты инсулина на любые типы клеток) [8].

Витамин D и ПТГ – основные регуляторы гомеостаза Ca^{2+} . Снижение концентрации Ca^{2+} в сыворотке крови активирует синтез ПТГ в паращитовидной железе. ПТГ связывается с рецепторами ПТГ в почках, стимулируя реабсорбцию Ca^{2+} , а также увеличивая синтез витамина D. Соединение витамина D с VDR паращитовидной железы ингибирует синтез ПТГ, что представляет собой важный механизм обратной связи, поддерживающей гомеостаз Ca^{2+} . Потеря почечной функции часто связана с дефицитом витамина D и повышенным синтезом ПТГ (вторичный гиперпаратиреоз) [9].

Сниженные уровни витамина D в сыворотке у почечных больных возникают из-за нарушения активности почечного фермента 1- α -гидроксилазы, которая превращает 25-гидроксивитамин D₃ в активную гормональную форму витамина D – 1,25(OH)₂D₃. Витамин D и ПТГ не только важны для гомеостаза Ca^{2+} , но также играют важную роль в фосфатном гомеостазе. ПТГ действует на котранспортеры натрия/фосфата типа II для снижения реабсорбции почечного фосфата. На уровне кишечника связывание витамина D с VDR на энтероцитах также увеличивает экспрессию натрий-зависимого фосфатного транспортера Pit-2, облегчая абсорбцию фосфата. Хорошо известно, что изменения как витамина D, так и ПТГ связаны с важными сердечно-сосудистыми изменениями, особенно у пациентов с ХБП. Дефицит витамина D связан с более высоким риском гипертрофии сердца, дисфункции левого желудочка, развития сердечной недостаточности. В связи с этим несколько исследований показали, что лечение аналогами витамина D, такими как парикальцит, может уменьшить кальцификацию сосудов [10] и гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ) [11] в условиях ХБП-5. Кроме того, было также показано, что лечение парикальцитом препятствует прогрессированию сердечной недостаточности за счет улучшения всасывания Ca^{2+} даже в отсутствие почечной недостаточности [12]. Гипокальциемия и гиперфосфатемия (ГФЕ) стимулируют продукцию ПТГ, который рассматривается как уремический токсин из-за его неблагоприятного действия на сердце (развитие диффузного сердечного интерстициального фиброза, аритмии) и костную

ткань (резорбция, фиброзный остит) и высоким риском смерти у пациентов с патологией почек [13].

Феномен уменьшения плотности костной ткани (МПК) при ХБП изначально описывался как снижение 1,25(OH)₂D, синтезируемого в почках, что приводит к гипокальциемии. С другой стороны, снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) вызывает задержку фосфатов [14]. Гомеостаз фосфата зависит от баланса между потреблением фосфата с пищей, мобилизацией фосфата из кости и экскрецией почечного фосфата. Классически уровни фосфатов в сыворотке считаются основной причиной повышенного риска сердечно-сосудистых заболеваний среди почечных пациентов, включая более высокий риск смертности [15]. Фосфаты признаны фактором, способствующим кальцификации сосудов у почечных пациентов [16]. Кроме того, повышенные уровни фосфатов связаны с ремоделированием левого желудочка у пациентов с ХБП [17].

Уровень фосфатурического гормона FGF23 в сыворотке крови повышается с ранних стадий ХБП в ответ на задержку фосфора (P) и приводит к увеличению экскреции P, тем самым поддерживая нормальный уровень фосфатов в сыворотке крови. Для реализации фосфатурического эффекта FGF23 необходим его кофактор – белок Клото. Этот белок синтезируется в проксимальных отделах почечных канальцев. Однако экспрессия Клото зависит от функции почек и его уровень начинает снижаться с ранних стадий ХБП. Таким образом, повышение сывороточного FGF23 на ранних стадиях ХБП является адаптивным механизмом, однако при прогрессирующем снижении функции почек (СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м²) FGF23 не может обеспечить достаточную экскрецию фосфора, несмотря на его высокую концентрацию в сыворотке крови, и развивается ГФЕ [18].

Следовательно, повышенные уровни ПТГ или витамина D стимулируют синтез FGF23, а пониженная почечная экспрессия Клото увеличивает сывороточную фосфатную нагрузку, которая также стимулирует синтез FGF23. Эти минеральные нарушения являются классическими осложнениями при ХБП, но в последние несколько десятилетий было показано, что они также оказывают огромное влияние на сердечную ткань, поскольку они оказывают прямое и косвенное кардиотоксическое действие, такое как развитие гипертрофии левого желудочка, сердечную недостаточность и аритмию. Дефицит витамина D, вторичный гиперпаратиреоз и ГФЕ считались основными факторами, способствующими развитию ССЗ при ХБП. Однако исследования последних лет доказывают значимость FGF23 как основного звена в патогенезе КРС и главного маркера поражения ССС и почек. FGF23 принадлежит к семейству эндокринных факторов роста фибробластов, включающих еще FGF19, FGF21. Последние экспериментальные данные и клинические наблюдения доказывают влияние и этих факторов роста фибробластов на ССС [19]. В основном FGF19 и FGF21 действуют как антагонисты FGF23 и протекторы ССС.

FGF19 секретируется кишечником во время приема пищи и негативно регулирует синтез желчных

Роли эндокринных FGFS, по данным *in vivo* на нокаутных фенотипах мышей (адаптировано по [23])

Table 3

Roles of endocrine FGFS, as measured *in vivo* on knockout mouse phenotypes (adapted from [23])

FGF19	Морфогенез тракта сердечного оттока Метаболизм желчных кислот в печени, заполнение желчного пузыря Метаболизм белка и гликогена в печени Регенерация печени Фиброзный гепатоцеллюлярный канцерогенез
FGF21	Липолиз в белой жировой ткани Адаптация к кетогенной диете Стимулятор выработки адипонектина Способствует метаболизму глюкозы, энергии и липидов, контролируемому глюкагоном Пролиферация β -клеток поджелудочной железы и синтез инсулина Защита поджелудочной железы от повреждения Тормозит развитие диабетической кардиомиопатии Тормозит ремоделирование аорты
FGF23	Усиливает экскрецию фосфата в почках Блокирует 1- α -гидроксилазу, снижая синтез 1,25(OH) ₂ D в почках, что приводит к снижению абсорбции P и Ca в желудочно-кишечном тракте Имеет решающее значение для нормального развития среднего уха, а также функций среднего и внутреннего уха

кислот и их секрецию. При ишемической болезни сердца уровень FGF19 снижается. При этом выявлена положительная корреляция между FGF19 и холестерином липопротеинов низкой плотности (ЛНП). Предполагается, что FGF19 препятствует развитию ишемии миокарда [20].

Основным местом синтеза и секреции FGF21 является печень, однако его экспрессия также обнаруживается в белой и коричневой жировой ткани, скелетных мышцах, β -клетках поджелудочной железы, плаценте и тканях сердца [21]. Содержание FGF21 повышается в крови при гипертонической болезни, при патологии, сопровождаемой нарушением липидного профиля с преобладанием липопротеинов низкой плотности, у больных с мерцательной аритмией. Уровень FGF21 увеличивался в первые дни острого инфаркта миокарда. При этом его концентрация коррелировала с содержанием мозгового натрийуретического протеина (BNP, brain natriuretic protein) – признанного маркера сердечно-сосудистых заболеваний. Эти исследования показывают, что FGF21 может быть признан еще одним маркером ССЗ. Сердце, по-видимому, является мишенью локально генерируемого FGF21, действующего на кардиомиоциты, возможно, паракринным способом. FGF21 предотвращает выработку активных форм кислорода в клетках сердца, действуя как антиоксидантный фактор, тем самым предотвращая проокислительные пути при воспалительных или гипертрофических состояниях. Несмотря на то, что FGF19 и FGF21 активируются в различных условиях, они дублируют друг друга, повышая толерантность к глюкозе, чувствительность к инсулину, потере веса и обмену липидов [22]. В табл. 3 представлены основные роли трех эндокринных факторов фибробластов по данным, полученным в эксперименте с нокаутными мышами.

FGF23 положительно коррелирует с классическими биомаркерами повреждения сердца, такими как

натрийуретический пептид N-terminal-pro-B-типа (NT-proBNP), высокочувствительный сердечный тропонин T (hs-cTnT). Продемонстрировано, что прогностическая ценность комбинации этих биомаркеров при оценке сердечно-сосудистого риска значительно выше, чем у любого из них в отдельности. Однако в конкретных клинических обстоятельствах несколько авторов отметили актуальность FGF23 как независимого биомаркера [24].

Кофактор FGF23 – белок Клото так же как FGF19 и FGF21 оказывает протективное действие на ССС. Известно, что инактивация гена Клото в эксперименте вызывает атеросклероз, остеопороз, патологию ССС. Стимуляция выработки Клото приводит к уменьшению кальцификации сосудов, замедляет развитие атеросклероза и в значительной степени ликвидирует эндотелиальную дисфункцию [25].

Гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ), сердечная недостаточность, аритмии, инфаркт миокарда (ИМ) и сосудистые изменения, такие как инсульт и кальцификация сосудов, являются наиболее распространенными неблагоприятными и смертельными сердечными событиями, изученными в связи с FGF23.

В настоящее время несколько исследований связывают высокие уровни FGF23 в плазме с увеличением массы левого желудочка (МЛЖ) и, следовательно, со степенью гипертрофии сердца [26–28]. В частности, увеличение в циркуляции FGF23 было связано с большим риском концентрической гипертрофии, которая, по-видимому, является компенсаторной гипертрофией сердца, приводящей к увеличению толщины стенки без расширения желудочков [29]. Еще один возможный механизм развития гипертрофии сердца и фиброза у пациентов с ХБП – активация системы ренин-ангиотензин-альдостерон (RAAS), опосредованная FGF23 [29].

Хорошо известно, что ГЛЖ вызывает патологические изменения в структуре и функции сердца, уве-

личивая риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, таких как аритмии, ишемическая болезнь сердца и *сердечная недостаточность* (СН). Действительно, было показано, что повышение уровня циркулирующего FGF23 тесно связано с СН. Во многих исследованиях выявлена корреляция высоких уровней FGF-23 в плазме со сниженной фракцией выброса левого желудочка (менее 40 %), что указывает на непосредственную связь высоких уровней FGF23 с систолической дисфункцией. Кроме того, высокие уровни FGF23 в плазме также коррелируют с *альбуминурией* при ХБП, которая тесно связана с сердечной недостаточностью при сниженной фракции выброса (HFrEF), но не с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (HFpEF) [30]. Тем не менее несколько авторов показали, что повышенные уровни FGF23 имеют место в обоих типах сердечной недостаточности [31, 32].

Повышение уровня FGF23 в плазме связано с *нарушениями сердечного ритма* [33, 34]. Существует несколько механизмов, с помощью которых высокие уровни FGF23 могут вызвать мерцательную аритмию (МА). FGF23 вызывает изменения в структуре сердца, такие как ГЛЖ, а также связан с кальцификацией сосудов. Оба фактора изменяют давление наполнения, тем самым увеличивая размер предсердий, основной фактор риска МА [35]. Нормальная работа сердца напрямую зависит от функции клеток сердца, то есть от точного и скоординированного цикла сокращения и релаксации кардиомиоцитов. Во время сокращения изменяется потенциал действия мембраны кардиомиоцитов; внутриклеточная концентрация Ca^{2+} увеличивается и Ca^{2+} связывается с тропонином С в миофиламентах, начиная сокращение кардиомиоцитов. Чтобы обеспечить физиологическое расслабление, уровни Ca^{2+} должны снижаться в той же степени, что и предыдущее увеличение [36]. Это снижение цитозольного Ca^{2+} в основном происходит с помощью двух различных процессов: 92 % цитозольного Ca^{2+} закачивается обратно в саркоплазматический ретикулум и, в меньшей степени (7 %), Ca^{2+} экстрадируется из цитоплазмы во внеклеточную среду. Показано, что FGF23 участвует в этой обработке Ca^{2+} путем увеличения фосфорилирования регуляторных белков, стимулирующих кардиомиоциты к развитию клеточного фенотипа, связанного с сократительной дисфункцией, что предрасполагает к аритмии [36].

Кальцификация сосудов является основным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, что способствует высокой смертности [37]. FGF23, как фактор минерального метаболизма, играет важную роль в кальцификации тканей, модулируя нарушения кальциевого и фосфатного баланса. Взаимосвязь между повышенными системными уровнями FGF23 и кальцификацией сосудов была продемонстрирована экспериментально *in vitro*, у пациентов с установленным сердечно-сосудистым заболеванием, у пациентов с сахарным диабетом и ХБП [38]. Исследования *in vitro* показывают, что высокий уровень FGF23, воздействуя на его специфические рецепторы (FGFR1-FGFR4), вызывает изменение фенотипа

гладкомышечных клеток сосудов (ГМКС) с сократительного на синтетический. Это изменение в ГМКС увеличивает жесткость артерий, что в конечном итоге ухудшает работу ССС [39]. Недавние работы показали, что FGF23 может сам по себе вызывать проаритмогенные события в изолированных желудочковых кардиомиоцитах взрослых крыс из-за изменений в обработке Ca^{2+} [6].

Клото является белком, в основном экспрессируемым в почках, хотя он также экспрессируется в других органах, таких как мозг, гипофиз и яичники. Существуют две мембранные изоформы Клото, α -Клото и β -Клото. α -Клото действует как кофактор FGFR в почке. α -Клото в основном экспрессируется в проксимальных канальцах, где происходит реабсорбция фосфата. Мембранный α -Клото может расщепляться секретазами (ADAM10 и ADAM17), которые высвобождают растворимую форму Клото, или sKL.

sKL функционирует как эндокринный фактор для широкого спектра поверхностных гликопротеинов, таких как ионные каналы, и рецепторов фактора роста, таких как инсулиноподобные рецепторы, участвующие в устойчивости к стрессу, контроле старения, реабсорбции фосфатов и защите от воспаления [40].

Уровни сывороточного α -Клото снижаются по мере прогрессирования почечной недостаточности. Более высокие уровни sKL связаны с более низким риском снижения функции почек [41]. Экспериментальные исследования показали, что отсутствие Клото связано с сердечно-сосудистой патологией [42].

Клото-дефицитные мыши характеризуются гиперфосфатемией и чрезвычайно повышенными уровнями FGF23 сыворотки. У мышей с дефицитом Клото также наблюдается гипертрофия сердца [43] и сердечная дисфункция. Напротив, мыши со сверхэкспрессией по Клото защищены от сердечной дисфункции при индукции ХБП [44]. Однако неясно, являются ли изменения в сердце, описанные в отсутствие Клото, прямым следствием дефицита Клото или вызваны последующим чрезвычайно повышенным FGF23 сыворотки. Повышенное содержание Клото защищает от FGF23-индуцированной сердечной дисфункции *in vitro* [45] и развития ХПБ у мышей [46].

Кроме того, было обнаружено, что повышенные уровни Клото защищают от сердечно-сосудистых изменений, возникающих у мышей со сниженной экспрессией этого белка [47].

Известно, что инактивация гена Клото в эксперименте вызывает атеросклероз, остеопороз, патологию ССС. Стимуляция выработки Клото приводит к уменьшению кальцификации сосудов, замедляет развитие атеросклероза и в значительной степени ликвидирует эндотелиальную дисфункцию [47].

Заключение

За последнее десятилетие появляется все больше доказательств, что регуляторы минерального обмена – витамин D, ПТГ, эндокринные факторы роста фибробластов, белок Клото существенно влияют на

ССС. В настоящее время разрабатываются терапевтические подходы к воздействию на ось минеральных регуляторов, что в будущем позволит значительно уменьшить риск ССЗ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература/ References

- House AA, Anand I, Bellomo R et al. Definition and classification of Cardio-Renal Syndromes: workgroup statements from the 7th ADQI Consensus Conference. *Nephrol Dial Transpl ant*. 2010;25(5):1416-1420.
- Hatamizadeh P, Fonarow GC, Budoff MJ, Darabian S, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Cardiorenal syndrome: pathophysiology and potential targets for clinical management. *Nat Rev Nephrol*. 2013;9(2):99-111. Doi: 10.1038/nrneph.2012.279.
- Waziri B, Duarte R, Naicker S. Chronic kidney disease—mineral and bone disorder (CKD-MBD): Current perspectives. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2019;12:263-276. Doi: 10.2147/IJNRD.S191156.
- de Albuquerque Suassuna PG, Sanders-Pinheiro H, De Paula RB. Uremic cardiomyopathy: A new piece in the chronic kidney disease-mineral and bone disorder puzzle. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:206. Doi: 10.3389/fmed.2018.00206.
- Rroji M, Figurek A, Spasovski G. Should we consider the cardiovascular system while evaluating CKD-MBD? *Toxins*. 2020;12(3):140. Doi: 10.3390/toxins12030140.
- Navarro-García JA, Fernández-Velasco M, Delgado C, Delgado JF, Kuro-O M, Ruilope LM et al. PTH, vitamin D, and the FGF-23-klotho axis and heart: Going beyond the confines of nephrology. *Eur J Clin Invest*. 2018;48(4):e12902. Doi: 10.1111/eci.12902.
- Куприенко Н.Б., Смирнова Н.Н. Витамин D, ожирение и риск кардиоренальных нарушений у детей // Артер. гипертензия. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 48–58. [Kuprienko NB, Smirnova NN. Vitamin D, obesity and cardiorenal disorders risk in children. *Arter Hypertens*. 2015;21(1):48-58. (in Russ.)].
- Громова О.А., Торшин И.Ю. Витамин D – смена парадигмы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 736 с. [Gromova OA, Torshin IYu. Vitamin D – smena paradigmy. Moscow, GEOTAR-Media, 2021:736. (in Russ.)].
- Naveh-Many T, Volovelsky O. Parathyroid Cell Proliferation in Secondary Hyperparathyroidism of Chronic Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(12):4332. Doi: 10.3390/ijms21124332.
- Anis KH, Pober D, Rosas SE. Vitamin D Analogues and Coronary Calcification in CKD Stages 3 and 4: a Randomized Controlled Trial of Calcitriol Versus Paricalcitol. *Kidney Med*. 2020;2(4):450-458. Doi: 10.1016/j.xkme.2020.05.009.
- Leifheit-Nestler M, Grabner A, Hermann L, Richter B, Schmitz K, Fischer DC. Vitamin D treatment attenuates cardiac Fgf23/Fgfr4 signaling and hypertrophy in uremic rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(9):1493-1503. Doi: 10.1093/ndt/gfw454.
- Tamayo M, Martín-Nunes L, Val-Blasco A, G M-Piedras MJ, Navarro-García JA, Lage E. Beneficial effects of paricalcitol on cardiac dysfunction and remodelling in a model of established heart failure. *Br J Pharmacol*. 2020;177(14):3273-3290. Doi: 10.1111/bph.15048.
- Molina P, Molina MD, Pallardó LM, Torralba J, Escudero V, Álvarez L et al. Disorders in bone-mineral parameters and the risk of death in persons with chronic kidney disease stages 4 and 5: the Pecera study. *J Nephrol*. 2021;34(4):1189-1199. Doi: 10.1007/s40620-020-00916-9.
- Bacchetta J, Bernardor J, Garnier C, Naud C, Ranchin B. Hyperphosphatemia and Chronic Kidney Disease: a Major Daily Concern Both in Adults and in Children. *Calcif Tissue Int*. 2020;108(1):116-127. Doi: 10.1007/s00223-020-00665-8.
- Moon H, Chin HJ, Na KY, Joo KW, Kim YS, Kim S et al. Hyperphosphatemia and risks of acute kidney injury, end-stage renal disease, and mortality in hospitalized patients. *BMC Nephrol*. 2019;20(1):362. Doi: 10.1186/s12882-019-1556-y.
- Cozzolino M, Ciceri P, Galassi A, Mangano M, Carrugo S, Capelli I et al. The Key Role of Phosphate on Vascular Calcification. *Toxins*. 2019;11(4):213. Doi: 10.3390/toxins11040213.
- Zou J, Yu Y, Wu P, Lin F J, Yao Y, Xie Y. Serum phosphorus is related to left ventricular remodeling independent of renal function in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Int J Cardiol*. 2016;221:134-140. Doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.181.
- Vogt I, Haffner D, Leifheit-Nestler M. FGF23 and phosphate-cardiovascular toxins in CKD. *Toxins (Basel)*. 2019;11(11):647. Doi: 10.3390/toxins11110647.
- Zangerolamo L, Carvalho M, Velloso LA, Helena CL Barbosa. Endocrine FGFs and their signaling in the brain: Relevance for energy homeostasis. *Eur J Pharmacol*. 2024;963:176248. Doi: 10.1016/j.ejphar.2023.176248.
- Hao Y, Zhou J, Zhou M et al. Serum levels of fibroblast growth factor 19 are inversely associated with coronary artery disease in Chinese individuals. *PLoS One*. 2013;8(8):e72345. Doi: 10.1371/journal.pone.0072345.
- Flippo KH, Potthoff MJ. Metabolic Messengers: FGF21. *Nat Metab*. 2021;3(3):309-317. Doi: 10.1038/s42255-021-00354-2.
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. и др. Факторы роста фибробластов FGF19, FGF21, FGF23 как эндокринные регуляторы физиологических функций и геропротекторы. Эпигенетические механизмы регуляции // Успехи соврем. биол. – 2017. – Т. 131, № 1. – С. 84–99. [Kuznik BI, Khavinson VKh, Linkova NS, Ryzhak GA, Sall' TS, Trofimova SV. Faktory rosta fibroblastov FGF19, FGF21, FGF23 kak endokrinnyye regulatory fiziologicheskikh funktsiy i geroprotektory. Epigeneticheskiye mekhanizmy regulyatsii. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2017;131(1):84-99. (in Russ.)].
- Itoh N, Ohta H, Konishi M. Endocrine FGFs: evolution, physiology, pathophysiology, and pharmacotherapy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6:154. Doi: 10.3389/fendo.2015.00154.
- Vázquez-Sánchez S, Poveda J, Navarro-García JA, González-Lafuente L, Rodríguez-Sánchez E, Ruilope LM, Ruiz-Hurtado G. An Overview of FGF-23 as a Novel Candidate Biomarker of Cardiovascular Risk. *Front Physiol*. 2021;12:632260. Doi: 10.3389/fphys.2021.632260.
- Fukumoto S. FGF23-FGF receptor/Klotho pathway as a new drug target for disorders of bone and mineral metabolism. *Calcified Tissue Int*. 2016;98(4):334-340. Doi: 10.1007/s00223-015-0029-y.
- Silva AP, Mendes F, Carias E, Gonçalves RB, Frago A, Dias C et al. Plasmatic Klotho and FGF23 Levels as Biomarkers of CKD-Associated Cardiac Disease in Type 2 Diabetic Patients. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1536. Doi: 10.3390/ijms20071536.
- Cheng N, He Y, Dang A, Lv N, Wang X, Li H. Association between plasma fibroblast growth factor 23 and left ventricular mass index in patients with Takayasu arteritis. *Clin Rheumatol*. 2020;39(5):1591-1599. Doi: 10.1007/s10067-019-04895-6.
- Patel RB, Ning H, de Boer IH, Kestenbaum B, Lima JAC, Mehta R et al. Fibroblast growth factor 23 and long-term cardiac function: the multi-ethnic study of athero-

sclerosis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2020;13(11):e011925. Doi: 10.1161/CIRCIMAGING.120.011925.

29. Silva AP, Mendes F, Carias E, Gonçalves RB, Fragoso A, Dias C. Plasmatic Klotho and FGF23 Levels as Biomarkers of CKD-Associated Cardiac Disease in Type 2 Diabetic Patients. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1536. Doi: 10.3390/ijms20071536.

30. Böckmann I, Lischka J, Richter B, Deppe J, Rahn A, Fischer DC. FGF23-Mediated Activation of Local RAAS Promotes Cardiac Hypertrophy. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):21-24. Doi: 10.3390/ijms20184634.

31. Son T, Fu Y, Wang Y, Li W, Zhao J, Wang X. FGF-23 correlates with endocrine and metabolism dysregulation, worse cardiac and renal function, inflammation level, stenosis degree, and independently predicts in-stent restenosis risk in coronary heart disease patients underwent drug-eluting-stent PCI. *BMC Cardiovasc Disord*. 2021;21(1):24. Doi: 10.1186/s12872-020-01839-w.

32. Naylor M, Larson MG, Wang N, Santhanakrishnan R, Lee DS, Tsao CW et al. The association of chronic kidney disease and microalbuminuria with heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail*. 2017;19(5):615-623. Doi: 10.1002/ehf.778.

33. Kanagala P, Arnold JR, Khan JN, Singh A, Gulsin GS, Eltayeb M et al. Fibroblast-growth-factor-23 in heart failure with preserved ejection fraction: relation to exercise capacity and outcomes. *ESC Heart Fail*. 2020;7(6):4089-4099. Doi: 10.1002/ehf2.13020.

34. Roy C, Lejeune S, Slimani A, de Meester C, Ahn As SA, Rousseau MF. Fibroblast growth factor 23: a biomarker of fibrosis and prognosis in heart failure with preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2020;7(5):2494-2507. Doi: 10.1002/ehf2.12816.

35. Chua W, Purmah Y, Cardoso VR, Gkoutos GV, Tull SP, Neculau G et al. Data-driven discovery and validation of circulating blood-based biomarkers associated with prevalent atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2019;40(16):1268-1276. Doi: 10.1093/eurheartj/ehy815.

36. Dong Q, Li S, Wang W, Han L, Xia Z, Wu Y. FGF23 regulates atrial fibrosis in atrial fibrillation by mediating the STAT3 and SMAD3 pathways. *J Cell Physiol*. 2019;234(11):19502-19510. Doi: 10.1002/jcp.28548.

37. Mathew JS, Sachs MC, Katz R, Patton KK, Heckbert SR, Hoofnagle AN et al. Fibroblast growth factor-23 and incident atrial fibrillation: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) and the Cardiovascular Health Study (CHS). *Circulation*. 2014;130(4):298-307. Doi: 10.1161/circulationaha.113.005499.

38. Eisner DA, Caldwell JL, Kistamás K, Trafford AW. Calcium and excitation-contraction coupling in the heart. *Circ Res*. 2017;121(2):181-195. Doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310230.

39. Pescatore LA, Gamarra LF, Liberman M. Multifaceted mechanisms of vascular calcification in aging. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(7):1307-1316. Doi: 10.1161/atvbaha.118.311576.

40. Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Hernández-Carballo C, Ferri C, Tagua VG, Delgado-Molinos A et al. Fibroblast growth factor 23 expression in human calcified vascular tissues. *Aging*. 2019;11(18):7899-7913. Doi: 10.18632/aging.102297.

41. Vázquez-Sánchez S, Poveda J, Navarro-García JA, González-Lafuente L, Rodríguez-Sánchez E, Ruilope LM, Ruiz-Hurtado G. An Overview of FGF-23 as a Novel Candidate Biomarker of Cardiovascular Risk. *Front Physiol*. 2021;12:632260. Doi: 10.3389/fphys.2021.632260.

42. Vergara N, de Mier MVPR, Rodelo-Haad C, Revilla-González G, Membrives C, Díaz-Tocados JM, Martínez-Moreno JM, Torralbo AI, Herencia C, Rodríguez-Ortiz ME, López-Baltanás R, Richards WG, Felsenfeld A, Almadén Y, Martín-Malo A, Ureña J, Santamaría R, Soriano S, Rodríguez M, Muñoz-Castañeda JR. The direct effect of fibroblast growth factor 23 on vascular smooth muscle cell phenotype and function. *Nephrol Dial Transplant*. 2023;38(2):322-343. Doi: 10.1093/ndt/gfac220.

43. Guo Y, Zhuang X, Huang Z, Zou J, Yang D, Hu X et al. Klotho protects the heart from hyperglycemia-induced injury by inactivating Ros and Nf-κB-mediated inflammation both in vitro and in vivo. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;1864(1):238-251. Doi: 10.1016/j.bbdis.2017.09.029.

44. Drew DA, Katz R, Kritchevsky S, Ix J, Shlipak M, Gutierrez OM. Association between Soluble Klotho and Change in Kidney Function: the Health Aging and Body Composition Study. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(6):1859-1866. Doi: 10.1681/ASN.2016080828.

45. Chen Y, Chen YX, Huang C, Duan ZB, Xu CY. The Clinical Value of Klotho and FGF23 in Cardiac Valve Calcification Among Patients with Chronic Kidney Disease. *Int J Gen Med*. 2021;14:857-866. Doi: 10.2147/IJGM.S299197.

46. Leifheit-Nestler M, Richter B, Basaran M, Nespor J, Vogt I, Alesutan I. Impact of Altered Mineral Metabolism on Pathological Cardiac Remodeling in Elevated Fibroblast Growth Factor 23. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:333. Doi: 10.3389/fendo.2018.00333.

47. Navarro-García JA, Rueda A, Romero-García T, Aceves-Ripoll J, Rodríguez-Sánchez E, González-Lafuente L. Enhanced Klotho availability protects against cardiac dysfunction induced by uraemic cardiomyopathy by regulating Ca. *Br J Pharmacol*. 2020;177(20):4701-4719. Doi: 10.1111/bph.15235.

Информация об авторах

Смирнова Наталья Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой педиатрии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: nephro-uro-kids@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0581-7285, eLibrary SPIN 4518-0640.

Куприенко Наталья Борисовна – канд. мед. наук, доцент, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: n-b-k@bk.ru, ORCID: 0000-0003-2054-3419, eLibrary SPIN 3394-8106.

Authors information

Smirnova Natalia N. – MD, Professor, Head, Department of Pediatrics, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: nephro-uro-kids@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0581-7285. eLibrary SPIN 4518-0640.

Kuprienko Natalia B. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Pediatrics, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: E-mail: n-b-k@bk.ru, ORCID: 0000-0003-2054-3419, eLibrary SPIN 3394-8106.

УДК 616-092.6

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-19-28

А. П. ГОРБАЧ, Е. Н. ЩУРОВА, Е. Н. ГОРБАЧ

Отличительные особенности состояния микроциркуляции кожного покрова в различных участках спины у детей с врожденным сколиозом

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курган, Россия 640014, Россия, г. Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6
E-mail: office@rncvto.ru

Статья поступила в редакцию 27.09.23 г.; принята к печати 15.01.24 г.

Резюме

Введение. У детей с врожденным сколиозом (ВС) на различных этапах лечения деформации позвоночника возникают осложнения со стороны кожи в виде пролежней, разрывов в местах металлоконструкций, несостоятельность кожных швов. В то же время микроциркуляторный кровоток кожи является одним из факторов, определяющих репаративную регенерацию. Однако в литературе отсутствуют исследования, посвященные анализу состояния кровообращения кожи спины у детей с ВС. **Цель** – определить отличительные особенности микроциркуляции в разных участках кожи спины у детей с врожденным сколиозом. **Материалы и методы.** Было обследовано 2 группы детей: 1-я группа – 40 пациентов с ВС; 2-я группа – 49 здоровых обследуемых. Кровоток кожи оценивался с помощью лазерной доплеровской флоуметрии. У детей с врожденным сколиозом производились гистологические исследования биопсийного материала кожи, взятого в области вершины деформации во время выполнения хирургической коррекции деформации позвоночника. **Результаты.** У детей с ВС определялось значительное снижение кровотока кожи в средних и нижних отделах спины по паравертебральным линиям относительно показателей здоровых детей на 0,6–0,06 мл/мин×100 г (15–28 %, $p=0,0000$). Значения кровотока в этих отделах имели обратную корреляцию с возрастом (r от $-0,47$ до $-0,73$, $p<0,001$) и величиной угла деформации (r от $-0,4$ до $-0,68$, $p<0,05$). Минимальные показатели регистрировались с вогнутой стороны деформации в среднем отделе спины в проекции паравертебральных линий ($2,74\pm 0,71$ мл/мин×100 г). Гистологические исследования кожи в данной области определили наличие деструктивных изменений сосудов дермы: фиброзирование, склерозирование, образование периваскулярных воспалительных инфильтратов и признаков васкулита, которые усугублялись при увеличении угла деформации. **Заключение.** У детей с ВС кровоток кожного покрова спины значительно снижен в среднем и нижнем отделах. Наименьший уровень перфузии определяется на вершине деформации с вогнутой стороны по паравертебральной линии. В данной области выявляются деструктивные изменения сосудов дермы, которые усугубляются при увеличении угла деформации позвоночника, что приводит к снижению их численной плотности и ишемизации кожного покрова.

Ключевые слова: врожденный сколиоз, кожный покров спины, микроциркуляторный кровоток кожи спины, микрососудистое русло кожи спины

Для цитирования: Горбач А. П., Щурова Е. Н., Горбач Е. Н. Отличительные особенности состояния микроциркуляции кожного покрова в различных участках спины у детей с врожденным сколиозом. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024; 23(3): 19–28. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-19-28.

UDC 616-092.6

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-19-28

А. П. GORBACH, E. N. SHCHUROVA, E. N. GORBACH

Distinctions of the state of skin integument microcirculation in different parts of the back in children with congenital scoliosis

Iлизаров National Medical Research Centre of Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russia
6, M. Ulianova str., Kurgan, Russia, 640014
E-mail: office@rncvto.ru

Received 27.09.23; accepted 15.01.24

Summary

Introduction. Skin complications in the form of bedsores, ruptures in places of hardware, failure of skin sutures occur in children with congenital scoliosis (CS) at various stages of treatment of the spine deformities. At the same time, microcirculatory blood flow of the skin is one of the factors determining reparative regeneration. However, there are no studies in the literature devoted to the analysis of the state of blood circulation in the skin of the back in children with CS. **Aim.** To determine the distinctive microcirculatory features in different parts of the back in children with congenital scoliosis. **Materials and Methods.** Two groups of children were examined: group 1 – 40 patients with CS; group 2 – 49 healthy subjects. Skin blood flow was assessed using laser Doppler flowmetry. In children with congenital scoliosis, histological examination of skin biopsy material

taken in the area of the deformity apex during surgical correction of the spinal deformity was carried out. *Results.* In children with CS, there was a significant decrease in skin blood flow in the middle and lower parts of the back along the paravertebral lines compared to the indicators of healthy children by 0.6–0.1.06 ml/min×100 g (15–28 %, p=0.0000). Blood flow values in these parts were inversely correlated with age (r from –0.47 to –0.73, p < 0.001) and with the magnitude of the deformity angle (r from –0.4 to –0.68, p < 0.05). The minimum values were recorded on the concave side of the deformity in the middle part of the back in the projection of the paravertebral lines (2.74±0.71 ml/min×100 g). Histological investigations of the skin in this area revealed the presence of destructive changes in the vessels of the dermis: fibrosis, sclerosis, the formation of perivascular inflammatory infiltrates and signs of vasculitis, which worsened with increasing the deformity angle. *Conclusion.* In children with CS, blood flow of the skin integument of the back is significantly reduced in the middle and lower parts. The lowest level of perfusion is found at the apex of the deformity on the concave side along the paravertebral line. In this area, destructive changes in the vessels of the dermis are revealed, which are aggravated with the increase in the angle of the spine deformity, that leads to a decrease in their numerical density and ischemia of the skin integument.

Keywords: congenital scoliosis, skin integument of the back, microcirculatory blood flow of the skin of the back, microvascular bed of the skin of the back

For citation: Gorbach A. P., Shchurova E. N., Gorbach E. N. Distinctions of the state of skin integument microcirculation in different parts of the back in children with congenital scoliosis. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):19–28. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-19-28.

Введение

Врожденный сколиоз (ВС) представляет собой деформацию позвоночника во фронтальной или сагиттальной плоскости, вызванную аномалиями сегментации или формирования позвонков [1]. На 1000 новорожденных приходится 1–3 случая ВС [2]. В целом, частота встречаемости врожденной деформации позвоночника составляет около 10 % [3].

В настоящий момент не существует единого мнения относительно этиологии ВС. Принято считать, что данная патология формируется в период соматогенеза (4–8-я неделя эмбрионального развития) и приводит к нарушению процессов закладки и формирования тел позвонков [4].

Врожденный сколиоз часто связан с внутриспинальными аномалиями и дефектами других органов и систем, в том числе кожного покрова (в 74 % случаев) [5,6]. При этом, как правило, сопутствующая аномалия различных органов и позвонков обусловлена общностью развития из одного сомита [7], и наибольшие патологические изменения наблюдаются в месте расположения вершины сколиотической дуги [8].

С. П. Миронов и др. отмечали большой интерес к проблеме определения закономерностей изменения микроциркуляции (МКЦ) в мягких тканях спины у пациентов со сколиотической деформацией [9]. Однако в литературе не уделено должного внимания состоянию кровотока кожи различных областей спины, как у здоровых детей, так и при ВС [10–12]. Встречаются немногочисленные сообщения, в которых отражены вопросы возникновения различных осложнений со стороны кожи спины у детей с ВС: разрывы в области выступающих металлоконструкций [13]; возникновение пролежней [14]; несостоятельность кожных швов [15].

Учитывая важную роль микроциркуляторного кровотока в репаративных процессах кожного покрова, необходимо отметить важность изучения МКЦ с целью предотвращения возможных осложнений [16]. Однако в литературе отсутствуют исследования, посвященные анализу состояния кровообращения кожи спины у детей с ВС.

Цель – определить отличительные особенности микроциркуляции в разных участках кожи спины у детей с врожденным сколиозом.

Материалы и методы исследования

Основная группа исследования состояла из 40 детей с врожденным сколиозом. Возраст обследуемых находился в диапазоне от 7 до 17 лет и составлял в среднем 11,5±3,5 лет. Было 13 мальчиков и 27 девочек. Критерии включения: возраст от 7 до 17 лет; верифицированный диагноз ВС по данным лучевого обследования позвоночника. Критерии исключения: отсутствие лучевого обследования пациента; сколиоз другой этиологии; проведенное ранее хирургическое лечение сколиотической деформации позвоночника; наличие наследственной и системной патологии; наличие выраженного неврологического дефицита.

Контрольная группа насчитывала 49 здоровых детей (I группа здоровья) в возрасте от 7 до 17 лет (средний возраст – 11,65±3,6 лет). Было 27 мальчиков, 22 девочки. Критерии включения для контрольной группы: возраст от 7 до 17 лет; отрицательный тест Адамса и отсутствие асимметрии костных ориентиров. Критерии исключения для контрольной группы: наличие наследственной и системной патологии, заболеваний со стороны сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной и эндокринной систем, признаков инфекционных заболеваний.

МКЦ в различных участках кожного покрова спины была оценена с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) (лазерный флоуметр Transonic Systems, США). Исследования выполняли по паравертебральной и лопаточной линиям в области вершины дуги деформации (дерматом Th₆–Th₁₀), а также проксимально (дерматом C₅–Th₁) и дистально (дерматом Th₁₂–L₂) от нее (рис. 1), исследование проводилось в положении лежа на животе в течение не менее 60 секунд в каждой исследуемой области.

В группе детей с ВС выполняли гистологическое исследование интраоперационного биопсийного материала (фрагменты кожного покрова). Кусочки кожи размером ≤5×5 мм забирали во время выполнения операционного доступа к задним отделам позвоночного столба для хирургического устранения сколиотической деформации в области вершины деформации с вогнутой ее стороны. Фиксация кусочков кожи была осуществлена в 10 % растворе нейтрального формалина. Следующим этапом выполняли дегидратацию в двукратных порциях этилового спирта

восходящей крепости, после чего проводили заливку в гомогенизированную парафиновую уплотняющую среду Histomix. Изготавливали гистологические препараты при помощи санного микротомы (*Reichard*, Германия), затем производили окрашивание гематоксилином и эозином, осуществлялось иммуногистохимическое окрашивание с использованием антител к CD 34, с применением реактивов и протоколов фирмы Abcam (Великобритания). Описательную морфологию и оцифровку полей зрения гистологических препаратов выполняли с помощью светового микроскопа Axio Lab1 с цифровой камерой AxioCam 105 Color и программного обеспечения Zenblue (*CarlZeiss Micro Imaging GmbH*), а также сканирующего микроскопа для лабораторных исследований PannoramicMidi II BF (*3DHitech Ltd.*, Венгрия) и программного продукта PannoramicViewer, версия 2.4. (*3DHitech Ltd.*, Венгрия). Морфометрические исследования выполняли при помощи программы «ВидеоТестМастер-Морфология 4.0» (Санкт-Петербург, Россия). Также определяли численную плотность сосудов в 1 мм² дермы.

Статистическая обработка данных проведена с использованием редактора электронных таблиц MS Excel с надстройкой AtteStat. Для определения характера распределения количественных признаков использованы критерии Колмогорова–Смирнова, Шапиро–Уилка. Для выявления статистически значимых различий нормально распределенных данных ($M \pm m$), применялся критерий Стьюдента для независимых выборок, для определения корреляции – коэффициент корреляции Пирсона. При отсутствии – непараметрический принцип (Me [Q1; Q3]) и использовались непараметрические методы: U-критерий Манна–Уитни, коэффициент корреляции Спирмена. Сила корреляционной связи оценивалась в соответствии со шкалой Чеддока. В качестве критического уровня значимости использовали $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты антропометрических исследований основной и контрольных групп показали, что вес и индекс массы тела (ИМТ) у детей с ВС достоверно были

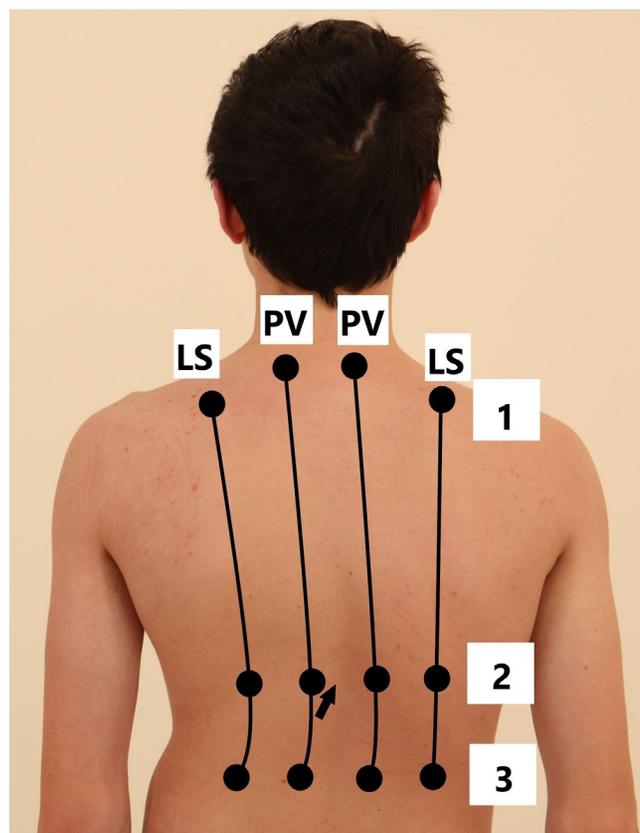


Рис. 1. Пациент П., 16 лет, врожденный сколиоз. Точки исследования: 1 – проксимальный отдел (дерматом С6–С7; 2 – вершина дуги деформации (дерматом Th7–Th8); 3 – дистальный отдел (дерматом L₁–L₂). Исследования выполняли в проекции паравертебральной (PV) и лопаточной линии (LS). Стрелкой указано место забора биоптата для гистологического исследования

Fig. 1. Patient P., 16 years old, congenital scoliosis. Research points: 1 – proximal section (dermatome C₆–C₇); 2 – apex of the deformation arc (dermatome Th₇–Th₈); 3 – distal section (dermatome L₁–L₂). Research was performed in the projection of the paravertebral (PV) and scapular line (LS) The arrow indicates the location where the biopsy specimen was taken for histological examination

снижены относительно значений контрольной группы (на 15,1 % и 18 % соответственно, $p < 0,05$) (табл. 1). Согласно критериям ВОЗ, у детей с ВС наблюдается недостаточная масса тела. Это может быть обусловлено деформацией грудного отдела позвоночника и повышенной нагрузкой на дыхательную систему, что

Таблица 1

Основные характеристики обследуемых групп детей

Table 1

Main characteristics of the studied groups of children

Показатели	Группа обследуемых		
	Дети с врожденным сколиозом	Здоровые дети	
Количество наблюдений, n	40	49	
Возраст, годы	11,5±3,5 лет (от 7 до 17 лет)	11,7±3,6 лет (от 7 до 17 лет)	
Пол (м/ж)	13/27	27/22	
Рост, м	1,4±0,2	1,4±0,2	p=0,4657
Вес, кг	38,2±15,8	45±12,3	*p=0,0103
ИМТ, кг/м ²	17,9±3,7	21,8±1,9	*p=0,0000

Примечание: * – достоверное отличие показателей пациентов с врожденным сколиозом и здоровых детей, $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели кровотока кожного покрова спины (мл/мин×100 г) детей с врожденным сколиозом (M±m, n=40)

Table 2

Indicators of capillary blood flow of the skin of the back (ml/min×100 g) in children with congenital scoliosis (M±m, n=40)

Область исследования											
С вогнутой стороны основной вершины деформации				С выпуклой стороны основной вершины деформации				Паравертбральная линия			
Лопаточная линия			Паравертбральная линия			Лопаточная линия			Паравертбральная линия		
I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
3,82±0,43	3,41±0,64	3,33±0,57	3,75±0,64	2,74±0,71	3,17±0,73	3,73±0,59	3,53±0,86	3,33±0,61	3,74±0,70	3,16±0,75	3,15±0,80
*p=0,0000	*p=0,0000	*p=0,2719	*p=0,0001	*p=0,0000	*p=0,0044	*p=0,0022; αp=0,2016	*p=0,1243; αp=0,2364	*p=0,1149; αp=0,4925	*p=0,0004; αp=0,4602	*p=0,0003; αp=0,0057	*p=0,4769; αp=0,4535

Пр и м е ч а н и е: I – верхний отдел; II – средний отдел; III – нижний отдел; & – сравнение показателей среднего отдела с величинами верхнего отдела; * – сравнение показателей среднего отдела с величинами дистального отдела; α – сравнение показателей среднего отдела с величинами дистального отдела; * – сравнение показателей среднего отдела с величинами дистального отдела; * – сравнение показателей среднего отдела с величинами дистального отдела; * – сравнение показателей среднего отдела с величинами дистального отдела.

Таблица 3

Сравнение показателей кровотока кожного покрова спины (мл/мин×100 г) обследуемых с врожденным сколиозом и здоровых детей (M±m)

Table 3

Comparison of capillary blood flow indicators of the skin of the back (ml/min×100 g) in subjects with congenital scoliosis and healthy children (M±m)

Область исследования											
С вогнутой стороны основной вершины деформации				С выпуклой стороны основной вершины деформации				Паравертбральная линия			
Лопаточная линия			Паравертбральная линия			Лопаточная линия			Паравертбральная линия		
I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Дети с ВС (n=40)	3,82 ±0,4	3,41±0,64	3,33±0,57	3,75±0,64	2,74±0,71	3,17±0,73	3,73±0,59	3,53±0,86	3,33±0,61	3,74±0,7	3,16±0,75
Здоровые дети (n=49)	3,81±0,21	3,7*±0,26	3,61*±0,26	3,82±0,22	3,80*±0,22	3,77*±0,23	3,81±0,21	3,70±0,25	3,63*±0,3	3,82±0,22	3,79*±0,21
P	0,4420	0,0022	0,0011	0,2294	0,0000	0,0000	0,1875	0,0971	0,0017	0,2062	0,0000

Пр и м е ч а н и е: I – верхний отдел; II – средний отдел; III – нижний отдел; * – достоверное отличие показателей пациентов с врожденным сколиозом и здоровых детей, p<0,05.

Таблица 4

Показатели кровотока кожного покрова спины ($M \pm m$, мл/мин $\times 100$ г) в области вогнутой стороны среднего отдела в проекции паравертебральных линий у обследуемых с врожденным сколиозом при наличии различной величины основной дуги деформации позвоночника

Table 4

Indicators of capillary blood flow of the skin of the back ($M \pm m$, ml/min $\times 100$ g) in the area of the concave side of the middle section in the projection of paravertebral lines in subjects with congenital scoliosis in the presence of different sizes of the main arc of spinal deformity

Величина угла основной дуги деформации, °	Капиллярный кровоток кожного покрова спины (мл/мин $\times 100$ г)	
20–30	3,02 \pm 0,59	
31–40	2,59 \pm 0,58	p=0,1618
41–50	2,13 \pm 0,62	p=0,0112*
51–60	2,1 \pm 0,2	p=0,0423*
90 и больше	1,65 \pm 0,21	p=0,0041*

Примечание: * – достоверное отличие показателей по сравнению с капиллярным кровотоком группы детей с величиной деформации 20–30 градусов, p<0,05.

Таблица 5

Численная плотность сосудов в различных слоях дермы кожи спины в области вогнутой стороны среднего отдела в проекции паравертебральных линий в зависимости от угла основной дуги деформации позвоночника у детей с врожденным сколиозом

Table 5

Numerical density of blood vessels in different layers of the dermis of the skin of the back in the area of the concave side of the middle section in the projection of the paravertebral lines, depending on the angle of the main arc of the spinal deformity in children with congenital scoliosis

Величина угла основной дуги деформации, °	Численная плотность сосудов кожи, NAi ($M \pm m$) в 1 мм ²			
	В сосочковом слое дермы		В сетчатом слое дермы	
20–30	114,6 \pm 4,2		62,49 \pm 2,9	
31–40	93,74 \pm 2,1	*p=0,0253	50,34 \pm 2,1	*p=0,0253
41–50	71,18 \pm 3,2	*p=0,0336	50,32 \pm 1,9	p=0,8791
51–60	74,65 \pm 2,8	p=0,1213	41,67 \pm 1,7	*p=0,0231
90 и больше	65,7 \pm 2,2	*p=0,0232	29,51 \pm 1,2	*p=0,0121

Примечание: * – достоверное отличие при сравнении с группой детей с предыдущим показателем величины сколиотической деформации, p<0,05.

способствует последующему дефициту питательных веществ, снижению индекса массы тела [13].

В группе обследуемых с ВС у 21 ребенка наблюдалась С-образная форма сколиотической деформации, у 19 детей – S-образная форма. Величина угла основной дуги деформации составляла 31 [23; 40] градус по Cobb, расположение дуги было на уровне Th₃–L₂; величина компенсаторной противодуги сколиотической деформации 20 [15; 41] градусов по Cobb, расположение на уровне Th₁₁–L₄. Положение основной дуги вправо наблюдалось у 24 детей, у 16 – отмечалось левостороннее расположение основной дуги сколиотической деформации.

В табл. 2 показано, что наибольшие изменения кровотока регистрируются в среднем и нижнем отделах спины. Минимальные показатели кровотока определяются с вогнутой стороны деформации в среднем отделе в проекции паравертебральной линии – 2,74 \pm 0,71 мл/мин $\times 100$ г, показатель с ана-

логичным расположением, но на выпуклой стороне был больше на 13 % (p=0,0057). При сравнении этих показателей с аналогичными, расположенными в проекции лопаточной линии, наблюдаются достоверные уменьшения: на вогнутой стороне – на 20 % (p=0,0000); на выпуклой – на 10 % (p=0,0214).

Минимальные значения перфузии в дистальном отделе наблюдаются в проекции паравертебральной линии с выпуклой и вогнутой сторон относительно дуги сколиотической деформации, статистически значимых различий в показателях вогнутой и выпуклой сторон не наблюдается. Отличий величин показателей в нижнем отделе по лопаточной линии также не наблюдается.

При выполнении корреляционного анализа показателей кровотока с возрастом была выявлена обратная связь от сильной до слабой во всех точках исследования, r от –0,43 до –0,73, p<0,001. Также была определена обратная взаимосвязь кровотока

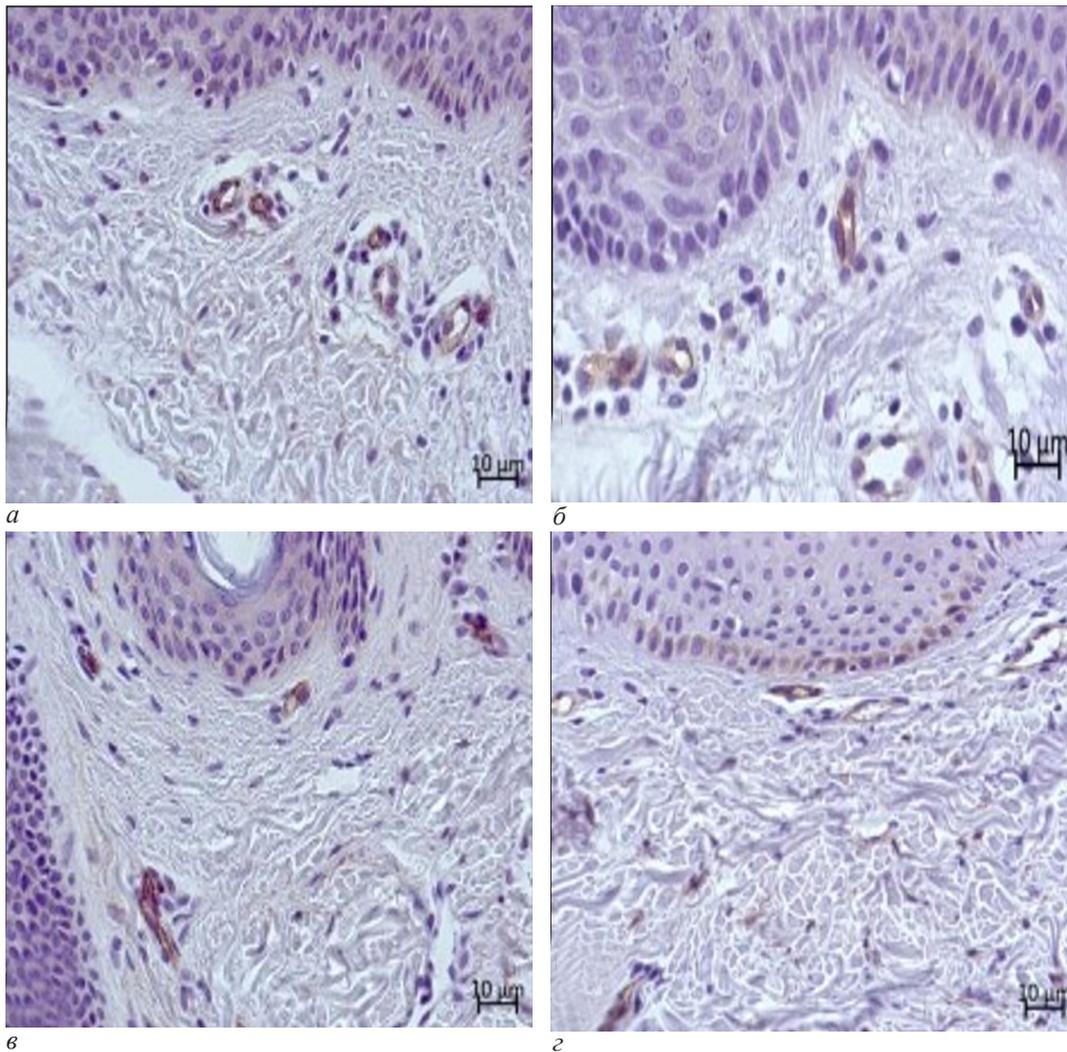


Рис. 2. Гистоструктурные особенности строения сосудов в сосочковом слое дермы кожного покрова спины в зависимости от угла деформации позвоночника у детей с врожденным сколиозом. Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$: а – 30° ; б – 40° ; в – 60° ; г – 90°

Fig. 2. Histostructural features of the structure of blood vessels in the papillary layer of the dermis of the back, depending on the angle of spinal deformation in children with congenital scoliosis. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$: а – 30° ; б – 40° ; в – 60° ; г – 90°

в области нижних и средних отделов по паравертебральным и лопаточным линиям с величиной основной дуги деформации: коэффициент корреляции – r от $-0,42$ до $-0,68$; сила связи от слабой до средней ($p < 0,05$). В группе здоровых детей выявлена слабая обратная корреляция показателей капиллярного кровотока и возраста – r от $-0,24$ до $-0,36$ ($p < 0,05$).

Показатели кожного кровотока детей с ВС не имеют различий с величинами здоровых детей в верхних отделах спины (табл. 3). В остальных областях исследования разница составляет $0,05$ – $1,06$ мл/мин $\times 100$ г. Наибольшие различия наблюдаются в среднем отделе в проекции паравертебральной линии с вогнутой стороны деформации, где в группе детей с врожденным сколиозом перфузия ниже на $1,06$ мл/мин $\times 100$ г, $p = 0,0000$.

При проведении анализа влияния величины основной дуги деформации на кровоток кожи в среднем отделе спины в проекции паравертебральной линии с вогнутой стороны, было определено, что с увеличением угла деформации увеличивается степень снижения кровотока. Относительно показателей группы пациентов с углом деформации 20 – 30 градусов, кровотоки кожи пациентов с деформацией 41 – 50 и 51 –

60 градусов был снижен на 30% ($p = 0,0112$ и $p = 0,0423$ соответственно); а у пациентов с величиной деформации 90 и более градусов снижение кровотока составляло 45% ($p = 0,0041$) (табл. 4).

Даже при небольшой величине деформации (20 – 30 градусов) показатели кровотока в данной области снижены относительно показателей группы здоровых детей (на $20,5\%$, $p = 0,000$). С увеличением угла деформации степень отличия растет: 1) при 31 – 40 градусах – на $31,9\%$, $p = 0,0000$; 2) при 41 – 50 – на 44% , $p = 0,0000$; 3) при 51 – 60 – на $44,7\%$, $p = 0,0000$; 4) 90 и более – на $56,6\%$, $p = 0,0000$.

Результаты гистологического исследования биоптата кожи, взятого в процессе хирургического вмешательства в области вершины деформации с вогнутой ее стороны в проекции паравертебральной линии, показали, что уменьшение кровотока может быть связано количественным и качественным изменением сосудистого русла. Численная плотность сосудов в коже спины уменьшалась как в сосочковом, так и в сетчатом слое (табл. 5).

Так, в группе детей с величиной деформации 31 – 40 градусов плотность сосудов кожи снижалась

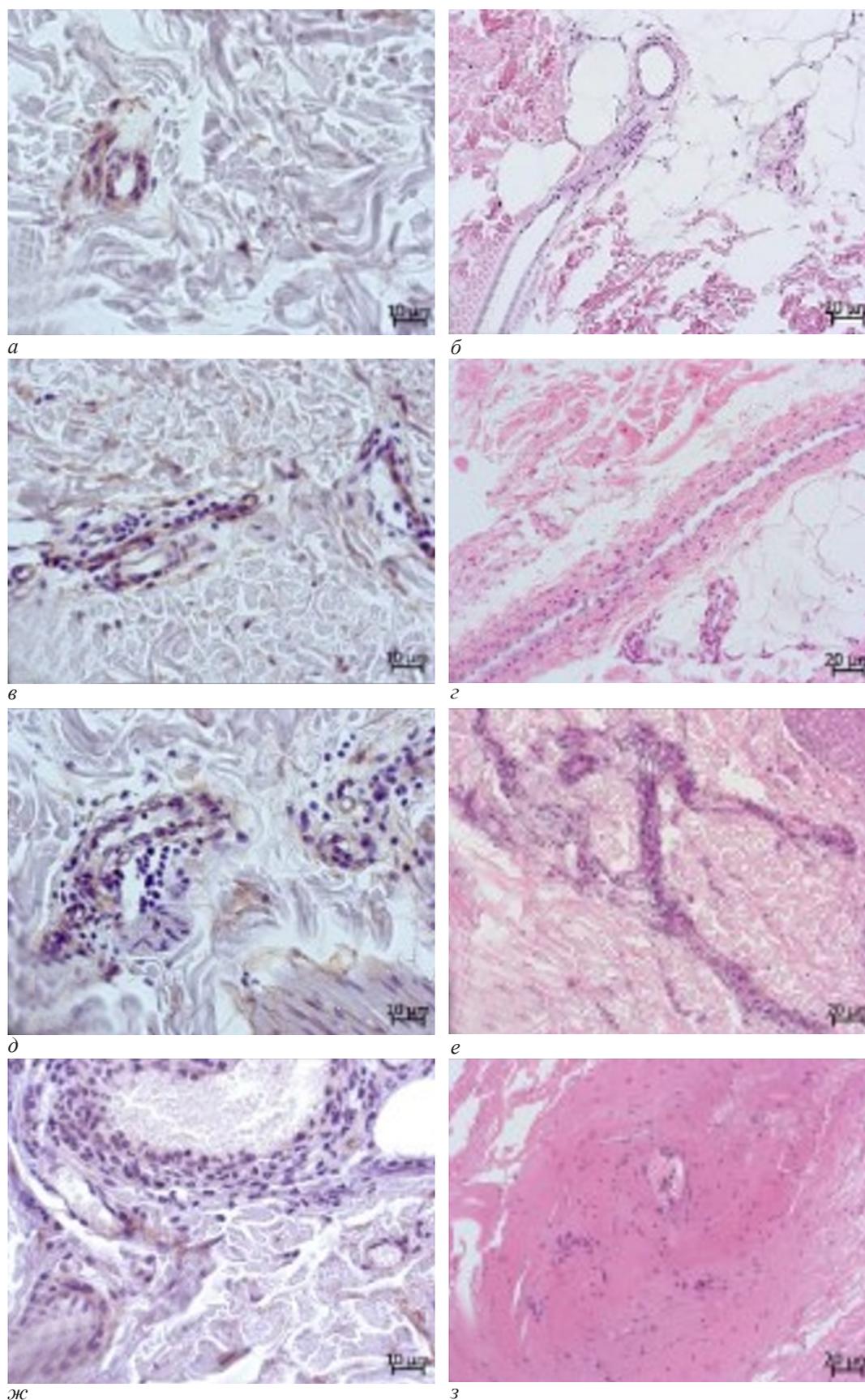


Рис. 3. Микрофотографии гистологических препаратов, отражающие особенности строения сосудов в различных слоях дермы в зависимости от величины угла сколиотической деформации позвоночного столба у детей с врожденным сколиозом: *а, б* – 30°; *в, з* – 40°; *д, е* – 60°; *ж, з* – 90°. Левый столбец микрофото – иммуногистохимическая реакция с применением антител к CD-34 (выявление эпителия сосудов), увеличение $\times 400$. Правый столбец – микрофото, окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 3. Microphotographs of histological preparations, reflecting the features of blood vessel structure in different layers of the dermis depending on the angle of scoliotic deformation of the spinal column in children with congenital scoliosis: *а, б* – 30°; *в, з* – 40°; *д, е* – 60°; *ж, з* – 90°. The left column of the microphotograph is an immunohistochemical reaction using antibodies to CD-34 (detection of vascular epithelium), magnification $\times 400$. In the right column, there are microphotographs, stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

на 18,2 % ($p=0,0253$) в сосочковом слое и на 19,5 % ($p=0,0253$) в сетчатом слое относительно значений при деформации 20–30 градусов. При деформации 41–50 градусов уменьшение численной плотности сосудов в сосочковом слое дермы составило 24,1 % ($p=0,0336$) относительно величин в группе 31–40 градусов. В группе детей с величиной деформации 51–60 градусов численная плотность в сетчатом слое дермы уменьшилась на 17,2 % ($p=0,0231$) относительно показателей предыдущего периода – 41–50 градусов, а при 90 градусов и более уменьшение в сосочковом слое составило 12 % ($p=0,0232$), в сетчатом – 28,2 % ($p=0,0121$), относительно группы с деформацией 51–60 градусов (табл. 5).

Разница численной плотности сосудов кожи между минимальной (20–30 градусов) и максимальной (90 и более) величинами деформаций позвоночника в сосочковом и сетчатом слоях составила 47,7 % ($p=0,0308$) и 52,8 % ($p=0,0428$) соответственно.

В сосочковом слое количество сосудов с увеличением угла деформации уменьшалось вследствие их облитерации в результате периваскулярного воспаления и фиброобразования (рис. 2).

Деструктивные процессы в сосудах сетчатого слоя дермы приобретали более выраженный характер с увеличением угла деформации. При величине сколиотической деформации более 40 градусов, вокруг сосудов преимущественно в сетчатом слое отмечали периваскулярные воспалительные инфильтраты (рис. 3, а, в), нарушение клеточной архитектоники в стенках артерий (рис. 3, б), сужение просветов сосудов артериального типа из-за фиброза их стенок и деструкции эндотелиальной выстилки в части сосудов (рис. 3, г), расширения сосудов венозного типа с признаками венозного застоя (рис. 3, ж). При величине деформации более 60 градусов выявляли выраженные васкулиты (рис. 3, д, ж), которые при еще большей величине угла деформации позвоночного столба приводили к склерозированию сосудов (рис. 3, е) и некротизации коллагенового остова (рис. 3, з).

Врожденный сколиоз часто сопровождается внутриспинальными аномалиями и дефектами других органов. Эмбриональное развитие позвонков тесно связано с развитием спинного мозга и органов, которые формируются из мезодермы [17, 18]. Аномалии в развитии позвоночника могут быть сопряжены с патологическими изменениями соединительной ткани, дермы, гиподермы, кровеносных сосудов. Формирование позвоночника и кожного покрова спины тесно связаны между собой [8, 19], поэтому можно наблюдать различные негативные изменения в коже спины у детей с ВС.

Учитывая важную роль микроциркуляторного кровотока в репаративных процессах кожного покрова, необходимо отметить важность изучения МКЦ с целью предотвращения возникновения возможных осложнений [16]. Однако в литературе отсутствуют исследования, посвященные анализу состояния кровообращения кожи спины у детей с ВС.

В нашей работе проведено исследование микроциркуляторного кровотока кожи спины по паравертебральной и лопаточной линиям в области вершины

дуги деформации (дерматом Th_6-Th_{10}), а также проксимально (дерматом C_5-Th_1) и дистально (дерматом $Th_{12}-L_2$) от нее. Только в верхних отделах спины показатели кровотока соответствовали значениям контрольной группы. В других отделах значения кровотока были снижены. Также была выявлена обратная взаимосвязь с возрастом обследуемого во всех точках исследования. Это может быть обусловлено снижением обменных процессов в организме ребенка [20].

Анализ значений кровотока в различных областях исследования показал, что наименьшие величины регистрировались в среднем отделе спины (область вершины деформации) по паравертебральной линии с вогнутой стороны деформации. Хотя на выпуклой стороне деформации кровотоки выше всего на 13 %. На показатели кровотока в среднем и нижнем отделах спины значительное влияние оказывала величина угла деформации (обратная зависимость). Данный факт, по всей видимости, обусловлен тем, что к усугубляющемуся этиологическому врожденному фактору заболевания подключается биомеханический фактор (натяжение кожи).

В области с наименьшими показателями кровотока в среднем отделе спины (область вершины деформации) по паравертебральной линии с вогнутой стороны деформации был взят биоптат кожного покрова. Стенки кровеносных сосудов очень тонко реагируют на изменения гемодинамики [21], в связи с этим гистологические изменения подтверждали результаты лазерной доплеровской флоуметрии в аналогичной области исследования. Гистологические исследования показали, что с увеличением угла деформации уменьшается численная плотность сосудов в слоях дермы и прогрессируют деструктивные изменения сосудов.

Уменьшение количества сосудов в сосочковом слое обусловлено облитерацией, вызванной деструкцией эндотелиоцитов, периваскулярным воспалением и фиброобразованием [22]. Преимущественно в сетчатом слое вокруг сосудов определялись периваскулярные воспалительные инфильтраты, сужение просветов сосудов артериального типа из-за фиброза их стенок, расширения сосудов венозного типа с признаками венозного застоя. При величине деформации более 60 градусов выявляли выраженные васкулиты, дальнейшее увеличение угла деформации приводило к склерозированию сосудов и некротизации коллагенового остова. Выраженная ишемизация способствует развитию деструктивных изменений в тканевых структурах кожи [22]. Это происходит в связи с тем, что нарушение кровоснабжения снижает резистентность кожи к внешним раздражителям, повышает ее проницаемость. В зависимости от степени выраженности ишемизации кожных покровов изменения в коже могут проявляться как в виде дистрофических нарушений, так и в виде выраженных воспалительных и эрозивно-язвенных процессов [23].

Заключение

Наибольшее снижение показателей капиллярного кровотока в группе детей с врожденным сколиозом выявлено в областях, приближенных к расположе-

нию сколиотической дуги деформации – средний и нижний отделы спины в паравертебральных проекциях; в данных локализациях отмечаются наибольшие отличия капиллярного кровотока от показателей группы здоровых детей. Наименьший уровень перфузии наблюдался в проекции вершины деформации с вогнутой стороны по паравертебральной линии.

Величина сколиотической деформации влияет на состояние микроциркуляторного кровотока кожного покрова спины, при этом, с увеличением деформации, патологические изменения усугубляются: по результатам ЛДФ наблюдается снижение показателей капиллярного кровотока; согласно данным, полученным в ходе гистологического метода исследования, выявлено, что патологический процесс представлен фиброзированием, склерозированием сосудов, наличием периваскулярных воспалительных инфильтратов и признаков васкулита, а также снижением численной плотности сосудов сосочкового и сетчатого слоев дермы.

Значимое снижение темпов репаративного потенциала кожного покрова спины можно ожидать при величине сколиотической деформации более 50 градусов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Соответствие нормам этики / Ethics Compliance

Все исследования проведены в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками. Все обследуемые или их законные представители (в случае, если в работе описаны данные исследований с участием несовершеннолетних) подписали информированное согласие на публикацию данных, полученных в результате исследований, без идентификации личности. / All studies were conducted in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki developed by the World Medical Association, as amended. All subjects or their legal representatives (if the work describes research data involving minors) signed an informed consent for the publication of data obtained as a result of the research, without personal identification.

Литература / References

1. Анализ ассоциаций генетических маркеров с развитием врожденного сколиоза / Ключников Д.Ю., Филатов Е.Ю., Тюмин И.В., Тюмина О.В. // *Хир. позвоночника*. – 2022. – Т. 19, № 2. – С. 33–39. [Klyuchnikov DYu, Filatov EYu, Tyumin IV, Tyumina OV. Analysis of associations of genetic markers with the development of congenital scoliosis. *Russ J Spine Surg (Khirurgiya Pozvonochnika)*. 2022;19(2):33-39. (in Russ.)]. Doi: 10.14531/ss2022.2.33-39.
2. Бывальцев В.А., Калинин А.А., Рябых С.О. и др. Симультаные хирургические вмешательства в спинальной нейрохирургии: систематический обзор // *Гений ортопедии*. – 2020. – Т. 26, № 2. – С. 275–281. [Byvaltsev VA, Kalinin AA, Ryabykh SO, Burtsev AV, Shepelev VV, Ochkal SV, Polkin RA, Biryuchkov MYu. Simultaneous surgical interventions in spinal neurosurgery: a systematic review. *Geniy ortopedii*. 2020;26(2):275-281. (in Russ.)]. Doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-2-275-281.
3. Mackel CE, Jada A, Samdani AF, Stephen JH, Bennett JT, Baaj AA, Hwang SW. A comprehensive review of the diagnosis and management of congenital scoliosis. *Child's Nervous System*. 2018;34:2155-2171. Doi: 10.1007/s00381-018-3915-6.
4. Филатов Е.Ю., Рябых С.О., Савин Д.М. и др. Врожденный лордоз и лордосколиоз: состояние проблемы (обзор литературы) // *Гений ортопедии*. – 2022. – Т. 28, № 5. – С. 720–725. [Filatov EYu, Ryabykh SO, Savin DM, Naumov DG, Simonovich AE. Congenital lordosis and lordoscoliosis: state of the problem (literature review). *Geniy ortopedii*. 2022;28(5):720-725. (in Russ.)]. Doi: 10.18019/1028-4427-2022-28-5-720-725.
5. Рябых С.О., Савин Д.М., Сайфутдинов М.С. и др. Результаты симультаных и этапных хирургических техник при коррекции врожденных деформаций позвоночника, ассоциированных с интраканальными аномалиями у детей // *Хир. позвоночника*. – 2020. – Т. 17, № 4. – С. 6–15. [Ryabykh SO, Savin DM, Sayfutdinov MS, Sergeenko OM, Dyachkov KA. Results of simultaneous and staged surgical techniques for the correction of congenital spine deformities associated with intracanal anomalies in children. *Russ J Spine Surg (Khirurgiya Pozvonochnika)*. 2020;17(4):6-15. (in Russ.)]. Doi: 10.14531/ss2020.4.6-15.
6. Shen J, Wang Z, Liu J, Xue X, Qiu G. Abnormalities associated with congenital scoliosis: a retrospective study of 226 Chinese surgical cases. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013;38(10):814-818. Doi: 10.1097/BRS.0b013e31827ed125.
7. Об особенностях оперативного лечения пациентов с сопутствующей патологией при сколиотической болезни / Андронников Е.А., Михалкина Н.Г., Алексеева Т.В., Гозулина Н.В. // *Клин. мед.* – 2020. – Т. 98, № 11-12. – С. 781–787. [Andronnikov EA, Mikhalkina NG, Alekseeva TV, Gogulina NV. Characteristics of surgical treatment of patients with comorbidities in scoliotic disease. *Clinical Medicine (Russian Journal)*. 2020;98(11-12):781-787. (in Russ.)]. Doi: 10.30629/0023-2149-2020-98-11-12-781-787.
8. Колчин Д.В. Ранняя диагностика диспластических и врожденных сколиозов // *Гений ортопедии*. – 2012. – № 1. – С. 54–59. [Kolchin DV. Rannyyaya diagnostika displasticheskikh i vrozhdennykh skoliozov. *Geniy ortopedii*. 2012;(1):54-59. (in Russ.)].
9. Миронов С.П., Ветрилэ С.Т., Нацвлишвили З.Г. и др. Оценка особенностей спинального кровообращения, микроциркуляции в оболочках спинного мозга и нейровегетативной регуляции при сколиозе // *Хир. позвоночника*. – 2006. – № 3. – С. 38–48. [Mironov SP, Vetrile ST, Nacvlishvili ZG, Morozov AK, Krupatkin AI, Kuleshov AA, Hohrikov GI, Vetrile MS. Otsenka osobennostey spinal'nogo krovoobrashcheniya, mikrotsirkulyatsii v obolochkakh spinnogo mozga i neyrovegetativnoy regulyatsii pri skolioze. *Russ J Spine Surg (Khirurgiya Pozvonochnika)*. 2006;(3):38-48. (in Russ.)].
10. Пономарева А.А. Традиционные и современные представления о кровоснабжении кожи // *Журн. фундамент. мед. и биол.* – 2018. – № 2. – С. 34–44. [Ponomareva AA. Traditsionnyye i sovremennyye predstavleniya o krovoznabzhenii kozhi. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii*. 2018;(2):34-44. (in Russ.)].
11. Голдсмит Л.А. Дерматология Фицпатрика в клинической практике. В 3 т. Т. 1. – 2-е изд., испр., перераб. и доп. – М.: Издательство Панфилова, 2016. – 1315 с. [Goldsmith L.A. Dermatologiya Fitzpatricka v klinicheskoy praktike. In 2 vols. Vol. 1. 2nd ed, corr, rev. and exp. Moscow, Izdatel'stvo Panfilova, 2016:1315. (in Russ.)].

12. Тихомирова И.А., Бабошина Н.В., Терехин С.С. Возможности метода лазерной доплеровской флоуметрии в оценке возрастных особенностей функционирования системы микроциркуляции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 80–86. [Tikhomirova IA, Baboshina NV, Terekhin SS. LDF method capabilities in the estimation of age-related features of the microcirculation system functioning. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2018;17(3):80-86. (in Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-80-86.

13. Burnei G, Gavrilu S, Vlad C, Georgescu I, Ghita RA, Dughilă C, Onilă A. Congenital scoliosis: an up-to-date. *J Med Life*. 2015;8(3):388-397.

14. Пантелеев А.А., Сажнев М.Л., Горбатюк Д.С. и др. Трехколонная остеотомия позвоночника при ревизионном вмешательстве у пациентки с врожденным ангулярным груднопоясничным кифосколиозом // Хир. позвоночника. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 30–38. [Panteleyev AA, Sazhnev ML, Gorbatyuk DS, Kazmin AI, Pereverzev VS, Kolesov SV. Three-column osteotomy of the spine during revision surgery in a patient with congenital angular thoracolumbar kyphoscoliosis. *Russ J Spine Surg (Khirurgiya Pozvonochnika)*. 2018;15(3):30-38. (in Russ.)]. Doi: 10.14531/ss2018.3.30-38.

15. Рябых С.О., Мушкин А.Ю., Савин Д.М. Вертебральный синдром при последствиях спинно-мозговых грыж: особенности клиники и лечения // Хир. позвоночника. – 2018. – Т. 15, № 4. – С. 107–114. [Ryabikh SO, Mushkin AY, Savin DM. Vertebral syndrome in consequences of spina bifida: clinical features and treatment. *Russ J Spine Surg (Khirurgiya Pozvonochnika)*. 2018;15(4):107-114. (in Russ.)]. Doi: 10.14531/ss2018.4.107-114.

16. Иванов А.Н., Лагутина Д.Д., Степанова Т.В. Особенности механизмов реализации дистантного стимулирующего эффекта аутотрансплантации кожного лоскута на перфузию микроциркуляторного русла в условиях локальных и системных нарушений // Вестн. трансплантол. и искусств. органов. – 2021. – Т. 22, № 4. – С. 123–132. [Ivanov AN, Lagutina DD, Stepanova TV. Characteristics of mechanisms of the distant stimulating effect of skin flap autograft on microvascular perfusion in local and systemic microcirculation disorders. *Russ J Transplant Artificial Organs*. 2020;22(4):123-132. (in Russ.)]. Doi: 10.15825/1995-1191-2020-4-123-132.

17. Basu PS, Elsebaie H, Noordeen MH. Congenital spinal deformity: a comprehensive assessment at presentation. *Spine*. 2002;27(20):2255-2259. Doi: 10.1097/00007632-200210150-00014.

18. Lonstein JE. Congenital spine deformities. *Orthop Clin North Am*. 1990;30:387-405.

19. Кадурина Т.И., Аббакумова Л.Н. Оценка степени тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей // Мед. Вестн. Сев. Кавк. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 15–20. [Kadurina TI, Abbakumova LN Estimation of the severity of the nondifferentiated connective tissue dysplasia in children. *Med News North Caucasus*. 2008;10(2):15-20. (in Russ.)].

20. Кардиология детского возраста : пособие для врачей / под ред. Р.Э. Мазо. – Минск: Беларусь, 1973. – 303 с. [Kardiologiya detskogo vozrasta / eds by Mazo RE. Minsk, Belarus, 1973:303. (in Russ.)].

21. Пигарева Ю.Н., Салмина А.Б., Карачева Ю.В. Особенности микроциркуляторного русла кожи: механизмы регуляции и современные методы исследования // Сиб. Мед. Обозрение. – 2013. – № 4. – С. 3–8. [Pigareva YuN, Salmina AB, Karacheva YuV. Osobennosti mikrocirkulyatornogo rusla kozhi: mexanizmy regulyatsii i sovremennyye metody issledovaniya. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye*. 2013;(4):3-8. (in Russ.)].

22. Логина А.В., Супильников А.А., Антипов Е.В. Обзор методов воздействия на микроциркуляцию кожи // Вестн. мед. института «РЕАВИЗ». – 2015. – № 3. – С. 57–61. [Logina AV, Supil'nikov AA, Antipov EV. Obzor metodov vozdeystviya na mikrotsirkulyatsiyu kozhi. *Bull Med Institute 'REAVIZ'*. 2015;(3):57-61. (in Russ.)].

23. Джураев Д.Р. Изучение механизма заживления ишемических ран на модели уха кролика // Science and Education. – 2022. – Т. 3, № 12. – С. 204–211. [Dzhuraev DR. Izucheniye mekhanizma zazhivleniya ishemicheskikh ran na modeli ukha krolika. *Science and Education*. 2022;3(12):204-211. (in Russ.)].

Информация об авторах

Горбач Алина Павловна – аспирант научной лаборатории клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова, г. Курган, Россия, e-mail: alinatomilova@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7788-2687, eLibrary SPIN: 6127-8754.

Шурова Елена Николаевна – д-р биол. наук, профессор кафедры травматологии, ортопедии и смежных дисциплин, ведущий научный сотрудник научной лаборатории клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова, г. Курган, Россия, e-mail: elena.shurova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0816-1004, Scopus Author ID: 6602428322, eLibrary SPIN: 6919-1265.

Горбач Елена Николаевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии, Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова, г. Курган, Россия, e-mail: gorbach.e@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9516-7481, Scopus Author ID: 56107677500, eLibrary SPIN: 8110-2803.

Authors informatoon

Gorbach Alina P. – Postgraduate Student, Scientific Laboratory, Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre of Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russia, e-mail: alinatomilova@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7788-2687, eLibrary SPIN: 6127-8754.

Shchurova Elena N. – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Traumatology, Orthopedics and Related Disciplines, Leading Research Associate, Scientific Laboratory, Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre of Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russia, e-mail: elena.shurova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0816-1004, Scopus Author ID: 6602428322, eLibrary SPIN: 6919-1265.

Gorbach Elena N. – Cand. Sci. (Biol.) (PhD), Leading Research Associate, Laboratory of the Morphology, National Ilizarov Medical Research Centre of Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russia, e-mail: gorbach.e@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9516-7481, Scopus Author ID: 56107677500, eLibrary SPIN: 8110-2803.

УДК 612.17

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-29-37

Э. Д. ЛЕВОЧКИНА¹, Н. Г. БЕЛЯЕВ¹, Е. А. КНЯЗЕВА²

Исследование связи между данными кардиоспецифических аутоантител ANTI-ACTC1, ANTI-MYH7B, ANTI-cTnI и результатами электрокардиограммы

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-кавказский федеральный Университет», г. Ставрополь, Россия
355017, Россия, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1

² Автономная некоммерческая медицинская организация «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», г. Ставрополь, Россия
355017, Россия, г. Ставрополь, ул. Ленина, д. 304
E-mail: Minaeva-Elvira1990@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 12.10.23 г.; принята к печати 18.03.24 г.

Резюме

Цель – оценка связи между уровнем аутоантител Anti-ACTC1, Anti-MYH7B и Anti-cTnI в сыворотке крови с результатами электрокардиограммы у спортсменов, в условиях интенсивной физической нагрузки с целью предсказания неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. **Материалы и методы.** В рамках настоящей работы было проведено медицинское обследование двух групп мужского пола: 18–22 лет (n=15) и 18–25 лет (n=20), имеющих различный объем суммарной двигательной активности. Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями по проведению этапного медицинского обследования спортсменов с определением уровня Anti-ACTC1, Anti-MYH7B, Anti-cTnI в сыворотке крови. **Результаты.** При интенсивных физических нагрузках наблюдается достоверное повышение экспрессии антител: Anti-ACTC1 на 18,0 %, Anti-MYH7B на 20,1 %, Anti-cTnI на 40,9 % (p<0,01). Повышенная элевация Anti-ACTC1, Anti-MYH7B и Anti-cTnI сопровождается электрокардиографическими аномалиями (p<0,05): нарушения процессов реполяризации сердца и желудочковой проводимости, подъем сегмента ST, удлинение комплекса QRS на 17,0 %, укорочение интервала QT на 27,5 % и корригированного QT (QTc) на 30,3 %, а также удлинение интервала PQ на 15,0 %. **Заключение.** Результаты исследования демонстрируют взаимосвязь между уровнем экспрессии аутоантител (Anti-ACTC1, Anti-MYH7B, Anti-cTnI) и электрокардиографическими изменениями, что может послужить основой для разработки новых подходов к ранней диагностике структурно-функциональных изменений миокарда.

Ключевые слова: ауто-антитела к белкам кардиомиоцитов, кардиоспецифические иммуноглобулины, аутоиммунные антитела к сократительным белкам

Для цитирования: Лёвочкина Э. Д., Беляев Н. Г., Князева Е. А. Исследование связи между данными кардиоспецифических аутоантител ANTI-ACTC1, ANTI-MYH7B, ANTI-cTnI и результатами электрокардиограммы. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):29–37. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-29-37.

UDC 612.17

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-29-37

E. D. LEVOCHKINA¹, N. G. BELYAEV¹, E. A. KNYAZEVA²

Investigation of the relationship between the data of cardio specific autoantibodies ANTI-ACTC1, ANTI-MYH7B, ANTI-cTnI and electrocardiogram results at early stage of diagnosis of myocardial damage

¹ North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

1, Pushkina str., Stavropol, Russia, 355017

² Stavropol Regional Clinical Consulting and Diagnostic Center, Stavropol, Russia

304, Lenina str., Stavropol, Russia, 355017

E-mail: Minaeva-Elvira1990@yandex.ru

Received 12.10.23; accepted 18.03.24

Summary

The aim of the study was to assess the relationship between the levels of Anti-ACTC1, Anti-MYH7B and Anti-cTnI autoantibodies in blood serum with the electrocardiogram results in athletes undergoing intense physical exercise in order to predict adverse cardiovascular events. **Materials and Methods.** This work included a medical examination of two groups of men aged 18–22 years (n=15) and 18–25 years (n=20) with different amounts of total motor activity. The study was conducted in accordance with the recommendations for a stage medical examination of cyclists, which includes the determination of the

anti-ACTC1, anti-MYH7B, anti-cTnI levels in blood serum. *Results.* Intense physical exertion and psychoemotional stress activate the immune response and increase the severity of serum antibodies increases. In particular, there is a significant increase in antibody expression: Anti-ACTC1 by 18.0%, Anti-MYH7B by 20.1%, Anti-cTnI by 40.9% ($p < 0.01$). In addition to the expression of antibodies to contractile apparatus proteins, there are electrocardiographic abnormalities ($p > 0.05$): violation of the processes of cardiac repolarization and ventricular conduction, ST segment elevation, the QRS complex elongation by 17.0%, the QT interval shortening by 27.5% and corrected QT (QTc) by 30.3%, as well as the PQ interval prolongation by 15.0%. *Conclusion.* Considering the increase in the autoantibody levels during physical exertion, this can be considered as an early indicator of myocytes and cardiomyocytes damage during physical overload.

Keywords: autoantibodies to cardiomyocyte proteins, cardio-specific immunoglobulins, autoimmune antibodies to contractile proteins

For citation: Levochkina E. D., Belyaev N. G., Knyazeva E. A. Investigation of the relationship between the data of cardio specific autoantibodies ANTI-ACTC1, ANTI-MYH7B, ANTI-cTnI and electrocardiogram results at early stage of diagnosis of myocardial damage. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):29–37. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-29-37.

Введение

Патофизиология морфофункциональных повреждений миокарда в условиях физического и психоэмоционального стресса является наиболее частой и быстро прогрессирующей проблемой общественного здравоохранения и спортивной медицины, где механизм ее возникновения изучается несколько десятилетий [1–2]. Комбинация факторов, связанных с физическим стрессом, играет важную роль в возникновении повреждения сердца и сосудов и является основой для развития миокардиодистрофии, гипотрофии, инфаркта, коронарного спазма внезапной сердечной смерти (ВСС) [3–4].

Согласно исследованию Международного комитета США, количество случаев ВСС среди спортсменов увеличилось более чем в 6 раз [5–6]. В период с 1989 по 1993 год – 576 случаев, с 1994 по 2006 год было зарегистрировано 1290 случаев ВСС, с декабря 2021 по январь 2022 – 180 случаев. За период с 1966 по 2004 год был задокументирован 1101 случай внезапной смерти спортсменов в возрасте до 35 лет [7–10]. Отметим, что в России отсутствуют систематический мониторинг и официальные данные о частоте возникновения ВСС у лиц, занимающихся спортом. Отсутствие информации означает, что также отсутствуют официальные рекомендации по раннему выявлению спортсменов, подверженных повышенному риску развития ВСС и ВОС.

Для предотвращения или минимизации развития патологии миокарда у спортсменов необходимо понимание механизмов ее формирования. Исследования в этой области могут помочь в выявлении факторов, способствующих развитию патологии.

Кроме того, необходимо разрабатывать новые подходы и средства для ранней диагностики аномалии сердечно-сосудистой системы (ССС) у спортсменов. Традиционные методы диагностики, такие как электрокардиография (ЭКГ), эхокардиография (ЭХОкг) и нагрузочные тесты, могут быть недостаточно чувствительными и специфичными для выявления начальных стадий патологии миокарда [11–14]. Разработка новых методов исследования, таких как лабораторные молекулярные индикаторы, может позволить обнаружить патологические изменения в миокарде на более ранней стадии и принимать своевременные меры для их коррекции. В настоящее время активно проводятся исследования с применением миокардиальных антител у спортсменов в условиях интенсивных физических нагрузок, как ранних маркеров миокардиальных

повреждений [1,15]. Согласно данным, повышенный титр миокардиальных антител у спортсменов связан с различными патологическими состояниями сердца, такими как воспаление миокарда (миокардит), ишемия миокарда, инфаркт миокарда, кардиомиопатии и другие заболевания сердца [16]. Эти аспекты могут быть объектом исследований для выявления миокардиальных повреждений у спортсменов под воздействием интенсивных физических нагрузок.

Методика определения сывороточного содержания аутоантител (ауто-АТ) к белкам кардиомиоцитов (сTnI, АСТС1, МУН7В) может быть информативным методом донозологической диагностики формируемых нарушений в миокарде [16–17].

Патофизиологические изменения в условиях физической перегрузки приводят к поломкам сердечно-сократительного аппарата в белках с нитями миофибрил, где неизбежна гибель или драматизация миоцитов и внутриклеточные белки высвобождаются из цитоплазмы кардиомиоцитов [18–19]. Высвободившиеся внутриклеточные белки могут вызвать воспалительный ответ и активацию патологических процессов в сердечной мышце, что может привести к миокардиальной дисфункции и недостаточности в целом [20].

Таким образом, метод ранней диагностики состояния сердечной мышцы у спортсменов, основанный на анализе продуктов повреждения кардиомиоцитов и содержания сывороточных аутоантител, представляет перспективу для выявления возможных проблем со здоровьем и принятия профилактических мер. К сожалению, существует ограниченное количество исследований, которые изучают экспрессию ауто-АТ против белков кардиомиоцитов во время тренировок и соревнований.

Предыдущие экспериментальные исследования, которые были проведены для изучения ауто-антител к сократительным белкам в сердце, позволили обнаружить явную связь между реакцией иммунной системы и изменениями, происходящими в сердечной мышце при адаптации к различным физическим нагрузкам в зависимости от их продолжительности и интенсивности [21–23]. Результаты данных экспериментальных исследований позволяют предположить, что определение ауто-антител к белкам кардиомиоцитов у спортсменов является информативным методом для определения характера адаптивных процессов на разных этапах спортивной деятельности, в том числе патологического повреждения кардиомиоцитов.

Цель исследования – оценка взаимосвязи между содержанием кардиоспецифических ауто-антител к тропонину I, альфа-актину I и тяжелой цепи бета-миозина 7B в крови и результатами электрокардиографии у профессиональных баскетболистов на разных этапах тренировочного цикла.

Материалы и методы исследования

Идеальной моделью для изучения воздействий хронического физического перенапряжения на миокард являются спортсмены, испытывающие регулярные физические нагрузки [24–28].

В рамках настоящей работы нами было проведено медицинское обследование 35 лиц мужского пола, имеющих различный объем суммарной двигательной активности, которые были разделены на группы. Все участники исследования предоставили добровольное информированное согласие в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) и обработку персональных данных. Работа прошла этическую экспертизу и была утверждена этическим комитетом Северо-Кавказского федерального университета г. Ставрополь (протокол № 123 от 28.06.2023 г.).

В состав I группы вошли 15 исследуемых мужчин в возрасте 18–22 лет, средний возраст которых составил 20,5 года ($\pm 1,2$). Все участники этой группы являются членами сборной команды по баскетболу в Северо-Кавказском Федеральном университете, г. Ставрополь. В группе спортсменов все участники имели спортивные разряды, находились в активной спортивной подготовке и тренировались не менее 4 раз в неделю. II контрольная группа включала 20 практически здоровых мужчин в возрасте от 18 до 25 лет, с обычным объемом суммарной двигательной активности. Средний возраст участников составил 21,5 года ($\pm 1,5$).

Обследование I группы проводилось на всех этапах годичного тренировочного цикла (подготовительный, соревновательный и переходный) в соответствии с рекомендациями по проведению этапного медицинского осмотра спортсменов [28]. Критерием исключения было наличие сопутствующих заболеваний: хроническая почечная недостаточность, онкологические заболевания и другие некардиальные и системные состояния.

Исследование физического развития включало сбор данных о различных антропометрических показателях (измерение роста, веса, жизненная емкость легких (ЖЕЛ) и максимальное потребление кислорода (МПК)). Для изучения общего физического и психического состояния использовались два опросника: рейтинговая шкала психологического состояния (POMS) и вопросник о симптомах переутомления (ABQ).

При обследовании пациентов проводили следующие лабораторные исследования: 1) гематологические показатели определяли на анализаторе XN SYSMEX с использованием реагентов Beckman Coulter (Япония); 2) количественный показатель тестостерона определяли методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛ) на анализаторе Beckman Coulter Unicel Dxi 800 (США) с использованием реактивов той же фирмы; 3) количественный тропонин I в крови исследовали методом иммунохроматографического анализа (ИХА)

на анализаторе Beckman Coulter Unicel Dxi 800 (США) и методом одностадийного твердофазного анализа (BIOLine SD тропонин I, Россия); 4) кардиоспецифические аутоиммунные глобулины к тропонину I (сTnI), альфа-актину I (ACTC1) и к тяжелой цепи бета-миозина 7B (MYH7B) определяли количественно методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов Cloud Clone Corp (Китай) и фотометра (Thermo Scientific Multiskan FC, Финляндия).

Во время проведения мониторинга частоты сердечных сокращений (ЧСС) и аномалий электрической активности использовался прибор АТЕС МЕДИКА Easy ECG ЭКГ с 12-канальными параметрами. Выше перечисленные манипуляции проводились на базе ГБУЗ СК «Городская клиническая поликлиника № 1» г. Ставрополь, с участием квалифицированных медицинских специалистов.

Статистический анализ. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием стандартных методик. Полученные данные были обработаны с помощью методов вариационной статистики с использованием статистических пакетов Statistics for Windows v.6.0 и Biostat (версия 4.03). Для оценки статистической значимости различий между группами исследуемых применяли параметрический метод t-критерий Стьюдента и критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Информация в таблицах отображена в виде средних значений и их \pm стандартных ошибок.

Результаты исследования и их обсуждение

На всех этапах годичного тренировочного цикла (подготовительном, соревновательном и переходном) специалисты, включая терапевта, кардиолога, невролога и эндокринолога, не выявили существенных отклонений в состоянии здоровья. В период исследовательского процесса испытуемые не принимали лекарственных препаратов и не предъявляли жалоб со стороны ССС.

Сравнительный анализ антропометрических и физиометрических исследований пациентов, имеющих различный уровень суммарной двигательной активности, позволил выявить достоверное превосходство в росте на 14,7 % ($p=0,0078$), массе тела – на 10,9 % ($p=0,0081$), в показателях ЖЕЛ – на 46,24 % ($p=0,0088$), МПК – на 42,81 % ($p=0,0097$) у баскетболистов по сравнению с контрольной группой.

На основании анализа результатов опроса POMS и ABQ у спортсменов не выявлено статистически значимых отклонений в физическом состоянии, а также отсутствуют признаки переутомления, эмоциональной усталости или нестабильности ($p=0,0092$).

При сравнительной характеристике общего анализа крови в группе спортсменов отмечен более высокий гематокрит (на 26,0 %) ($p=0,0069$), достоверно значимое превосходство в количестве эритроцитов (на 41,2 %) ($p=0,0097$), и содержании гемоглобина в крови и в клетке (на 27,2 %) ($p=0,0096$), по сравнению с данными контрольной группы, у которых результаты общего анализа крови не превышали общепринятые нормативные значения.

Динамика лабораторных показателей в сыворотке крови у спортсменов, определяемых в процессе окончания годовых тренировочных циклов

Table 1

Dynamics of laboratory parameters in the blood serum of athletes determined during the end of annual training cycles

Определяемые показатели	Экспресс-исследование уровня сТnI	сТnI
Референсные значения/Единицы измерения	<0,5 нг/л	0–1 нг/л
<i>Данные на начало исследований</i>		
Группа спортсменов (n=15)	<0,5	<0,20
Контрольная группа (n=20)	<0,5	<0,20
<i>Данные I группы (спортсменов), определяемые в процессе окончания годовых тренировочных циклов</i>		
Подготовительный период (n=15)	<0,5	<0,20
Соревновательный период (n=15)	<0,5	<0,20
Переходный период (n=15)	<0,5	<0,20

Примечание: данные уровня сТnI в сыворотке крови представлены как предельные значения, соответствующие диапазону измеряемых значений (FS).

Перечисленные параметры крови у атлетов также были выше установленных референсных интервалов ($p < 0,01$), содержание эритроцитов на 15,8 %; уровень гемоглобина в крови и в клетках на 11,25 %; уровень гематокрита на 9,1 %, что свидетельствует о высокой физиологической кислородной емкости крови, как результата многолетних спортивных тренировок, связанных с развитием общей и специальной выносливости и адаптивности организма. Концентрация тестостерона в крови I группы, определяемая в подготовительном периоде, находилась в пределах физиологической нормы. Снижение концентрации тестостерона на 35,5 % ($p = 0,0088$) в период соревновательного процесса может свидетельствовать о преобладании процессов анаболизма. Снижение уровня тестостерона может также указывать на высокую интенсивность тренировок или длительный период нагрузки, что может вызвать временное снижение гормона [29].

При сравнении значений сТnI (табл.1) в образцах крови двумя разными методами на всех этапах годового цикла в 100 % случаев диагностически значимых отклонений не установлено. Уровень сТnI в крови указан в виде минимальных значений входного сигнала, который анализатор способен преобразовать без превышения предельно допустимых погрешностей.

Однако, в некоторых случаях, уровень кардио-маркеров сТnI может оставаться в пределах нормы, даже при наличии заболеваний сердца. Это может быть вызвано таймингом, где уровень кардио-маркеров может возрастать только после определенного периода времени после начала повреждения сердца [30], и неоднородностью повреждения миокарда [31]. Следует отметить, что в настоящее время нет данных о выявлении сТnI в крови как раннего маркера повреждения кардиомиоцитов, не связанного с ОИМ (острым инфарктом миокарда) [32].

Результаты сравнительного анализа аутоантител выявлено, что у лиц, занимающихся спортивной деятельностью в подготовительный период, наблю-

дается высокое содержание аутоантител ($p < 0,01$) – anti-АСТС1 на 13,8 %; anti-МУН7В на 63,4 %; anti-сТnI – 29,4 %. Такое явление может быть связано с адаптацией миокарда к усиленному метаболизму, как результату формирования физиологического ремоделирования миокарда. В период соревновательного этапа в условиях интенсивных физических нагрузок и психоэмоционального перевозбуждения атлетов уровни аутоантител имели тенденцию к повышению; Anti-АСТС1 на 18,0 %, Anti-МУН7В на 20,1 % и Anti-сТnI – 40,9 % по сравнению с показателями подготовительного периода ($p < 0,01$). Такие значения при интенсивных физических нагрузках, которые протекают на пределе возможностей атлета, могут быть вызваны миокардиальным стрессом, ведущим к микротравмам и воспалительным процессам в мышцах сердца, что в свою очередь провоцирует иммунную реакцию и повышение уровня аутоантител. Ранее проведенные научные исследования [21–23] показали, что при интенсивных физических нагрузках наблюдается повышение ауто-антител к сократительным белкам миокарда задолго до того, как это проявляется во внешних показателях, таких как физическая работоспособность или признаки переутомления и ХФП. Это свидетельствует о начале патологических процессов в сердце еще на ранних стадиях, до появления деструктивных изменений. Повышение аутоантител может служить предупреждающим сигналом о потенциальных патологических процессах, которые еще не проявляются клинически. Эти результаты подчеркивают важность регулярного мониторинга уровня ауто-антител к белкам саркомера миокарда, особенно для лиц, ведущих профессиональную спортивную деятельность. Это позволяет выявить возможные проблемы со здоровьем сердца на ранних стадиях и предпринять соответствующие меры для их предотвращения или раннего лечения.

В соревновательный период, когда спортсмены находятся на пределе своих функциональных воз-

Динамика электрокардиограммы у спортсменов, определяемые в процессе окончания годовых тренировочных циклов

Table 2

Dynamics of the electrocardiogram in athletes determined during the end of annual training cycles

Значения	Единицы измерения	Нормы	I группа (спортсменов) (n=15)			II группа (контрольная) (n=20)
			1-й этап	2-й этап	3-й этап	
ЧСС	в 1 мин.	60–90	58,57±11,12	65,42±15,13	60,41±12,11	72,4±10,29
RR	мсек.	1,0–0,67	1,064±0,150	0,982 ±0,025	1,050±0,149	0,839±0,125
P	сек. 1 мм	0,08–0,10	0,10±0,001	0,13 ±0,009	0,11±0,001	0,085±0,010
PQ	мсек.	0,12–0,20	0,20±0,012	0,23 ±0,008	0,21±0,013	0,18±0,019
QRS	мсек.	0,8–0,10	0,094±0,013	0,11 ±0,019	0,099±0,014	0,83±0,007
Q-T	сек.	0,35 – 0,44	0,37±0,010	0,29±0,011	0,35±0,009	0,352±0,021
QTc ¹	сек.	340–450	344±13,32	264±12,29	340±10,29	420±13,02
Q	мсек.	<0,04	6/0	6/0	6/0	6/0
T		+ I. II. III. AVL. AVF	+	+	+	+
*p			p=0,045	p=0,021	p=0,049	p=0,031

Примечание: данные представлены в виде среднего значения ± стандартного отклонения (SD), и статистическая значимость различий оценена с использованием t-критерия Стьюдента и p*-значения (уровень достоверности).¹ – значения QTc рассчитан по формуле Базетта.

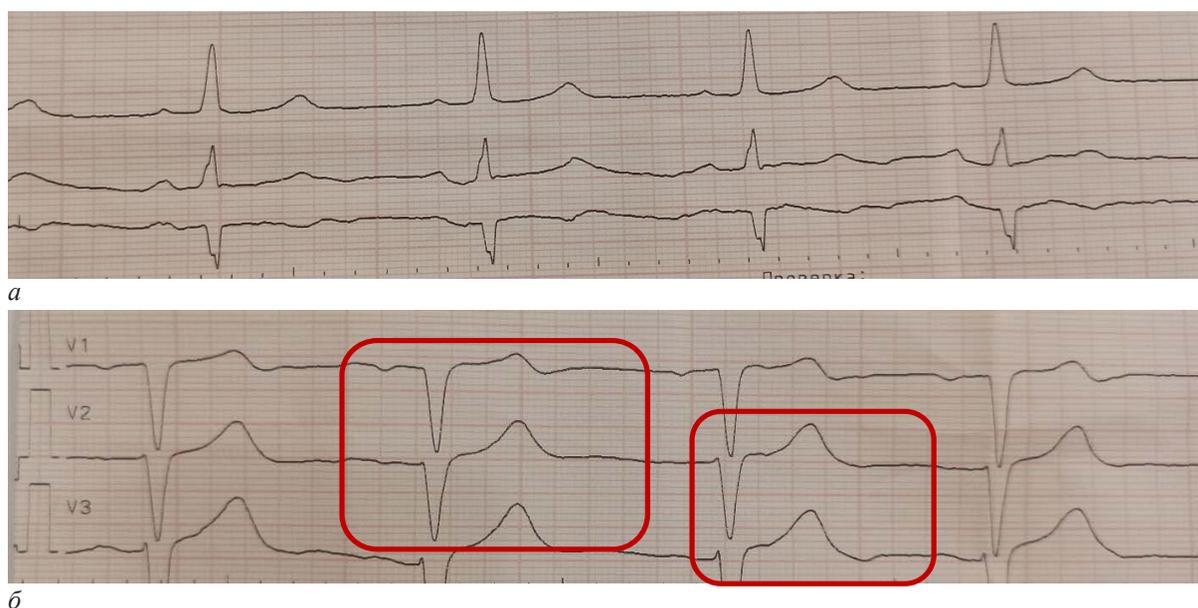


Рис 1. Данные электрокардиограммы (а, б) – подъем сегмента ST в отведениях V2-V3

Fig. 1. Electrocardiogram data (a, б) – ST segment elevation in leads V2-V3

можностей, были выявлены изменения в электрокардиограмме (табл. 2). Отмечается начальная и вторичная умеренная брадикардия, это обусловлено повышением тонуса блуждающего нерва в результате многолетних тренировок. Атлеты с высоким уровнем физической подготовки могут иметь выраженную брадикардию, особенно во время выполнения длительных нагрузок. Выраженность брадикардии у спортсменов используется как один из показателей их тренированности, особенно в видах спорта, где необходима выносливость.

У исследуемых с высокой суммарной активностью – баскетболистов по данным ЭКГ – вертикаль-

ное положение электрической оси сердца (ЭОС), что является результатом анатомического строения [30]. При интерпретации полученных данных ЭКГ (рис. 1) в отведениях V2–V3 отмечается подъем сегмента ST до 1,5 мм (норма 0,5–1,0 мм), что свидетельствует о возможном нарушении процессов реполяризации миокарда перегородочной области левого желудочка.

Кроме того, наблюдается подъем ST-сегмента, возникающий за счет перегрузки миокарда переднеперегородочного отдела левого желудочка, верхушки (рис. 2).

Ширина комплекса QRS у исследуемой спортивной группы на втором этапе увеличилась по сравнению с результатами первого этапа и превысила

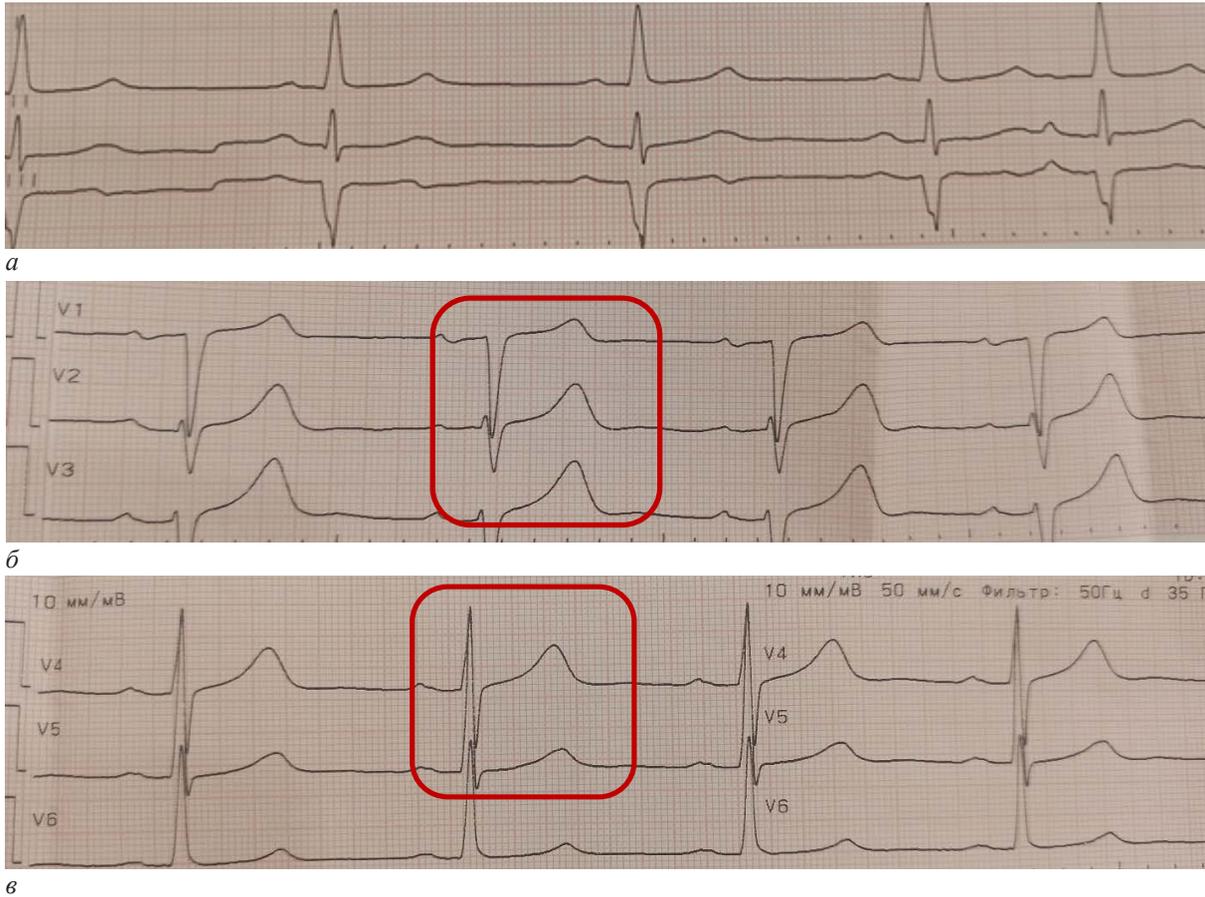


Рис. 2. Данные электрокардиограммы (а, б, в) – подъем сегмента ST в отведениях V3-V4
 Fig. 2. Electrocardiogram data (а, б, в) – ST segment elevation in leads V3-V4

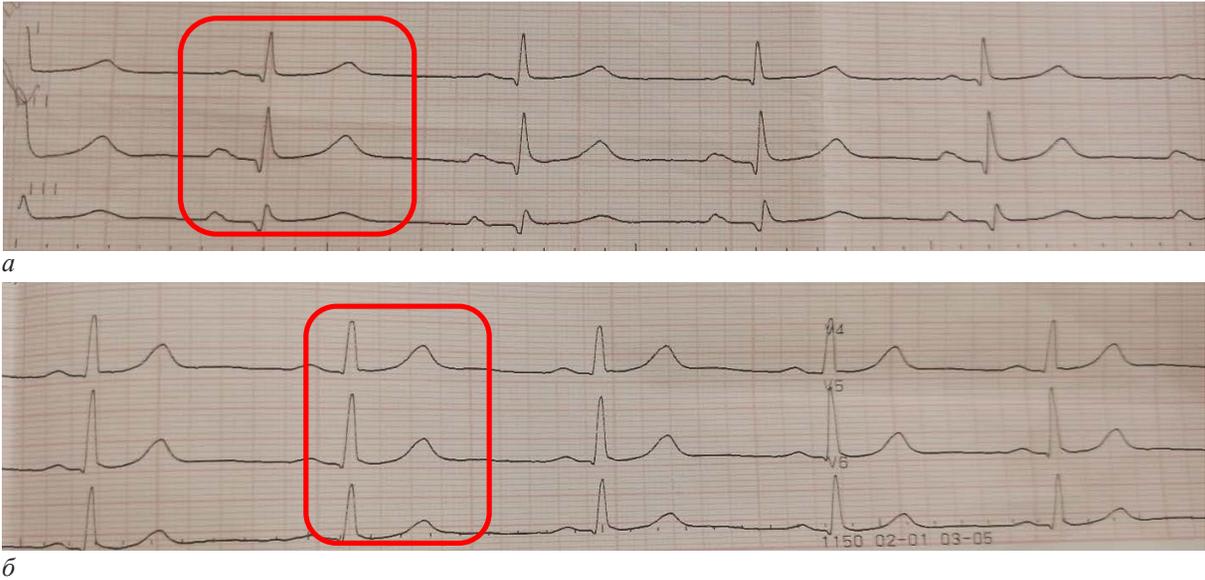


Рис. 3. Данные электрокардиограммы (а, б) при синдроме ранней реполяризации желудочков (корытообразный подъем сегмента ST)

Fig. 3. Electrocardiogram data (а, б) in early ventricular repolarization syndrome (trough-shaped ST segment rise)

норму на 17,0 % ($p < 0,05$), что указывает на появление межжелудочкового асинхронизма [33–34]. Также у 2 % группы спортсменов зарегистрирован корытообразный подъем сегмента ST, обращенного к низу от терминальной зазубренности j, что указывает на признаки синдрома ранней реполяризации желудочков (рис. 3) [35].

Укорочение интервала QT на 0,08 мсек (27,5 %) ($p < 0,05$) и QTc на 80,0 мсек, (30,3 %) ($p < 0,05$) у спорт-

сменов в соревновательный период и восстановление их к исходным значениям в переходный, является физиологическим адаптивным ответом на тренировки. Следует отметить, что отсутствие восстановления значений QTc и QT могут быть связаны с повышенным риском развития аритмий, включая жизнеугрожающую аритмию типа трепетания желудочков [36].

Удлинение интервала PQ на 0,03 мсек (15,0 %) ($p < 0,05$) в соревновательный период связано с ин-

тенсивной физической нагрузкой и тренировками. Эти адаптации могут включать изменения в автоматизме синусового узла и проводимости в сердце. Однако следует отметить, что замедление интервала PQ может указывать на нарушение проводимости в атриовентрикулярном узле, проявляющееся задержкой передачи сигнала между предсердиями и желудочками [37].

В остальных измерениях комплекса и интервалах достоверно значимых отклонений не зарегистрировано. Изменения на ЭКГ зафиксированы при отсутствии явных клинических проявлений и жалоб со стороны ССС. Самые частые, но не специфические отклонения зафиксированы в показателях PQ, ST, QRS и QT, которые могут являться как отражением адаптационных механизмов сердца, так и ранним сигналом о начинающихся патофизиологических изменениях в кардиомиоцитах. Однако прямая корреляция с уровнем аутоантител указывает на возможность детекции начинающихся деструктивных изменений в миокарде. Сочетание аутоантител и данных ЭКГ может служить индикатором возможных дефектов и изменений в кардиомиоцитах. Наличие высоких уровней аутоантител, сочетанное с аномальными параметрами ЭКГ, может указывать на начинающиеся патофизиологические процессы в сердечной ткани, возможно, связанные со срывом адаптационных механизмов ССС.

Предположение о выражении кардиоспецифических аутоантител при даже незначительных патофизиологических отклонениях в миокарде подчеркивает значимость иммунного ответа в контексте сердечных заболеваний. Это может указывать на то, что организм реагирует на структурно-функциональные изменения в сердце, вырабатывая аутоантитела, что, в свою очередь, может быть связано с возможной кардиоваскулярной патологией.

Исходя из анализа данных ЭКГ и уровня Anti-cTnI, -ACTC и -MYH7B аутоантител, можно предположить, что это сочетание может быть полезным инструментом для выявления адаптационных и патологических изменений в миокарде. Однако для более точной интерпретации результатов необходимо провести дополнительные исследования и учесть множество других факторов, влияющих на состояние сердечно-сосудистой системы.

Выводы

Проведенные исследования показали, что при интенсивных физических нагрузках и психоэмоциональном напряжении происходит активация иммунной реакции и увеличение выраженности сывороточных антител. В частности, повышение экспрессии антител: Anti-ACTC1 на 18,0 %, Anti-MYH7B на 20,1 %, Anti-cTnI на 40,9 % ($p < 0,01$). Повышенная элевация Anti-ACTC1, Anti-MYH7B и Anti-cTnI сопровождается электрокардиографическими аномалиями ($p < 0,05$): нарушения процессов реполяризации сердца и желудочковой проводимости, подъем сегмента ST, удлинение комплекса QRS на 17,0 %, укорочение интервала QT на 27,5 % и скорректированного QT (QTc) на 30,3 %, а также удлинение интервала

PQ на 15,0 %. При этом, результаты многократно-го обследования не выявили значимых различий в измеряемых показателях физического состояния и параметрах крови.

Результаты исследования демонстрируют взаимосвязь между уровнем экспрессии аутоантител (Anti-ACTC1, Anti-MYH7B, Anti-cTnI) и электрокардиографическими изменениями при интенсивных физических нагрузках, что может послужить основой для разработки новых подходов к ранней диагностике структурно-функциональных изменений миокарда.

Источники финансирования / Financing

Работа выполнялась в рамках программы научно-исследовательской работы и оценки перспектив коммерческого использования результатов и реализации инновационного проекта «Разработка системы ранней диагностики перетренированности у спортсменов с определением уровня аутоиммунных антител к актину, миозину и тропонину», запланированных в Университете «Северо-Кавказский Федеральный университет». Автор Левочкина Э. Д., поддержан грантом Федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (грант У.М.Н.И.К. № 14876ГУ/2019). / The work was carried out within the framework of the program of research and evaluation of the prospects for commercial use of the results and the implementation of the innovative project «Development of a system for early diagnosis of overtraining in athletes with determination of the level of autoimmune antibodies to actin, myosin and troponin» planned at the University of the North Caucasus Federal University. Author Lyovochkina E. D., supported by a grant from the Federal State Budgetary Institution «Fund for Assistance to the Development of Small forms of Enterprises in the Scientific and technical field (grant U.M.N.I.K. No. 14876GU/2019).

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Соответствие нормам этики / Ethics Compliance

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия. / The authors confirm that they respected the rights of the people who participated in the study, including that the authors obtained their informed consent.

Литература / References

1. Глущенко В.А., Иркиенко Е.К. Сердечно-сосудистая заболеваемость - одна из важнейших проблем здравоохранения // Медицина и организация здравоохранения. – 2019. – Т. 4, № 1. – С. 56–63. [Glushchenko VA, Irklienko EK. Cardiovascular morbidity is one of the most important health problems. Medicine and health care organization. 2019; 4(1):56-63. (in Russ.)].
2. Hsu JJ, Ziaian B, Fonarow GC. Heart Failure With Mid-Range (Borderline) Ejection Fraction: Clinical Implications and Future Directions. JACC Heart Fail. 2017;5(11):763-771. Doi: 10.1016/j.jchf.2017.06.013.

3. Современные представления о причинах внезапной смерти, в том числе в спорте, и их судебно-медицинская диагностика // Аббасов И.М., Скребов Р.В., Кузьмичев Д.Е., Мисников П.В. // *Здравоохранение Югры: опыт и инновации*. – 2020. – № 1. – С. 67–81. [Abbasov IM, Skrebov RV, Kuzmichev DE, Misnikov PV. Modern ideas about the causes of sudden death, including in sports and their forensic diagnostics. *Healthcare of Ugra: experience and innovations*. 2020;(1):67-81. (in Russ.)].
4. Алимсултанов И.И., Крайнюков И.П. Внезапная смерть в спорте: причины, частота возникновения и профилактика // *Известия Рос. Военно-Мед. Акад.* – 2020. – Т. 39, № 2. – С. 19. [Alimsultanov II, Kraynukov IP. Sudden death in sports: causes, frequency of occurrence and prevention. *Russ Military Med Acad Reports*. 2020;39(2):19. (in Russ.)].
5. Макаров Л.М. Спорт и внезапная сердечная смерть // *Неотложная кардиол.* – 2018. – № 2. – С. 13–21. [Makarov LM. Sports and sudden cardiac death. *Emergency cardiologist*. 2018;(2):13-21. (in Russ.)].
6. Макаров Л.М. Внезапная сердечная смерть в спорте: тенденции XXI века // *Мед. алфавит*. – 2017. – Т. 31, № 2. – С. 51–57. [Makarov LM. Sudden cardiac death in sports: trends of the XXI century. *Med Alphabet*. 2017;31(2):51-57. (in Russ.)].
7. Барсуков А.В., Борисова Е.В., Диденко М.В. и др. Гипертрофия левого желудочка в аспекте проблемы внезапной сердечной смерти // *Мед.: теор. и практ.* – 2023. – Т. 8, № 3. – С. 44–59. [Barsukov AV, Borisova EV, Didenko MV, Glebova SA, Hayrapetyan AV, Ligidov ML, Rud SD, Asaturova EI, Konovalova II. Hypertrophy of the left ventricle in the aspect of the problem of sudden cardiac death. *Medicine: theory and practice*. 2023;8(3):44-59. (in Russ.)].
8. Никонова В.В. Внезапная кардиальная смерть у детей и подростков. Проблемы диагностики. Направлений профилактики (обзор литературы) // *Мед. неотложных состояний*. – 2013. – № 3. – С. 22–29. [Nikonova VV. Sudden cardiac death in children and adolescents. Diagnostic problems. Directions of prevention (literature review). *Emergency medicine*. 2013;(3):22-29. (in Russ.)].
9. Schmiel C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. *J Internal Med*. 2017;275(2):93-103. Doi: 10.1111/joim.12184.
10. Prakash K, Swarnakari KM, Bai M, Manoharan MP, Raja R, Jamil A, Csendes D, Gutlapalli SD, Desai A, Desai DM, Hamid P. Sudden Cardiac Arrest in Athletes: A Primary Level of Prevention. *Cureus*. 2022;14(10):e30517. Doi: 10.7759/cureus.30517.
11. Захаревич А.Л., Барановская Е.А. Кардиологический скрининг: электрокардиографические изменения у спортсменов циклических и игровых видов спорта // *Прикладная спорт. наука*. – 2020. – Т. 2, № 12. – С. 76–84. [Zakharevich AL, Baranovskaya EA. Cardiological screening: electrocardiographic changes in athletes of cyclic and game sports. *Applied Sports Sci*. 2020;2(12):76-84. (in Russ.)].
12. Гаврилова Е.А. Внезапная смерть в спорте: причины, частота возникновения, профилактика // *Наука в олимпийском спорте*. – 2014. – № 4. – С. 36–41. [Gavrilova EA. Sudden death in sports: causes, frequency of occurrence, prevention. *Sci Olympic Sports*. 2014;(4):36-41. (in Russ.)].
13. Титов В.А., Игнатъева Е.С., Митрофанова Л.Б. и др. Сравнительное исследование информативности неинвазивных методов диагностики воспалительных заболеваний миокарда // *Рос. кардиол. журн.* – 2018. – № 2. – С. 53–59. [Titov VA, Ignatieva ES, Mitrofanova LB, Ryzhkova DV, Zverev DA, Lebedev DS. A comparative study of the informativeness of noninvasive methods of diagnosing inflammatory myocardial diseases. *Russ J Cardiol*. 2018;(2):53-59. (in Russ.)].
14. El-Kased RF. Immuno-analytical approach and its application for cardiac disease marker detection. 2018;39(5): 538-550. Doi: 10.1080/15321819.2018.1518241.
15. Гладышева Э.В., Гришаев С.Л., Никифоров В.С. и др. Роль циркулирующих аутоантител к белкам кардиомиоцитов в структурных и функциональных изменениях сердца у больных хроническим миокардитом // *Cardio Somatika*. – 2013. – Т. 4, № 4. – С. 40–44. [Gladysheva EV, Grishaev SL, Nikiforov VS, Svistov AS, Solntsev VN. The role of circulating autoantibodies to cardiomyocyte proteins in structural and functional changes of the heart in patients with chronic myocarditis. *Cardio Somatics*. 2013;4(4):40-44. (in Russ.)].
16. Рябкова В.А., Чурилов Л.П., Шубик Ю.В. Роль аутоантител против антигенов кардиомиоцитов в развитии нарушений ритма сердца и внезапной сердечной смерти // *Вестн. аритмол.* – 2019. – Т. 26, № 4. – С. 21–31. [Ryabkova VA, Churilov LP, Shubik YuV. The role of autoantibodies against cardiomyocyte antigens in the development of cardiac arrhythmias and sudden cardiac death. *Bull Arrhythmol*. 2019;26(4):21-31. (in Russ.)].
17. Obbiassi M, Brucato A, Meroni PL et al. Antibodies to cardiac Purkinje cells: further characterization in autoimmune diseases and atrioventricular heart block. *Clin Immunol Immunopathol*. 1987;42(2):141-150. Doi: 10.1016/0090-1229(87)90001-8.
18. Дымова О.В. Современные биомаркеры в кардиологии // *Мед. совет*. – 2018. – № 16. – С. 118–123. [Dymova OV. Modern biomarkers in cardiology. *Med Council*. 2018;(16):118-123. (in Russ.)].
19. Курьяк М.М., Ожгибесова М.А., Ганеева Е.П. Лабораторные маркеры повреждения миокарда в современной кардиологии // *Научное обозрение. Педагогические науки*. – 2019. – Т. 5, № 3. – С. 85–89. [Kurylyak M, Ozhgibesova MA, Ganeeva ER. Laboratory markers of myocardial damage in modern cardiology. *Scientific review. Pedagogical Sci*. 2019;5(3):85-89. (in Russ.)].
20. Хафизов Р.Р., Загидуллин Б.И., Загидуллин Н.Ш. и др. Перспективы применения новых биомаркеров в диагностике острого коронарного синдрома // *Практ. мед.* – 2012. – Т. 60, № 5. – С. 89–92. [Hafizov RR, Zagidullin BI, Zagidullin NS, Travnikova EO, Zagidullin SZ. Prospects for the use of new biomarkers in the diagnosis of acute coronary syndrome. *Practical medicine*. 2012;60(5):89-92. (in Russ.)].
21. Левочкина Э.Д., Беляев Н.Г., Батуринов В.А. и др. Прогностическое значение аутоантител к белкам кардиомиоцитов в диагностике хронического физического перенапряжения // *Вестн. РУДН. Серия: Медицина*. – 2022. – Т. 26, № 3. – С. 289–303. [Lyovochkina ET, Belyaev NG, Baturin VA, Rzhepakovsky IV, Abbasova TV, Smyshnov KM, Piskov SI. Prognostic value of autoantibodies to cardiomyocyte proteins in the diagnosis of chronic physical overstrain. *Bull RUDN. Series: Medicine*. 2022;26(3):289-303. (in Russ.)]. Doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-289-303.
22. Беляев Н.Г., Левочкина Э.Д., Батуринов В.А. и др. Динамика аутоантител к белкам кардиомиоцитов на разных этапах моделируемых мышечных нагрузок // *Вестн. РУДН. Серия: Медицина*. – 2022. – Т. 26, № 1. – С. 51–61. [Belyaev NG, Lyovochkina ET, Baturin VA, Rzhepakovsky IV, Abbasova TV, Piskov SI. Dynamics of autoantibodies to cardiomyocyte proteins at different stages of simulated muscle loads. *Bull RUDN. Series: Medicine*. 2022;26(1):51-61. (in Russ.)]. Doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-51-61.
23. Беляев Н.Г., Левочкина Э.Д., Гаджиметов А.С. Инновационные преобразования в сфере физической культуры, спорта и туризма // *Сб. материалов XXIV Всерос. науч.-практ. конф. Ростов-на-Дону*, 2021. – С. 210–213. [Belyaev NG, Lyovochkina ED, Gadzhimetov AS. Innovative transformations in the field of physical culture, sports and tourism. *Collection of materials of the XXIV All-Russ Sci Pract Conf. Rostov-on-Don*, 2021:210-213. (in Russ.)].

24. Mackinnon LT. Effects of overreaching and overtraining on immune function. *Overtraining in sport* / eds by R.B. Kreider, A.C. Fry, M.L. O'Toole. Champaign, Human Kinetics. 1988:219-241.

25. Брук Т.М., Литвин Ф.Б., Кротова К.А. и др. К вопросу об особенностях морфологического портрета баскетболистов разного игрового амплуа // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2021. – № 12 (202). – С. 47–52. [Brook TM, Litvin FB, Krotova KA, Masaltseva LV, Menkova NS. On the question of the features of the morphological portrait of basketball players of different playing roles. *Sci Notes P.F. Lesgaft University*. 2021;(12(202)):47-52. (in Russ.)].

26. Maron BJ, Doerer JJ, Haas TS, Tierney DM, Mueller FO. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation*. 2009;119(8):1085-1092. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.804617.

27. Huang AL, Mac Namara J, Link MS, Martinez M, Dearani JA, Cannon BC, Levine BD, Ackerman MJ. Asymptomatic Apical Hypertrophic Cardiomyopathy in an Elite Competitive Athlete. *JACC Case Rep*. 2022;6:101705. Doi: 10.1016/j.jaccas.2022.101705.

28. Самойлов А.С., Разинкин С.М., Петрова В.В. и др. Проведение этапного медицинского обследования спортсменов циклических видов спорта на базе специализированного центра спортивной медицины: метод. рекоменд. / под ред. проф. В.В. Уйба. – М.: ФМБА России, 2018. – 65 с. [Samoilov AS, Razinkin SM, Petrova V, Fomkin PA, Bragin MA, Prudnikov IA, Kish A, Bogoyavlenskikh NS, Zharkova KN. Conducting a staged medical examination of cyclical sports athletes on the basis of a specialized sports medicine center. *Methodological recommendations* / eds by V.V. Uiba. Moscow, FMBA of Russia, 2018:65. (in Russ.)].

29. Гарколь А.А. Применение тестостерона в спортивной медицине // *Scientist*. – 2020. – № 3 (13). [Garkol AA. The use of testosterone in sports medicine. *Scientist*. 2020;3(13). (in Russ.)].

30. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD; Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation*. 2018;138(20):e618-e651. Doi: 10.1161/CIR.0000000000000617.

31. Вельков В.В. Новые международные критерии инфаркта миокарда и высокочувствительные тропонины: новые возможности и новые проблемы // *Клин. лаб. диагност.* – 2014. – Т. 59, № 1. – С. 43–53. [Velkov VV. New international criteria for myocardial infarction and highly sensitive troponins: new opportunities and new problems. *Clin lab diagnost*. 2014;59(1):43-53. (in Russ.)].

32. Бакумцева Л.С., Пермякова И.Н., Заклякова Л.В. Роль тропонина I и белка, связывающего жирные кислоты, в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний // *Астраханский мед. журн.* – 2011. – № 2. – С. 18–22. [Bakumtseva LS, Permyakova IN, Zaklyakova LV. The role of troponin I and protein, binding fatty acids, in the diagnosis of cardiovascular diseases. *Astrakhan Med J*. 2011;(2):18-22. (in Russ.)].

33. Бурда И.Ю., Лысенко Н.В., Яблучанский Н.И. Значение продолжительности комплекса qrs ЭКГ в клиническом течении и исходах сердечно-сосудистых заболеваний // *Вестн. ХНУ им. В.Н. Каразина. Серия: Медицина.* – 2009. – № 17 (855). – С. 73–81. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/znachenie-prodolzhitelnosti-kompleksa-qrs-ekg-v-klinicheskom-techenii-i-ishodakh-serdechno-sosudistykh-zabolevaniy> (дата обращения: 16.11.2023). [Burda IYu, Lysenko NV, Yabluchanskiy NI. Znachenie prodolzhitel'nosti kompleksa qrs EKG v klinicheskom techenii i iskhodakh serdechno-sosudistykh zabolevaniy. *Bull V.N.*

Karazin KhNU. Med series. 2009;(17(855)):73-81. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/znachenie-prodolzhitelnosti-kompleksa-qrs-ekg-v-klinicheskom-techenii-i-ishodakh-serdechno-sosudistykh-zabolevaniy> (accessed: 16.11.2023). (in Russ.)].

34. Фрагментация QRS-комплекса - важный электрокардиографический маркер нарушения деполаризации / Пармон Е.В., Гордеева М.С., Куриленко Т.А., Бернгардт Э.Р. // *РКЖ.* – 2017. – № 8. – С. 90–95. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/fragmentatsiya-qrs-kompleksa-vazhnyy-elektrokardiograficheskiy-marker-narusheniya-depolyarizatsii> (дата обращения: 16.11.2023). [Parmon EV, Gordeyeva MS, Kurilenko TA, Bergardt ER. QRS complex fragmentation – an important marker of abnormal depolarization. *Russ J Cardiol*. 2017;(8):90-95. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/fragmentatsiya-qrs-kompleksa-vazhnyy-elektrokardiograficheskiy-marker-narusheniya-depolyarizatsii> (accessed: 16.11.2023). (in Russ.)].

35. Кулик В.Л., Яблучанский Н.И. Интервал qt в кардиологической клинике. // *Вестн. ХНУ им. В.Н. Каразина. Серия: Медицина.* – 2009. – № 18. [Kulik VL, Yabluchanskiy NI. The qt interval in the cardiology clinic. *Bull V.N. Karazin KhNU. Med series*. 2009;(18). (in Russ.)].

36. Особенности ЭКГ спортсмена / Орджоникидзе З.Г., Павлов В.И., Дружинин А.Е., Иванова Ю.М. // *Функциональная диагностика.* – 2005. – № 4. – С. 65–74. [Ordzhonikidze ZG, Pavlov VI, Druzhinina E, Ivanova YuM. Features of an athlete's ECG. *Functional diagnostics*. 2005;(4):65-74. (in Russ.)].

37. Cooper R, Mishra GD, Kuh D. Physical activity across adulthood and physical performance in midlife: findings from a British birth cohort. *Am J Prev Med*. 2011;41(4):376-384. Doi: 10.1016/j.amepre.2011.06.035.

Информация об авторах

Левочкина Эльвира Даутовна – аспирант кафедры физиологии и патологии, медико-биологического факультета, ФГАО ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», биолог патологоанатомического отделения, ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический онкологический диспансер», г. Ставрополь, Россия, e-mail: Minaeva-Elvira1990@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1996-0920.

Беляев Николай Георгиевич – доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии и патологии медико-биологического факультета, ФГАО ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» г. Ставрополь, Россия, e-mail: belyaev_nikolay@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1751-1053.

Князева Елена Александровна – врач клинической лабораторной диагностики, АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», г. Ставрополь, Россия, e-mail: Knyazeva_kea@mail.ru, ORCID: 0000-0004-8667-0837.

Authors information

Levochkina Elvira D. – Post-Graduate Student, Department of Physiology and Pathology, Faculty of Medicine and Biology, North Caucasus Federal University, Biologist, Pathoanatomical Department, Stavropol Regional Clinical Oncological Dispensary, Stavropol State Medical Institution, Stavropol, Russia, e-mail: Minaeva-Elvira1990@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1996-0920.

Belyaev Nikolay G. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Physiology and Pathology, Faculty of Medicine and Biology, North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia, e-mail: belyaev_nikolay@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1751-1053.

Knyazeva Elena A. – Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Stavropol Regional Clinical Consulting and Diagnostic Center, Stavropol, Russia, e-mail: Knyazeva_kea@mail.ru, ORCID: 0000-0004-8667-0837

УДК 616-035.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-38-42

А. В. БИРЮКОВ¹, Д. У. МАЛАЕВ², Е. И. КРЕТОВ³

3-месячный анализ неоинтимального слоя у стентов с различным профилем при стабильной ишемической болезни сердца

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 Медицинская клиника международной высшей школы медицины «Веданта», Бишкек, Кыргызстан
720080, Кыргызстан, Бишкек, ул. Фучика, 34

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Центральная клиническая больница», г. Новосибирск, Россия
630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 25
E-mail: m.l.m@bk.ru

Статья поступила в редакцию 12.01.24 г.; принята к печати 27.05.24 г.

Резюме

Введение. На сегодняшний день в мире широко используются ряд стентов, отличающиеся по материалу, дизайну, составу лекарственного препарата и по содержанию полимерного покрытия. **Целью** нашего исследования является изучение процессов неоэндоthелизации по данным оптической когерентной томографии у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после имплантации различных платформ стентов. **Материалы и методы.** Данное исследование является ретроспективным анализом данных результатов стентирования у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. В исследование было включено 69 пациентов, которые были разделены на 3 группы по типу имплантированного стента: 1-я группа – эверолимуc-покрытый стент с постоянным полимером (ЭПС-ПП) (n=25), 2-я группа – эверолимуc-покрытый стент с биодеградируемым полимером (ЭПС-БП) (n=25) и 3-я группа – сиролимуc-покрытый стент с биодеградируемым полимером (СПС-БП) (n=19). Первичной конечной точкой исследования был показатель неоинтимального заживления Neointimal Healing Score (NHS) через 3 месяца после имплантации стента. Вторичная конечная точка включала процент покрытых страт через 3 месяца после стентирования. **Результаты.** Процент покрытых страт в группах не имела статистически значимой разницы и составил порядка 84,2 %. Так как длина имплантируемых стентов была чуть выше в группе СПС-БП, то и разница в количестве изученных страт была выше в 3-ей группе: 331 против 175 во 2-ой группе и 175 в 1-ой группе (1–2: p=0,969; 2–3: p<0,001; 1–3: p<0,001). Первичная конечная точка исследования была достоверно ниже в группе СПС-БП (18±14,97 против 32,5±20,3 в группе ЭПС-БП и 25,6±12,3 в группе ЭПС-ПП), однако NHS в группах ЭПС-БП и ЭПС-ПП не имел статистической разницы. **Заключение.** Сиролимуc-покрытый стент с биодеградируемым полимером обладает лучшим показателем неоинтимального заживления в течение первых трех месяцев по сравнению с эверолимуc-покрытым стентом с биодеградируемым полимером и эверолимуc-покрытым стентом с постоянным полимером у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. Процент покрытых страт в группах не имеет достоверной разницы. Необходимо проведение дальнейших проспективных рандомизированных исследований с большими выборками для подтверждения полученных данных.

Ключевые слова: коронарное стентирование, стенты с лекарственным покрытием, неоинтимальный слой, неоинтима

Для цитирования: Бирюков А. В., Малаев Д. У., Кретов Е. И. 3-месячный анализ неоинтимального слоя у стентов с различным профилем при стабильной ишемической болезни сердца. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):38–42. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-38-42.

UDC 616-035.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-38-42

A. V. BIRYUKOV¹, D. U. MALAEV², E. I. KRETOV³

3-month analysis of neointimal coverage with different profiles stents in stable ischemic heart disease

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russia, 197022

² Medical Clinic «Vedanta», International Higher School of Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan
34, Fuchika str., Bishkek, Kyrgyzstan, 720080

³ Central Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia
25, Pirogova str., Novosibirsk, Russia, 630090

E-mail: m.l.m@bk.ru

Received 12.01.24; accepted 27.05.24

Summary

Introduction. Today, a number of stents are widely used in the world, differing in material, design, drug composition and the content of the polymer coating. **The aim** of our study is to investigate the processes of neoendothelialization according to optical coherence tomography data in patients with stable coronary heart disease after implantation of various stent platforms.

Materials and Methods. This study is a retrospective data analysis of stenting results in patients with stable ischemic heart disease. A total of 69 patients were included in the study. Patients were divided into 3 groups by the type of stent implanted: group 1 everolimus-eluting permanent polymer stent (EES-PP) (n=25), group 2 everolimus-eluting bioabsorbable polymer stent (EES-BP) (n=25) and group 3 sirolimus-eluting bioabsorbable polymer stent (SES-BP) (n=19). The primary endpoint of the study was the Neointimal Healing Score (NHS) 3 months after stent implantation. The secondary endpoint included the percentage of struts covered 3 months after stenting. **Results.** The percentage of covered strata in the groups did not have a statistically significant difference between the groups and was about 84.2%. Since the length of the implanted stents was slightly higher in the SES-BP group, the difference in the number of strata studied was higher in group 3: 331 versus 175 in group 2 and 175 in group 1 (1–2: p=0.969; 2–3: p<0.001; 1–3: p<0.001). The primary endpoint of the study was significantly lower in the SES-BP group (18±14.97 vs 32.5±20.3 in the EES-BP group and 25.6±12.3 in the EES-PP group), but the NHS in the EES-BP and EES-PP groups was not statistically different. **Conclusion.** The sirolimus-eluting bioabsorbable polymer (SES-BP) stent has a better neointimal healing rate during the first three months compared to the everolimus-eluting bioabsorbable (EES-BP) polymer stent and the permanent polymer everolimus-eluting (EES-PP) stent in patients with stable ischemic heart disease. The percentage of covered strata in the groups does not differ significantly. Further prospective randomized studies with larger samples are needed to confirm the findings.

Keywords: coronary stenting, drug-eluting stents, neointimal layer, neointima

For citation: Biryukov A. V., Malaev D. U., Kretov E. I. 3-month analysis of neointimal coverage with different profiles stents in stable ischemic heart disease. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):38–42. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-38-42.

Введение

Ишемическая болезнь сердца является лидирующей патологией по заболеваемости и смертности во всем мире [1]. У пациентов с выраженной стенокардией и наличием стенозов либо окклюзии коронарных артерий, чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика (ЧТКА) с имплантацией стентов с лекарственным покрытием стала одним из «золотых стандартов» современной терапии.

Коронарные стенты существенно улучшились, с момента первого их использования в 1980-х годах [2], благодаря непрерывной работе по совершенствованию их конструкции, структуры и материалов [3]. Появление современных стентов в сочетании с оптимальным медикаментозным лечением привело к значительному повышению эффективности и безопасности чрескожных коронарных вмешательств. На сегодняшний день в РФ широко используются ряд стентов, отличающиеся по материалу, дизайну, составу лекарственного препарата и по содержанию полимерного покрытия. Несмотря на то, что тромбоз стента встречается редко, он остается важной проблемой из-за его последствий, включая инфаркт миокарда и смерть. Ранний тромбоз стента не зависит от типа стента и в основном связан с процедурными осложнениями, включая краевую диссекцию и недораскрытый стент. Отдаленные результаты стентирования напрямую зависят от процессов эндотелизации стента. Выделяют несколько факторов, которые напрямую влияют на неэндотелизацию после имплантации стентов. Более толстые страты, антипролиферативный препарат, не совместимый постоянный полимер, сахарный диабет и естественное прогрессирование атеросклероза связаны с запоздалым заживлением, в то время как тонкие страты, улучшенная технология покрытия стента, биорезорбируемый и биосовместимый полимер способствует ранней эндотелизации стентов [4–6].

Целью нашего исследования является изучение процессов неэндотелизации по данным оптической когерентной томографии (ОКТ) у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца после 3 месяцев имплантации стентов с различными платформами.

Материалы и методы исследования

Данное исследование является ретроспективным анализом данных результатов стентирования у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС). В основу был взят анализ профиля неинтимального заживления по данным оптической когерентной томографии (ОКТ) спустя 3 месяца от момента имплантации стента. Устройствами исследования были современные широко используемые в РФ стенты, с различными профилями: сиролимус-покрытый стент с биodeградируемым полимером (СПС-БП), эверолимус-покрытый стент с биodeградируемым полимером (ЭПС-БП) и эверолимус-покрытый стент с постоянным полимером (ЭПС-ПП).

Процедура стентирования была стандартной и не имела никаких особенностей. Выполнение пре- и постдилатации было на усмотрение оперирующего хирурга. Во время процедуры стентирования, ОКТ анализ поражения не проводился. Все пациенты получали стандартную медикаментозную терапию до и после стентирования. Спустя 3 месяца с момента операции всем пациентам проводилась контрольная коронарография и ОКТ-исследование.

Первичной конечной точкой исследования был показатель неинтимального заживления Neointimal Healing Score (NHS) через 3 месяца после имплантации стента. Данный показатель неинтимального заживления (NHS) – рассчитывается по следующей формуле:

$$NHS = (\%ИДН \times 4) + (\%МНС \times 3) + (\%НС \times 2) + (\%МС \times 1),$$

где ИДН – страты с интралюминальным дефектом наполнения, МНС – количество мальапозированных непокрытых страт, НС – количество непокрытых страт, МС – количество мальапозированных страт [7]. NHS предназначена для оценки морфологических характеристик после имплантации стентов, которые напрямую коррелируют с клиническими результатами стентирования, включая предрасположенность к тромбозу стента.

Вторичная конечная точка включала процент покрытых страт через 3 месяца после стентирования. Критерии включения пациентов в исследования были следующие: 1) пациенты, кому был имплантирован

Клинико-демографические данные

Table 1

Clinical and demographic data

Переменная	Группа 1 ЭПС-ПП, N=25	Группа 2 ЭПС-БП, N=25	Группа 3 СПС-БП, N=19	Сравнение групп	
	СРЕД±СО, n, % [95 % ДИ]			Разница [95 % ДИ]	р-уровень
Возраст	60,12±7,33	63,08±7,33	60,3±12,45	1-2: 4 [-1; 7] 2-3: 3,0 [-2,7; 8,5] 1-3: 0,2 [-5,8; 4,8]	1-2: 0,125 2-3: 0,331 1-3: 0,943
Мужской пол	22, 88 %	21, 84 %	13, 68 %	1-2: 0,7 [0,1; 4,8] 2-3: 0,4 [0,1; 2,2] 1-3: 0,3 [0; 1,7]	1-2: >0,999 2-3: 0,287 1-3: 0,144
Сахарный диабет	6, 24 %	2, 8 %	6, 32 %	1-2: 0,3 [0; 1,8] 2-3: 5,1 [0,8; 58,8] 1-3: 1,4 [0,3; 6,8]	1-2: 0,247 2-3: 0,060 1-3: 0,735
Дислипидемия	17, 68 %	11, 44 %	13, 68 %	1-2: 0,4 [0,1; 1,3] 2-3: 2,7 [0,7; 11,8] 1-3: 1 [0,2; 4,5]	1-2: 0,154 2-3: 0,135 1-3: >0,999
Постинфарктный кардиосклероз	13, 52 %	11, 44 %	6, 32 %	1-2: 0,7 [0,2; 2,5] 2-3: 0,6 [0,1; 2,4] 1-3: 0,4 [0,1; 1,7]	1-2: 0,778 2-3: 0,535 1-3: 0,227
Чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика в анамнезе	12, 48 %	15, 60 %	12, 63 %	1-2: 1,6 [0,5; 5,8] 2-3: 1,1 [0,3; 4,7] 1-3: 1,8 [0,5; 7,5]	1-2: 0,571 2-3: >0,999 1-3: 0,372
Гипертензия	21, 84 %	24, 96 %	16, 84 %	1-2: 4,4 [0,4; 23,4] 2-3: 0,2 [0; 3,2] 1-3: 1 [0,1; 7,9]	1-2: 0,349 2-3: 0,300 1-3: >0,999
Фракция выброса	62,04±7,95	56,8±15,56	56±15,57	1-2: -3 [-13; 3] 2-3: -1,1 [-10,1; 9,6] 1-3: 4,1 [-3,1; 11,6]	1-2: 0,264 2-3: 0,789 1-3: 0,245

один из наших изучаемых стентов; 2) первичный стеноз с диаметром артерии 2,5–4,0 мм и диаметром стеноза более 50 %; 3) проведение ОКТ-исследования через 3 месяца от операции; 4) пациенты со стабильной стенокардией напряжения. Критерии исключения: острый инфаркт миокарда.

Статистический анализ. Количественные данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения либо медианы и 25–75 %-го перцентилей, качественные – в виде абсолютных и относительных (%) значений. Межгрупповые сравнения количественных переменных выполняли с помощью теста Стьюдента для несвязанных выборок или теста Манна-Уитни. Бинарные качественные признаки сравнивали с применением точного теста Фишера. Статистическая значимость устанавливалась при вероятности ошибки первого типа менее 5 %. Все расчеты выполняли с применением программного статистического пакета IBM SPSS Statistics (версия 23).

Результаты исследования и их обсуждение

В исследование было включено 69 пациентов со стабильной ИБС. Пациенты были разделены на 3 группы по типу имплантированного стента: 1-я группа – пациенты, которым устанавливали эверолимус, покрытый стент с постоянным полимером (n=25); 2-я группа – пациенты, которым ставили

эверолимус, покрытый стент с биodeградируемым полимером (n=25); 3-я группа – пациенты, которым имплантировали сиролимус, покрытый стент с биodeградируемым полимером (n=19) (табл. 1).

Всего, по данным ОКТ, было проанализировано 14 366 страт, через 3 месяца после операции. В среднем на одно поражение было 208 анализируемых страт.

По основным клинико-демографическим параметрам пациенты в группах не отличались.

Средний возраст наблюдаемых пациентов составил 61 год, преобладали пациенты мужского пола. Пациентов с сахарным диабетом было чуть меньше во второй группе, но без статистической достоверности. Около половины пациентов были ранее стентированы, однако, чтобы не было ошибок при анализе страт, исследуемые стенты были имплантированы в другие сегменты и не имели контакт с предыдущими стентами. Фракция выброса у большинства была сохранена, без статистически достоверной разницы в группах.

Пациентам в 3-й группе были имплантированы стенты меньшего диаметра, чем у пациентов 1-й и 2-й группы, однако по длине изучаемых стентов не было достоверной разницы в группах (табл. 2).

Толщина неоинтимального слоя была достоверно ниже в 3-й группе по сравнению со 2-й группой (0,11±0,11 во 2-й группе против 0,06±0,02 в 3-й группе, p=0,017), но без достоверного различия с 1-й группой

Таблица 2

Параметры имплантируемых стентов

Table 2

Parameters of the implanted stents

Длина стента	18,92±7,45	18,16±7,21	27,2±15,12	1-2: -1 [-5; 3] 2-3: -5,1 [-12,7; 2,2] 1-3: -3,7 [-11,8; 3,1]	1-2: 0,726 2-3: 0,184 1-3: 0,286
Диаметр стента	3,9±0,2	3,94±0,17	3,2±0,44	1-2: 0 [0; 0] 2-3: 0,7 [0,5; 0,9] 1-3: 0,7 [0,5; 0,9]	1-2: 0,531 2-3: <0,001* 1-3: <0,001*

Таблица 3

Данные анализа оптической когерентной томографии через 3 месяца

Table 3

Optical coherence tomography analysis data after 3 months

Переменная	Группа 1 ЭПС-ПП, N=25	Группа 2 ЭПС-БП, N=25	Группа 3 СПС-БП, N=19	Сравнение групп	
	СРЕД±СО, n, % [95 % ДИ]			Разница [95 % ДИ]	р-уровень
Площадь просвета сосуда	12,4±2,2	12,8±3,5	8,19±2,24	1-2: 0,5 [-1,9; 2,2] 2-3: -4,39 [-6,54; -2,65] 1-3: -4,57 [-5,64; -3,22]	1-2: 0,756 2-3: <0,001* 1-3: <0,001*
Средний диаметр просвета	3,9±0,4	4,01±0,5	3,18±0,44	1-2: 0,1 [-0,1; 0,4] 2-3: -0,84 [-1,11; -0,58] 1-3: -0,69 [-0,94; -0,48]	1-2: 0,336 2-3: <0,001* 1-3: <0,001*
Минимальный диаметр просвета	2,9±0,5	2,8±0,69	2,92±0,4	1-2: -0,2 [-0,5; 0,1] 2-3: 0,22 [-0,08; 0,47] 1-3: 0,02 [-0,24; 0,27]	1-2: 0,239 2-3: 0,106 1-3: 0,950
Максимальный диаметр просвета	4,9±0,5	5,21±0,92	3,48±0,49	1-2: 0,3 [-0,1; 0,8] 2-3: -1,77 [-2,19; -1,29] 1-3: -1,42 [-1,72; -1,13]	1-2: 0,180 2-3: <0,001* 1-3: <0,001*
Толщина неоинтимы	0,1±0,07	0,11±0,11	0,06±0,02	1-2: 0 [-0,05; 0,04] 2-3: -0,01 [-0,03; 0] 1-3: -0,03 [-0,08; 0,01]	1-2: 0,907 2-3: 0,017* 1-3: 0,123
Процент покрытия страт	86,12±11,84	80,6±14,16	86±8,90	1-2: -6 [-13; 2] 2-3: -6 [-15; 2,6] 1-3: 0 [-7,85; 6,13]	1-2: 0,122 2-3: 0,129 1-3: >0,999
NHS	25,6±12,3	32,5±20,3	18±14,97	1-2: 4,23 [-5,5; 14,87] 2-3: -10 [-19,2; -1,1] 1-3: -7 [-18,3; 0]	1-2: 0,325 2-3: <0,001* 1-3: <0,001*
Фракция выброса	62,04±7,95	56,8±15,56	56±15,57	1-2: -3 [-13; 3] 2-3: -1,1 [-10,1; 9,6] 1-3: 4,1 [-3,1; 11,6]	1-2: 0,264 2-3: 0,789 1-3: 0,245

($p=0,123$). Процент покрытых страт в группах не имел статистически значимой разницы в группах и составил порядка 84,2%. Так как длина имплантируемых стентов была чуть выше в группе СПС-БП, то и разница в количестве изученных страт была выше в 3-й группе: 331 против 175 во 2-й группе и 175 в 1-й группе (1-2: $p=0,969$; 2-3: $p<0,001$; 1-3: $p<0,001$) (табл. 3).

Первичная конечная точка исследования (NHS) была достоверно ниже в группе СПС-БП: 18±14,97 против 32,5±20,3 в группе ЭПС-БП и 25,6±12,3 в группе ЭПС-ПП, однако NHS в группах ЭПС-БП и ЭПС-ПП не имел статистической разницы.

Несмотря на то, что стенты с лекарственным покрытием (СЛП) заметно снизили частоту рестеноза, длительная персистенция инородного тела в

коронарной артерии и продолжительное действие лекарственного покрытия замедляют процессы неоэндоthелизации. Патологоанатомические наблюдения показывают, что в результате замедленной неоэндоthелизации непокрытые страты могут оставаться в течение многих лет после имплантации стентов [8]. Считается, что непрерывное присутствие непокрытых страт и полимерного материала является важным фактором позднего рестеноза и тромбоза стента [9]. Эндотелизация также важна для отмены двойной дезагрегантной терапии, а особенно у пациентов с высоким риском кровотечения.

В нашем исследовании через 3 месяца после стентирования мы получили статистически значимое преимущество по первичной конечной точке (NHS)

в группе СПС-БП, чем в группах ЭПС-БП и ЭПС-ПП. Одним из вероятных факторов, помимо профиля самого стента, может быть значимая разница в диаметре изучаемых стентов, так как в группе СПС-БП диаметр был статистически значимо меньше, чем в группах ЭПС-БП и ЭПС-ПП. Подтверждение этому можно найти в исследованиях Nakatani [10] и Ishigami [11], где они показали взаимосвязь между образованием неоинтимального покрытия и диаметром имплантируемых стентов. Эти исследования предполагают, что распределение лекарственного вещества играет важную роль. Концентрация препарата на единицу площади может быть выше при имплантации стентов меньшего диаметра. Также немаловажную роль играет то, как проводилось стентирование, делалось ли пре- и постдилатация, как определялись диаметры пораженных сегментов и т. д. В нашем исследовании мы не акцентировали внимание на этом, что, конечно же, является ограничением исследования.

Процент покрытых страт в группах не различался и составил в среднем 84 %, что примерно коррелирует с данными других исследований [3].

Заключение

Сиролимус-покрытый стент с биodeградируемым полимером обладает лучшим показателем неоинтимального заживления в течение первых трех месяцев по сравнению с эверолимус-покрытым стентом с биodeградируемым полимером и эверолимус-покрытым стентом с постоянным полимером у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. Процент покрытых страт в группах СПС-БП, ЭПС-БП и ЭПС-ПП не имеет достоверной разницы. Необходимо проведение дальнейших проспективных рандомизированных исследований с большими выборками для подтверждения полученных данных.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Roth GA, Johnson C, Abajobir A, Abd-Allah F, Abera SF, Abyu G, Ahmed M et al. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(1):1-25. Doi: 10.1016/j.jacc.2017.04.052.
2. Ulrich S. The first clinically used coronary stent was initiated and developed in Lausanne. *Cardiovasc Med*. 2019;22(1).
3. Parker W, Iqbal J. Comparison of Contemporary Drug-eluting Coronary Stents - Is Any Stent Better than the Others? *Heart Int*. 2020;14(1):34-42. Doi: 10.17925/HI.2020.14.1.34.
4. Suzuki S, Nakatani S, Sotomi Y, Shiojima I, Sakata Y, Higuchi Y. Fate of Different Types of Intrastent Tissue Protrusion: Optical Coherence Tomography and Angioscopic Serial Observations at Baseline and 9-Day and 3-Month Follow-Up. *JACC Cardiovasc Interv*. 2018;11(1):95-97. Doi: 10.1016/j.jcin.2017.10.012.
5. Hamanaka Y, Sotomi Y, Kobayashi T, Omatsu T, Dijkstra J, Sakata Y, Hirayama A, Hirata A, Higuchi Y. Comparable neointimal healing in patients with stable coronary lesions and acute coronary syndrome: 3-month optical coherence tomography analysis. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2021;37(7):2095-2105. Doi: 10.1007/s10554-021-02189-0.
6. Varho V, Kiviniemi TO, Nammass W, Sia J, Romppanen H, Pietilä M, Airaksinen JK, Mikkelsen J, Tuomainen P, Perälä A,

Karjalainen PP. Early vascular healing after titanium-nitride-oxide-coated stent versus platinum-chromium everolimus-eluting stent implantation in patients with acute coronary syndrome. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2016;32(7):1031-1039. Doi: 10.1007/s10554-016-0871-7.

7. Malle C, Tada T, Steigerwald K, Ughi GJ, Schuster T, Nakano M, Massberg S, Jehle J, Guagliumi G, Kastrati A, Virmani R, Byrne RA, Joner M. Tissue characterization after drug-eluting stent implantation using optical coherence tomography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(6):1376-1383. Doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301227.

8. Lüscher TF, Steffel J, Eberli FR, Joner M, Nakazawa G, Tanner FC, Virmani R. Drug-eluting stent and coronary thrombosis: biological mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2007;115(8):1051-1058. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.675934.

9. Taniwaki M, Radu MD, Zaugg S, Amabile N, Garcia-Garcia HM, Yamaji K, Jørgensen E, Kelbæk H, Pilgrim T, Caussin C, Zanchin T, Veugeois A, Abildgaard U, Juni P, Cook S, Koskinas KC, Windecker S, Räber L. Mechanisms of Very Late Drug-Eluting Stent Thrombosis Assessed by Optical Coherence Tomography. *Circulation*. 2016;133(7):650-660. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019071.

10. Nakatani S, Nishino M, Taniike M, Makino N, Kato H, Egami Y, Shutta R, Tanouchi J, Yamada Y. Initial findings of impact of strut width on stent coverage and apposition of sirolimus-eluting stents assessed by optical coherence tomography. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013;81(5):776-781. Doi: 10.1002/ccd.24401.

11. Ishigami K, Uemura S, Morikawa Y, Soeda T, Okayama S, Nishida T, Takemoto Y, Onoue K, Somekawa S, Takeda Y, Kawata H, Horii M, Saito Y. Long-term follow-up of neointimal coverage of sirolimus-eluting stents--evaluation with optical coherence tomography. *Circ J*. 2009;73(12):2300-2307. Doi: 10.1253/circj.cj-08-1116.

Информация об авторах

Бирюков Алексей Владимирович – канд. мед. наук, зав. отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения № 1 научно-исследовательского института хирургии и неотложной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: m.l.m@bk.ru, ORCID: 0000-0003-2872-5663.

Малаев Дастан Урматович – канд. мед. наук, врач по рентгенэндоваскулярной диагностике и лечению, клиника «Веданта», г. Бишкек, Кыргызстан, e-mail: dastan.kgma@gmail.com, ORCID: 0000-0001-6032-788X.

Кретов Евгений Иванович – д-р мед. наук, главный внештатный специалист рентгенэндоваскулярной диагностики и лечения МЗ Новосибирской области, врач рентгенэндоваскулярной диагностики и лечения РЦЛ «Центральная клиническая больница» МЗ Новосибирской области, г. Новосибирск, Россия, e-mail: sibvolna2005@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-9818-8678.

Authors information

Biryukov Aleksei V. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Head, Department of Radiosurgical Methods of Diagnosis and Treatment № 1, Research Institute of Surgery and Emergency Medicine, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: m.l.m@bk.ru, ORCID: 0000-0003-2872-5663.

Malaev Dastan U. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Physician in X-ray Endovascular Diagnostic and Treatment, Vedanta Clinics, Bishkek, Kyrgyzstan, e-mail: dastan.kgma@gmail.com, ORCID: 0000-0001-6032-788X.

Kretov Evgenii I. – M. D., Chief Non-Staff Specialist of X-ray Endovascular Diagnostics and Treatment, Ministry of Health of the Novosibirsk Region; Doctor of X-ray Endovascular Diagnostics and Treatment, Central Clinic Hospital, Novosibirsk, Russia, e-mail: sibvolna2005@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-9818-8678.

УДК 613.84-616.24-073.173-053.81
DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-43-49

Я. А. ПУШКИНА, И. В. СЫЧЕВ, Н. П. СЕРГУТОВА,
Л. Н. ГОНЧАРОВА

Влияние курения кальяна на жесткость сосудистой стенки у лиц молодого возраста по данным объемной сфигмографии

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саранск, Россия
430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68
E-mail: frolkina1992yana@mail.ru

Статья поступила в редакцию 23.05.24 г.; принята к печати 05.08.24 г.

Резюме

В настоящее время, особенно среди молодежи, стало популярно использование табака посредством курения кальяна. Поэтому целью исследования явилось изучение влияния курения кальяна на параметры жесткости сосудистой стенки, определенные методом объемной сфигмографии, у лиц молодого возраста (19–25 лет) без сердечно-сосудистой патологии. *Материалы и методы.* В основную группу вошло 60 студентов, использующих кальян более 1 года, не менее 2 раз в неделю. В контрольную группу вошли 57 студентов, не использовавших никакие виды никотинсодержащих веществ. Группы были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела, уровню артериального давления и частоте сердечных сокращений. В обеих группах проведена оценка жесткости сосудистой стенки методом объемной сфигмографии. *Результаты.* Несмотря на то, что среднее значение индекса САVI находилось в пределах нормы, у 20 % (n=12) студентов основной группы данный индекс превышал возрастные критерии, составляя $7,5 \pm 0,3$ м/с. Корреляционный анализ показал взаимосвязь индекса САVI со стажем курения кальяна ($r=0,46$, $p<0,01$). Повторное исследование было проведено через 3 года у 29,9 % (n=38) студентов. Среди них 42,1 % (n=16) бросили курение кальяна, а 57,9 % (n=22) продолжали использовать кальян. У студентов, которые прекратили курение кальяна, показатели PWV и САVI достоверно пришли в норму в отличие от показателей студентов, которые продолжали курить кальян. *Заключение.* Курение кальяна увеличивает жесткость сосудистой стенки у лиц молодого возраста (19–25 лет) без сердечно-сосудистой патологии.

Ключевые слова: кальян, лица молодого возраста, объемная сфигмография, жесткость сосудистой стенки

Для цитирования: Пушкина Я. А., Сычев И. В., Сергутова Н. П., Гончарова Л. Н. Влияние курения кальяна на жесткость сосудистой стенки у лиц молодого возраста по данным объемной сфигмографии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):43–49. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-43-49.

UDC 613.84-616.24-073.173-053.81
DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-43-49

Ya. A. PUSHKINA, I. V. SYCHEV, N. P. SERGUTOVA,
L. N. GONCHAROVA

Effect of hookah smoking on vascular wall stiffness in young people according to volumetric sphygmography

Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia
68, Bol'shevistskaya str., Saransk, Russia, 430005
E-mail: frolkina1992yana@mail.ru

Received 23.05.24; accepted 05.08.24

Summary

Nowadays, the use of tobacco through hookah smoking has become popular, especially among young people. Therefore, the aim of the study was to investigate the effect of hookah smoking on the parameters of vascular wall stiffness determined by volumetric sphygmography in young people (19–25 years old) without cardiovascular pathology. *Materials and Methods.* The main group included 60 students who have been using hookah for more than 1 year, at least 2 times a week. The control group included 57 students who did not use any type of nicotine-containing substances. The groups were comparable in age, body mass index, blood pressure and heart rate. In both groups, vascular wall stiffness was assessed by volumetric sphygmography. *Results.* Although the average value of the CAVI index was within the normal range in 20% (n=12) of the students of the main group, this index exceeded the age criteria and amounted to 7.5 ± 0.3 m/s. Correlation analysis showed the relationship between the CAVI index and hookah smoking experience ($r=0.46$, $p<0.01$). A follow-up study was conducted 3 years later on 29.9% (n=38) of the students. Among them, 42.1% (n=16) quit hookah smoking, and 57.9% (n=22) continued to use hookah. The PWV and SAVI indicators significantly returned to normal in students who stopped smoking hookah, in contrast to the indicators of the students who continued to smoke hookah. *Conclusion.* Hookah smoking increases vascular wall stiffness in young people (19–25 years old) without cardiovascular pathology.

Keywords: hookah, young people, volumetric sphygmography, vascular wall stiffness

For citation: Pushkina Ya. A., Sychev I. V., Sergutova N. P., Goncharova L. N. Effect of hookah smoking on vascular wall stiffness in young people according to volumetric sphygmography. Regional hemodynamics and microcirculation. 2024;23(3):43–49. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-43-49.

Введение

Несмотря на тенденцию снижения распространения потребления курительного табака и связанной с табакокурением заболеваемости, в настоящее время курение остается актуальной проблемой здравоохранения во всем мире [1]. По результатам проведенных зарубежных и отечественных исследований, за последние годы в нашем обществе стало популярным курение кальяна, которое считают приятным расслабляющим времяпровождением, менее вредным для здоровья, чем использование сигарет [2, 3]. Предположение о безопасности использования кальяна, базирующееся на утверждении, что дым «фильтруется» водой, неверно.

Один сеанс непрерывного курения кальяна в среднем длится от 30 до 90 минут [4]. Этот длительный период времени приводит к образованию большого объема дыма, который содержит в 80 раз больше токсичных веществ, чем содержится в дыме одной сигареты, и переносится через воду в пузырьках. Поэтому это может быть так же вредно для организма, как курение сигарет, которое является хорошо изученным.

Проведенный сравнительный метаанализ в 2023 г. между курильщиками кальяна и сигарет не выявил изменений по частоте сердечных сокращений (ЧСС) и систолического артериального давления (САД) во время курения [5].

Но в настоящее время еще остается недостаточно изученным влияние курения кальяна на сердечно-сосудистую систему.

Впервые в исследовании M. Rezk-Hanna et al. (2018) было отмечено, что курение кальяна у лиц в возрасте от 18 до 34 лет сопровождается увеличением ЧСС на $+16 \pm 1$ ударов в минуту, артериального давления (АД) на плечевой артерии на $+6 \pm 1$ мм рт. ст., скорости пульсовой волны (PWV) и индекса аугментации аорты на $+0,66 \pm 0,09$ м/с⁻¹ и $+8,76 \pm 3,99$ % соответственно, что указывает на повышенную жесткость артерий [6]. Стоит отметить, что показатель жесткости сосудистой стенки является маркером поражения сосудов и независимым предиктором развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [7]. В настоящее время наиболее доступным и значимым неинвазивным методом оценки жесткости сосудистой стенки в клинической практике является объемная сфигмография [8].

Учитывая, что в зарубежной и отечественной литературе представлены единичные исследования по воздействию курения кальяна на структурно-функциональные изменения сосудистой стенки у здоровых лиц молодого возраста, возникает необходимость проведения дальнейших исследований, чтобы определить, ускоряет ли привычное курение кальяна развитие ремоделирования сосудов.

Поэтому **целью** настоящего исследования явилось изучение влияния курения кальяна на параметры жесткости сосудистой стенки, определенные методом объемной сфигмографии, у лиц молодого возраста (19–25 лет) без сердечно-сосудистой патологии.

Материалы и методы исследования

Исследование соответствует Правилам надлежащей клинической практики в Российской Федерации

и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, а также одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва» (протокол № 71 от 29.01.2019 г.). Все обследуемые до начала исследования дали письменное добровольное информированное согласие на участие.

В общеклиническое обследование входил анонимный опрос по разработанной на кафедре факультетской терапии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва» анкете, который включал текущее курение, вид курения (сигареты, вейп, кальян), стаж курения, интенсивность курения (количество сигарет или раз курения вейпа).

Критериями исключения являлись: курение сигарет или никотинсодержащих вейпов, клинические проявления любого острого или хронического заболевания, послеоперационный период, беременность, отягощенная наследственность по ССЗ.

В анкетировании приняли участие 240 студентов, обучающихся в гуманитарном вузе с 3-го по 6-й курс в возрасте от 20 до 25 лет. Среди участников были представители разных национальностей, включая представителей славянского населения (90,66 %) и студентов из стран ближнего востока (9,34 %), которые сообщили о самой высокой распространенности употребления кальяна в настоящее время (85 %).

Информацию о курении разных видов никотинсодержащих веществ предоставили 53 % (n=127) опрошенных студентов, среди которых 47,2 % (n=60) признались в постоянном использовании кальяна более одного года, не менее двух раз в неделю – они составили основную группу. Девушки сообщили о том, что в настоящее время чаще, чем юноши, используют кальян (55,6 % девушек против 44,4 % юношей). Продолжительность использования кальяна данными студентами – от 1 года до 6 лет, что в среднем составило $2,6 \pm 1,2$ года. В зависимости от стажа использования кальяна студенты были разделены на подгруппы: 1-я подгруппа – до 3 лет (n=43) и 2-я подгруппа – более 3 лет (n=17).

В контрольную группу вошло 57 студентов, которые отрицали использование в своей жизни разного вида никотинсодержащих веществ.

Группы были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), уровню АД и ЧСС. Сравнительная характеристика исследуемых групп представлена в табл. 1.

Гемодинамические параметры, включающие параметры АД и ЧСС, не выходили за пределы нормальных значений в обеих группах.

Все студенты прошли дополнительное обследование, включающее: электрокардиограмму (*Med-Mos ECG300G*, Китай), эхокардиографию (*Vivid S 70*, США), ультразвуковое дуплексное сканирование сонных сосудов (*Vivid S 70*, США), общий анализ мочи с исследованием отношения альбумин/креатинин (*iChem Velocity, Beckman Coulter*, США), биохимический анализ крови, включающий показатели липидного спектра (холестерин, триглицериды, липопротеины низкой плотности и высокой плотности), гормоны щитовидной железы (тиреотропный гормон, тироксин, трийодтиронин),

Сравнительная характеристика исследуемых групп, M±SD

Table 1

Comparative characteristics of the studied groups, M±SD

Показатель	1-я группа (n=60)	2-я группа (n=57)	p
Возраст, годы	22,6±2,1	22,2±1,8	0,284
ИМТ, кг/м ²	22,1±3,8	23,3±3,8	0,124
САД, мм рт. ст.	126,8±13,5	124,0±14,7	0,713
ДАД, мм рт. ст.	78,0±8,7	74,8±11,6	0,106
ЧСС, уд./мин	72,0±11,5	70,7±12,7	0,593

Таблица 2

Параметры объемной сфигмографии в группах, M±SD

Table 2

Parameters of volumetric sphygmography in groups, M±SD

Показатель	1-я группа (n=60)	2-я группа (n=57)	p
R-ABI	1,0±0,1	1,1±0,1	0,106
L-ABI	1,0±0,1	1,0±0,1	0,356
PWV, м/с	7,0±2,8	4,7±1,0	0,001
R-CAVI	6,3±0,9	5,8±0,5	0,001
L-CAVI	6,2±0,8	5,8±0,5	0,004
hf CAVI	5,3±0,7	5,0±0,6	0,018

исследование уровня креатинина в сыворотке крови (*Architect c8000, Abbott, США*) и расчет скорости клубочковой фильтрации в мл/мин/1,73 м² по формуле Chronic Kidney Disease Epidemiology.

Определение жесткости сосудистой стенки было выполнено методом объемной сфигмографии на аппарате VaSera VS-1500 (*Fukuda Denshi, Япония*), где оценивался лодыжечно-плечевой индекс (ABI), PWV и сердечно-лодыжечный сосудистый индекс (CAVI).

ABI – это показатель, отражающий состояние кровотока в нижних конечностях. R-ABI = отношение САД на правой голени к среднему АД на плечах; L-ABI = отношение САД на левой голени к среднему АД на плечах.

PWV: скорость распространения пульсовой волны аорты, измеренная с помощью регистрации пульсации на бедренной и сонной артериях и фонокардиограммы.

R-CAVI измеряется с помощью записи фонокардиограммы (II тона) и плетизмограмм, регистрируемых на правом плече и правой лодыжке, L-CAVI – на левом плече и левой лодыжке; hfCAVI – путем регистрации пульсовых волн на правой плечевой и бедренной артериях.

За 30 минут до проведения исследования исключалась физическая нагрузка, курение и прием кофеинсодержащих напитков. Методика проведения соответствовала приложенному руководству.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программы Statistica 10.0 (*StatSoft, США*). При проверке нормальности распределения

количественных данных был использован критерий Колмогорова–Смирнова с учетом показателей эксцесса и симметричности. Полученные количественные показатели, имеющие нормальное распределение, объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывался t-критерий Стьюдента. Для выявления связи между отдельными показателями применяли метод корреляционного анализа Пирсона. Уровень статистической значимости различий расценивался при p<0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Учитывая наличие или отсутствие использования кальяна при сопоставимых значениях гемодинамики в вариантах нормы все студенты основной и контрольных групп прошли обследование методом объемной сфигмографии, результаты статистической обработки представлены в табл. 2.

Анализируя полученные данные объемной сфигмографии, обращает на себя внимание, что показатель PWV у студентов с использованием кальяна имеет не только более высокие значения, чем у студентов контрольной группы, но и достоверно превышает возрастную параметр нормы.

Относительно показателя CAVI необходимо отметить, что выявленное преобладание значений данного

Таблица 3

Параметры объемной сфигмографии в группах в зависимости от стажа курения кальяна, М±SD

Table 3

Parameters of volumetric sphygmography in groups depending on the hookah smoking experience, M±SD

Показатель	1-я подгруппа (n=43)	2-я подгруппа (n=17)	p
R-ABI	1,0±0,1	1,0±0,1	0,661
L-ABI	1,0±0,1	1,0±0,1	0,366
PWV, м/с	6,9±2,6	7,3±3,5	0,634
R-CAVI	6,1±0,7	7,0±0,8	0,001
L-CAVI	6,0±0,6	6,8±0,7	0,001
hf CAVI	5,1±0,6	5,7±0,8	0,017

Таблица 4

Параметры объемной сфигмографии через три года динамического наблюдения, М±SD

Table 4

Parameters of volumetric sphygmography after three years of dynamic observation, M±SD

Показатель	1-я группа (n=16)	2-я группа (n=22)	p
R-ABI	1,0±0,1	1,1±0,1	0,651
L-ABI	1,0±0,1	1,1±0,1	0,468
PWV, м/с	5,9±0,6	9,2±2,2	0,001
R-CAVI	6,5±0,3	6,8±0,5	0,015
L-CAVI	6,1±0,5	7,0±0,5	0,001
hf CAVI	5,2±0,3	5,5±0,5	0,012

параметра у студентов основной группы по отношению значениям CAVI студентов контрольной группы не превышает возрастные параметры.

В то же время, несмотря на то, что среднее значение индекса CAVI находилось в пределах условной нормы, выявлено, что у 20 % (n=12) студентов основной группы курильщиков данный индекс превышал возрастные критерии, составляя в среднем 7,5±0,3 м/с, что соответствует возрасту 41–50 лет.

Отличительной особенностью студентов, имеющих CAVI, превышающий возрастные показатели, является разность в продолжительности курения кальяна до или более 3 лет, данные объемной сфигмографии представлены в табл. 3.

Как видно по результатам объемной сфигмографии, представленным в табл. 3, показатель PWV превышает возрастные критерии нормы у всех студентов, независимо от продолжительности использования кальяна. В то же время выявленные достоверно высокие показатели CAVI (R-CAVI, L-CAVI, hf CAVI) характерны для студентов, использующих кальян более 3 лет.

При проведении корреляционного анализа всех показателей объемной сфигмографии у студентов основной группы выявлена тесная взаимосвязь индекса CAVI со стажем курения кальяна ($r=0,46$, $p<0,01$).

После проведенного обследования и полученных результатов каждый студент основной группы получил индивидуальные рекомендации о возможных

последствиях использования кальяна на изменение структурно-функциональных свойств сосудистой стенки, что стимулирует к полному отказу от употребления кальяна.

Повторное исследование по анализу показателей жесткости сосудистой стенки, включающее показатели PWV и CAVI, проведенное методом объемной сфигмографии, было проведено через три года. На обращение по данному поводу откликнулось 29,9 % (n=38) студентов. Среди них 42,1 % (n=16) бросили курение кальяна, а 57,9 % (n=22) продолжали.

Полученные результаты повторной сфигмографии показали, что у студентов, которые прекратили курение кальяна, показатели PWV и CAVI достоверно пришли в соответствие с критериями возрастной нормы в отличие от показателей студентов, которые не смогли или не захотели бросить данную пагубную привычку (табл. 4).

Пример изменения параметров PWV и CAVI у студентки через три года после прекращения курения кальяна показан на рис. 1, 2.

По опубликованным работам зарубежных авторов, распространенность курения кальяна среди студентов составила 53,8 %, а среди выпускников – 54,1 %, что сопоставимо с полученным результатом опроса в нашем исследовании – 53 %.

Результаты опубликованных работ также показывают, что кальян воспринимается как более

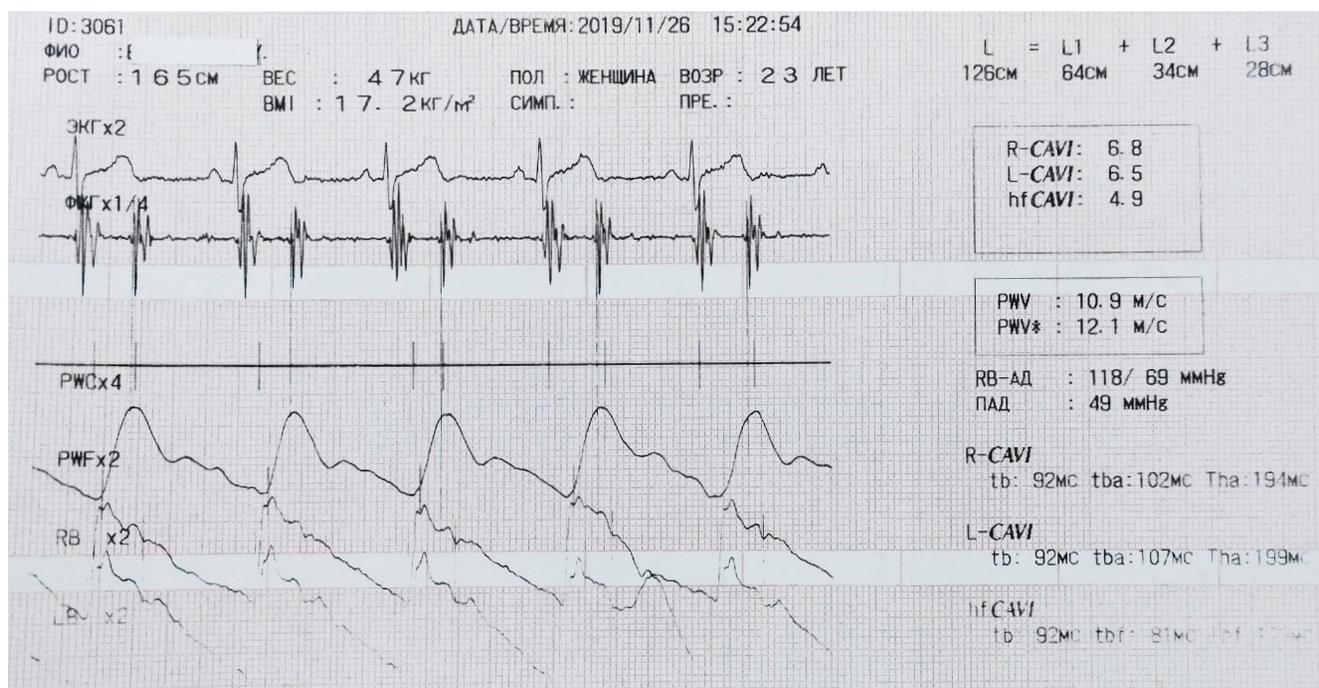


Рис. 1. Сфигмограмма девушки с использованием кальяна более трех лет

Fig. 1. Sphygmogram of a girl using hookah for more than three years

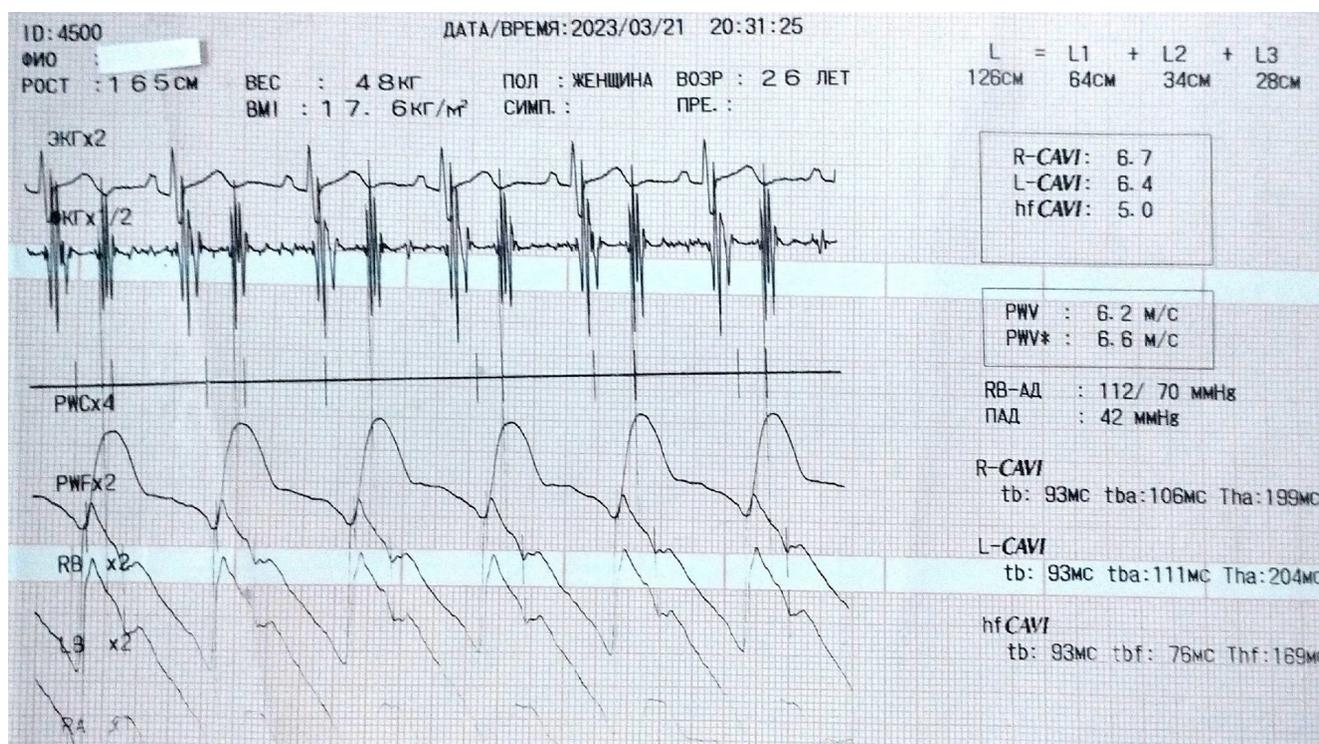


Рис. 2. Сфигмограмма девушки через три года после прекращения курения кальяна

Fig. 2. Sphygmogram of a girl three years after stopping smoking hookah

безопасная альтернатива курению сигарет. Почти 30 % тех, кто никогда не курил кальян, сообщили, что подумают о курении кальяна в будущем. Среди тех, кто рассмотрит возможность курения кальяна в будущем, причинами этому были время, проведенное вместе с друзьями, приятная атмосфера, социальная приемлемость и представление о том, что курение кальяна является более здоровой альтернативой употреблению сигарет. Неправильные представления, связанные с употреблением калья-

на, указывают на отправную точку для разработки мер по изменению поведения в отношении здоровья. Будущие исследования должны изучить социальные и поведенческие детерминанты употребления кальяна и определить частоту употребления кальяна среди студентов колледжей и университетов. По опубликованным данным, лица, употребляющие кальян, не имеют четкого представления о безопасности или вреде кальяна; вместо этого они сообщили, что используют собственные суждения

(70,3 %) или получают информацию от друзей (25,9 %) или из Интернета (22,4 %). На вопрос о наличии кальянных или баров 92,2 % участников ответили, что кальянная или бар находятся в радиусе 15 км от их жилого района [9].

До недавнего времени курению кальяна было посвящено незначительное количество исследований, так как это не считалось серьезной проблемой для здоровья.

Однако стоит отметить выявленное в нашем исследовании по результатам объемной сфигмографии достоверное повышение показателей PWV в группе студентов, использующих кальян более одного года и не имеющих сердечно-сосудистой патологии. Только показатель PWV в основной группе достоверно превышал возрастной параметр нормы, составив в среднем $7,0 \pm 2,8$ м/с по сравнению с группой контроля, а у лиц, куривших более трех лет, данный показатель увеличивался, составляя в среднем $7,3 \pm 3,5$ м/с.

Данный метод диагностики наглядно демонстрирует негативное влияние курения кальяна на сосудистую стенку.

Эти данные соотносятся с проведенным исследованием M. Rezk-Hanna et al. (2018), где было впервые выявлено увеличение показателя PWV на $8,76 \pm 3,99$ % у молодых лиц, использующих кальян [6], затем в рандомизированном перекрестном исследовании (2024) было установлено, что курение кальяна вызывает эндотелиальную дисфункцию, ухудшая биодоступность NO [10].

Также было выявлено достоверное увеличение показателей CAVI у студентов, использующих кальян более 3 лет, что подтверждается полученной корреляционной зависимостью между данным показателем и продолжительностью курения кальяна. Выявленное повышенное значение CAVI указывает на более значимые функциональные нарушения эндотелиальной дисфункции, но восстановление до возрастных значений даже такого показателя указывает на возможность восстановления ригидных свойств сосудистой стенки и может свидетельствовать о том, что жесткость сосудистой стенки в большей степени зависит от кумулятивных эффектов продолжительного курения кальяна.

О том, что сосудистая дисфункция может быть обратимой после прекращения курения кальяна свидетельствует пример молодой девушки без сердечно-сосудистой патологии, у которой показатель PWV с 10,9 м/с изменялся на 6,2 м/с, что соответствует норме.

Поэтому, учитывая, что табакозависимость относится к модифицируемым факторам риска, это определяет необходимость разработки и внедрения мер по повышению мотивации к отказу от употребления любых никотинсодержащих средств, включая кальян. В качестве одного из скрининговых методов, демонстрирующих негативное влияние курения на ремоделирование сосудистой стенки, может быть использована объемная сфигмография. В дальнейшем необходимы исследования с более длительным использованием кальяна для изучения связи между курением кальяна и риском ССЗ.

Заключение

Таким образом:

– данное исследование показало высокую распространенность пристрастия лиц молодого возраста к использованию кальяна, что сопоставимо с данными иностранных и отечественных источников;

– полученные данные по результатам скрининг-обследования объемной сфигмографии (PWV и CAVI) позволяют продемонстрировать негативное влияние кальяна на сосудистую стенку в виде нарушения эндотелиальной функции у лиц, не имеющих соматических заболеваний, в частности сердечно-сосудистой патологии;

– проведенное повторное обследование у лиц молодого возраста (19–25 лет) через три года показало возможность восстановления эндотелиальной функции до показателей возрастной нормы.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Всемирная организация здравоохранения. Доклад ВОЗ о глобальной табачной эпидемии, 2021 г.: Решение проблем новых и появляющихся изделий. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>. [WHO report on the global tobacco epidemic 2021: addressing new and emerging products. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>.
2. Zaheri H, Raziani Y, Khademi N et al. Prevalence of hookah smoking among Iranian pupils and university students: An updated systematic review and meta-analysis. *Clin Respir J*. 2022;16(6):425-440. Doi: 10.1111/crj.13511.
3. Салагай О.О., Антонов Н.С., Сахарова Г.М. Анализ тенденций в потреблении табачных и никотинсодержащих изделий в Российской Федерации по результатам онлайн-опросов 2019–2023 гг. // Профил. мед. – 2023. – Т. 26, № 5. – С. 7–16. [Salagay OO, Antonov NS, Sakharova GM. Analysis of trends in the consumption of tobacco and nicotine-containing products in the Russian Federation according to the results of online surveys 2019–2023. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2023;26(5):7-16. (in Russ.)]. Doi: 10.17116/profmed2023260517.
4. Bhatnagar A, Maziak W, Eissenberg T et al. Water Pipe (Hookah) Smoking and Cardiovascular Disease Risk: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2019;139(19):917-936. Doi: 10.1161/CIR.0000000000000671.
5. Ben Taleb Z, Dabroy D, Akins J et al. Pod-based e-cigarettes versus combustible cigarettes: The impact on peripheral and cerebral vascular function and subjective experiences. *Tobacco induced diseases*. 2023;21:71. Doi: 10.18332/tid/162366.
6. Rezk-Hanna M, Doering L, Robbins W et al. Acute effect of hookah smoking on arterial stiffness and wave reflections in adults aged 18 to 34 years of age. *Am J Cardiol*. 2018;122(5):905-909. Doi: 10.1016/j.amjcard.2018.05.033.
7. Васюк Ю.А., Иванова С.В., Школьник Е.Л. и др. Согласованное мнение российских экспертов по оценке артериальной жесткости в клинической практике // Кардиоваск. тер. и профилактика. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 4–19. [Vasyuk YuA, Ivanova SV, Shkolnik EL et al. Consensus of Russian experts on the evaluation of arterial stiffness in clinical practice. *Cardiovasc Ther Prevent*. 2016;15(2):4-19. Doi: 10.15829/1728-8800-2016-2-4-19. (in Russ.)].

8. Заирова А.Р., Рогоза А.Н. Объемная сфигмография сегодня // *Мед. алфавит.* – 2018. – Т. 4, № 36. – С. 8–18. [Zairova AR, Rogoza AN. Volume sphygmography today. *Med Alphabet.* 2018;4(36):8-18. (in Russ.)].

9. Rahman S, Chang L, Hadgu S et al. Prevalence, knowledge, and practices of hookah smoking among university students. *Prev Chronic Dis.* 2014;11:E214. Doi: 10.5888/pcd11.140099.

10. Rezk-Hanna M, Rossman MJ, Ludwig K et al. Electronic hookah (waterpipe) vaping reduces vascular endothelial function: the role of nicotine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2024;326(3):490-496. Doi: 10.1152/ajpheart.00710.2023.

Информация об авторах

Пушкина Яна Александровна – аспирант кафедры факультетской терапии с курсом медицинской реабилитации Медицинского института, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия, e-mail: frokna1992yana@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7505-2698.

Сычев Иван Витальевич – аспирант кафедры факультетской терапии с курсом медицинской реабилитации Медицинского института, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия, e-mail: sychev_iv@bk.ru, ORCID: 0000-0003-0227-2651.

Сергутова Наталья Петровна – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской терапии с курсом медицинской реабилитации Медицинского института, ФГБОУ ВО «Наци-

ональный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия, e-mail: sergutovanp@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8274-7906.

Гончарова Людмила Никитична – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры факультетской терапии с курсом медицинской реабилитации Медицинского института, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия, e-mail: glnsm@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4324-9071.

Authors information

Pushkina Yana A. – PhD Student, Dept. of Faculty Therapy with a course of medical rehabilitation, Medical Institute, Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: frokna1992yana@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7505-2698.

Sychev Ivan V. – PhD Student, Dept. of Faculty Therapy with a course of medical rehabilitation, Medical Institute, Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: sychev_iv@bk.ru, ORCID: 0000-0003-0227-2651.

Sergutova Natalia P. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Associate Professor, Dept. of Faculty Therapy with a course of medical rehabilitation, Medical Institute, Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: sergutovanp@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8274-7906.

Goncharova Lyudmila N. – MD, Associate Professor, Professor, Dept. of Faculty Therapy with a course of medical rehabilitation, Medical Institute, Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: glnsm@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4324-9071.

УДК 617.58

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-50-56

К. М. ВАХИТОВ¹, М. Ш. ВАХИТОВ², А. Ф. КУВАЖУКОВА¹,
П. А. ВЛАДИМИРОВ¹

Анатомические особенности глубокой артерии бедра как фактор, влияющий на степень хронической артериальной недостаточности

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, Россия

194291, Россия, Санкт-Петербург, пр. Луначарского, д. 45, к. 2

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

E-mail: mavlet.46@mail.ru

Статья поступила в редакцию 06.03.24 г.; принята к печати 28.06.24 г.

Резюме

Введение. Глубокая бедренная артерия является одной из основных магистралей в кровоснабжении нижней конечности, становясь незаменимым помощником при атеросклеротическом поражении поверхностной артерии бедра и артерий голени. На протяжении многих лет вопрос ее реваскуляризации занимал умы большинства сосудистых хирургов, однако в представлении многих при оценке ее характеристик использовались лишь термины «хорошая» или «плохая». **Цель** – изучить зависимость выраженности артериальной недостаточности нижних конечностей от типа строения глубокой артерии бедра и состояния артериального русла голени у пациентов с облитерирующим атеросклерозом. **Материалы и методы.** В исследование включены 40 женщин и 80 мужчин, в возрасте от 53 до 84 лет ($66,7 \pm 7,4$). Критерием включения было наличие проходимого аорто-подвздошного сегмента, проходимой глубокой артерии бедра и окклюзии бедренно-подколенного сегмента. В зависимости от анатомического строения глубокой бедренной артерии (ГБА) пациенты были разделены на 2 группы: 1) магистральный тип строения ГБА; 2) рассыпной тип. С целью адекватной оценки влияния анатомических параметров на степень ишемии изучались следующие характеристики: количество перфорантных ветвей; протяженность глубокой артерии бедра; количество проходимых артерий голени (задней большеберцовой (ЗББА), передней большеберцовой (ПББА), малоберцовой (МБА)). **Результаты.** При соотнесении типов строения ГБА и степени хронической артериальной недостаточности (ХАН) не было отмечено существенных различий в изучаемых группах – $p=0,096$. Однако необходимо отметить, что в числовом выражении, при ишемическом поражении III и IV степеней, рассыпной тип строения ГБА встретился в 4 (22,3 %) и 14 (30,1 %) случаях соответственно. Также не было выявлено достоверной взаимосвязи степени ХАН и количества перфорантных ветвей ГБА ($p=0,278$). Так, перфорантные ветви 2-го порядка, среди пациентов с магистральным типом строения ГБА, встретились у 56 (57,1 %), ветви 3-го порядка – у 32 (32,6 %). В противоположность указанным результатам, анализ протяженности ГБА продемонстрировал существенную зависимость изучаемых показателей. При протяженности основного ствола глубокой бедренной артерии до уровня средней-нижней трети бедра, в большинстве случаев встречалась ишемия 2б степени – 40 (71,4 %), в то время как среди больных других групп ишемии данный показатель наблюдался лишь у 8 пациентов. Критерий статистической достоверности по данной теории $p=0,001$. **Заключение.** Протяженность глубокой бедренной артерии наряду с сохранностью артериального русла голени являются значимым фактором, влияющим на степень артериальной недостаточности.

Ключевые слова: глубокая артерия бедра, анатомия, хроническая ишемия конечности

Для цитирования: Вахитов К. М., Вахитов М. Ш., Куважукова А. Ф., Владимиров П. А. Анатомические особенности глубокой артерии бедра как фактор, влияющий на степень хронической артериальной недостаточности. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024; 23(3):50–56. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-50-56.

K. M. VAKHITOV¹, M. Sh. VAKHITOV²,
A. F. KUVAZHUKOVA¹, P. A. VLADIMIROV¹

Anatomical features of the profunda femoris artery as a factor in the degree of chronic limb ischemia

¹ Leningrad regional hospital, Saint Petersburg, Russia
45 bld 2, Lunacharskogo str., Saint Petersburg, Russia, 194291
² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: mavlet.46@mail.ru

Received 06.03.24; accepted 28.06.24

Summary

Introduction. The deep femoral artery is one of the main arteries in the blood supply to the lower limb, becoming an indispensable adjunct to atherosclerotic lesions of the superficial femoral artery and tibial arteries. For many years, the issue of its revascularization has occupied the minds of most vascular surgeons. However, in the minds of many, only the terms «good» or «bad» were used to evaluate its characteristics. **Aim.** To study the dependence of the severity of lower extremity arterial insufficiency on the type of deep femoral artery structure and the state of the lower limb arterial channel in patients with atherosclerotic limb ischemia. **Materials and Methods.** The study included 40 women and 80 men, aged from 53 to 84 years (66.7±7.4). The inclusion criteria were the presence of a patent aortoiliac segment, patent deep femoral artery, and occlusion of the femoropopliteal segment. Patients were divided into 2 groups according to the anatomical structure of the deep femoral artery: 1) trunk type; 2) branched type. In order to adequately assess the influence of anatomical parameters on the degree of ischemia, the following characteristics were studied: number of perforating branches; length of the deep femoral artery; number of traversable arterial trunks of the leg. **Results.** When correlating the types of PFA structure with the degree of limb ischemia, no significant differences were found in the studied groups – $p=0.096$. However, it should be noted that, numerically, with ischemic damage of degrees III and IV, the dispersed type of PFA structure was found in 4 (22.3%) and 14 (30.1%), respectively. There was also no significant relationship between the degree of limb ischemia and the number of perforating branches of the PFA ($p=0.278$). Thus, 2nd order perforating branches were found in 56 (57.1%) patients with the main type of GBA structure and 3rd order branches – in 32 (32.6%). In contrast to the above results, the analysis of the extent of the PFA demonstrated a significant dependence of the studied indicators. With the extension of the main trunk of the deep femoral artery to the level of the middle-lower third of the thigh, grade 2b ischemia was observed in most cases – 40 (71.4%), while among the patients in other ischemia groups, this indicator was observed only in 8 patients ($p=0.001$). **Conclusion.** The extent of the deep femoral artery and preservation of the tibial arterial bed are significant factors influencing the degree of arterial insufficiency.

Keywords: profunda femoris artery, anatomy, chronic limb ischemia

For citation: Vakhitov K. M., Vakhitov M. Sh., Kuvazhukova A. F., Vladimirov P. A. Anatomical features of the profunda femoris artery as a factor in the degree of chronic limb ischemia. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):50–56. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-50-56.

Введение

Окклюзия поверхностной бедренной артерии (ПБА) является распространенной патологией, наиболее часто встречающейся у пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей [1]. При этом глубокая артерия бедра (ГБА), принимая на себя основной кровоток, становится значимым путем кровоснабжения не только бедра, но порой и голени за счет наличия обширных коллатеральных путей как с поверхностной бедренной артерией, так и с магистральными сосудами ниже щели коленного сустава [2, 3]. Одними из основных и наиболее известных являются анастомозы ГБА и поверхностной бедренной артерии в проекции нижней трети бедра, в так называемой реципиентной зоне, которая встречается, по данным разных авторов, у большинства больных (до 96 %) с облитерирующим атеросклерозом [4]. Частота ее поражения атеросклерозом значительно меньше в сравнении с ПБА, а объем принимаемой крови и возможность компенсации кровотока делает ее отличным резер-

вуаром при реконструкциях аорто-бедренного сегмента, а также артерией притока при шунтирующих операциях на бедренно-подколенном сегменте [5, 6]. Именно за счет этого свойства глубокая артерия бедра на протяжении всего существования сосудистой хирургии является «палочкой выручалочкой» для врачей и пациентов. Однако несмотря на широкое ее использование в операциях, в понимании ангиохирургов не существует адекватного представления о роли ГБА в развитии ишемии и эффективности ее как принимающего русла. В большинстве случаев ее характеристика сводится к терминам «хорошая» или «плохая».

Согласно анатомическим характеристикам, глубокая бедренная артерия представляет собой крупный ствол, диаметром 5–7 мм, отходящий от заднелатеральной полуокружности общей бедренной артерии (ОБА). Реже она отходит от задней и задневнутренней поверхности ОБА. В современной литературе ее делят на три зоны. Зона 1 (проксимальная) начинается у истока артерии и простирается до



а



б

Рис. 1. Варианты строения глубокой бедренной артерии: а – магистральный тип; б – рассыпной тип

Fig. 1. Variants of the structure of the deep femoral artery: а – trunk type; б – branched type

латеральной артерии, огибающей бедренную кость. Зона 2 (средняя) простирается до второй перфорирующей ветви. Зона 3 (дистальная) продолжается за второй перфорирующей ветвью [7].

Несмотря на данные классической анатомии, реальные характеристики расположения и разветвления сосудов различных бассейнов, как показывает практика, разнятся и могут быть диаметрально противоположными даже у одного человека. Так, согласно исследованию М. Ш. Вахитова [8], венозная система нижних конечностей, несмотря на ее кажущуюся однообразность, может быть представлена в виде магистрального и различной выраженности рассыпного типа строения, что в свою очередь влияет на формирование тех или иных проявлений венозной недостаточности. Как известно, топографически артериальная и венозная системы в большинстве случаев совпадают, и каждой артерии соответствуют одноименные вены, что может демонстрировать вариабельность строения ГБА. В исследовании В. И. Русина и др. было определено, что глубокая бедренная артерия имеет три основных варианта формирования и отхождения от общей артерии бедра. При первом варианте имеется выраженный основной ствол ГБА, от которого четко отходят латеральная и медиальная огибающие ветви в разной последовательности. При втором варианте строения латеральная и медиальная огибающие ветви и глубокая артерия бедра отходят раздельно от общей артерии бедра. Отличительной особенностью анатомического строения ГБА для третьего варианта является отсутствие четкого различия между основным стволом и его ветвями. При этом характерным было наличие только двух стволов приблизительно одинакового диаметра, один из которых представлял собой дилатированную латеральную артерию, огибающую бедренную кость, а второй при этом был основным стволом ГБА. Ход основ-

ного ствола удавалось проследить по отхождению перфорантных ветвей [9].

Учитывая все вышесказанное, нами была поставлена следующая **цель** исследования – изучить зависимость выраженности артериальной недостаточности нижних конечностей от типа строения глубокой артерии бедра и состояния артериального русла голени у пациентов с облитерирующим атеросклерозом.

Материалы и методы исследования

Проведен анализ 120 ангиографий пациентов с хронической артериальной недостаточностью (ХАН Пб – IV степени по классификации А. В. Покровского), проходивших обследование и лечение в условиях отделения сосудистой хирургии ГБУЗ ЛОКБ за период с 2019 по 2023 гг. В исследование включены 40 женщин и 80 мужчин, в возрасте от 53 до 84 лет ($66,7 \pm 7,4$). Критерием включения было наличие проходимого аорто-подвздошного сегмента, проходимой глубокой артерии бедра и окклюзии бедренно-подколенного сегмента. При наличии пораженного аорто-подвздошного сегмента (стеноза общей и/или наружной подвздошной артерий от 50 % и более), поражения общей бедренной артерии более 50 % пациенты в исследование не включались. В зависимости от анатомического строения глубокой бедренной артерии, пациенты были разделены на 2 группы: 1) магистральный тип строения ГБА; 2) рассыпной тип (рис. 1).

К 1-й группе относились пациенты ($n=98$ (81,7 %)), у которых имелся выраженный ствол ГБА протяженностью от уровня верхней трети бедра и возможным окончанием в нижней трети, от которого на всем протяжении можно выделить отхождение 2–3 выраженных перфорантных ветвей в медиальном направлении, а также ветвей меньшего

Таблица 1

Частота встречаемости сахарного диабета у пациентов с различной степенью артериальной недостаточности

Table 1

Frequency of occurrence of diabetes mellitus in patients with different degrees of arterial insufficiency

Степень ХАН по А.В. Покровскому	Число пациентов, n (%)	Средний возраст	Пол, м/ж	СД, n (%)
ХАН IIб	56 (46,7 %)	64±6,8	42 (75 %) vs 14 (25 %)	14 (25 %)
ХАН III	18 (15 %)	67±7,8	10 (55,6 %) vs 8(45,4 %)	4 (22,2 %)
ХАН VI	46 (38,3 %)	68±7,6	28 (60,9 %) vs 18(39,1 %)	14 (30,4 %)
Всего	120 (100 %)	66,7±7,4	80 (66,7 %) vs 40 (33,3 %)	32 (26,6 %)

Таблица 2

Соотношение типа строения глубокой артерии бедра и степени артериальной недостаточности

Table 2

The relationship between the type of the deep femoral artery structure and the degree of arterial insufficiency

Степень ХАН по А. В. Покровскому	Магистральный тип строения ГБА	Рассыпной тип строения ГБА
ХАН IIб	52 (92,8 %)	4 (7,2 %)
ХАН III	14 (77,7 %)	4 (22,3 %)
ХАН IV	32 (69,5 %)	14 (30,1 %)
Всего	98 (81,7 %)	22 (18,3 %)

диаметра и протяженности (в сравнении с перфорантными ветвями).

Ко 2-й группе были отнесены больные (n=22 (18,3 %)), у которых существенных различий в строении основного ствола ГБА и ее ветвей не существовало, то есть основной ствол и его ветви имели приблизительно равнозначный диаметр и протяженность.

С целью адекватной оценки влияния анатомических параметров на степень ишемии изучались следующие характеристики:

- количество перфорантных ветвей;
- протяженность глубокой артерии бедра;
- количество проходимых артериальных стволов голени.

Помимо этого, при анализе учитывалась сопутствующая патология (сахарный диабет), которая могла повлиять на степень артериальной недостаточности (табл. 1). Как видно из данных табл. 1, пациенты были сопоставимы по возрасту.

Ангиографическое исследование выполнялось на аппарате Phillips Azurion. С целью адекватной визуализации основного ствола глубокой бедренной артерии и ее ветвей, а также оценки дистального русла инфраингвинальных артерий, выполнялась селективная ангиография, введение контрастного вещества производилось с уровня наружной подвздошной артерии с использованием инъекторной подачи контрастного вещества.

Как видно из данных табл. 1, частота встречаемости сахарного диабета сопоставима у пациентов с различной степенью ишемии и не превышает 30 %.

Статистическая обработка производилась в программном обеспечении Statistica 12 (Statsoft, TIBCO, USA). Результаты представлены в виде количественных и качественных переменных. Для количествен-

ных использован – U-критерий Манна–Уитни**, для оценки качественных показателей – критерий χ^2 *. В нашем исследовании для всех поставленных гипотез нулевая представлена в виде отсутствия взаимосвязи между ХАН и проверяемым параметром. Порог статистической значимости был установлен на уровне $p=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Как показали результаты нашего исследования, большинство пациентов имели IIб степень хронической артериальной недостаточности – 46,7 %, при этом число больных с хронической критической ишемией (ХАН IV степени) составило 38,3 %. При соотношении типов строения ГБА и степени ХАН не было отмечено существенных различий в изучаемых группах – $p=0,096$. Однако необходимо отметить, что в числовом выражении, при ишемическом поражении III и IV степеней, рассыпной тип строения ГБА встретился в 22 и 30 % соответственно. В то же время обращает внимание и малое количество пациентов со степенью артериальной недостаточности IIб при рассыпном типе – 7,2 %, что также косвенно может указывать на значимость нашего предположения. Результаты представлены в табл. 2.

Оценка следующего параметра не продемонстрировала взаимосвязи количества ветвей и степени артериальной недостаточности $p=0,278$. Так, перфорантные ветви 2-го порядка, среди пациентов с магистральным типом строения ГБА, встретились у 56 (57,1 %), ветви 3-го порядка – у 32 (32,6 %). Результаты представлены на рис. 2.

В противоположность указанным результатам, анализ взаимосвязи протяженности ГБА и степени артериальной недостаточности продемонстрировал

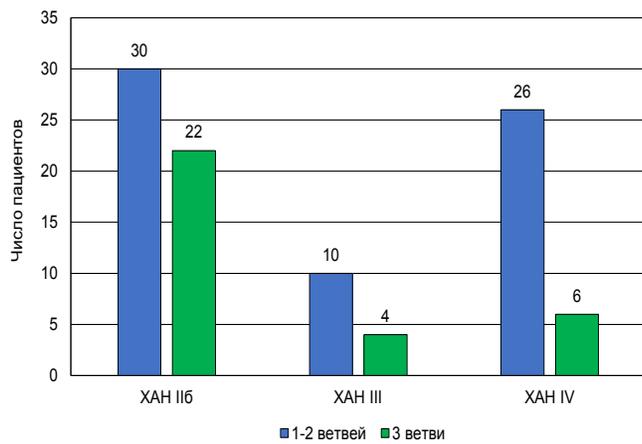


Рис. 2. Зависимость степени ХАН от количества ветвей ГБА ($p=0,278$)

Fig. 2. Dependence of the degree of chronic arterial limb ischemia on the number of the PFA branches ($p=0.278$)

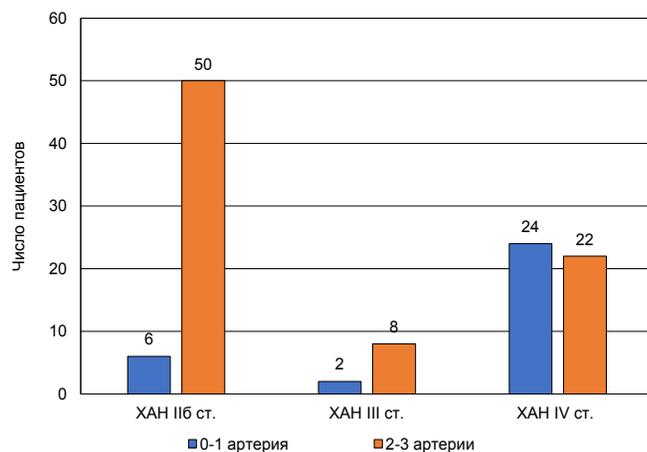


Рис. 4. Соотношение степени артериальной недостаточности и проходимости артериального русла голени ($p=0,002$)

Fig. 2. The ratio of the degree of chronic arterial limb ischemia and the patency of the tibial arterial bed ($p=0.002$)

существенную зависимость изучаемых показателей. При протяженности основного ствола глубокой бедренной артерии до уровня средней-нижней трети бедра, в большинстве случаев встречалась ишемия 2б степени – 40 (71,4 %), в то время как среди больных других групп ишемии данный показатель наблюдался лишь у 8 пациентов (ХАН 3 степени – 8 (44,4 %); ХАН 4 степени – 8 (17,4 %)), в то же время среди больных с критической ишемией у подавляющего большинства протяженность ГБА была значительно меньше и не достигала уровня средней-нижней трети бедра – 38 (82,6 %). Критерий статистической достоверности по зависимости степени артериальной недостаточности от протяженности глубокой артерии бедра – $p=0,001$ (рис. 3).

Другим немаловажным фактором, способным оказать влияние на степень артериальной недостаточности при проходимой ГБА и окклюзированном бедренно-подколенном сегменте, является сохранность магистральных артерий голени (ПББА, ЗББА, МБА). Как показало наше исследование, в большинстве случаев (89,3 %) с ХАН 2б степени имелись 2 или 3 магистральные артерии голени, в то время как в группе с критической ишемией данный показатель составил лишь 47,8 % ($p=0,002$) (рис. 4).

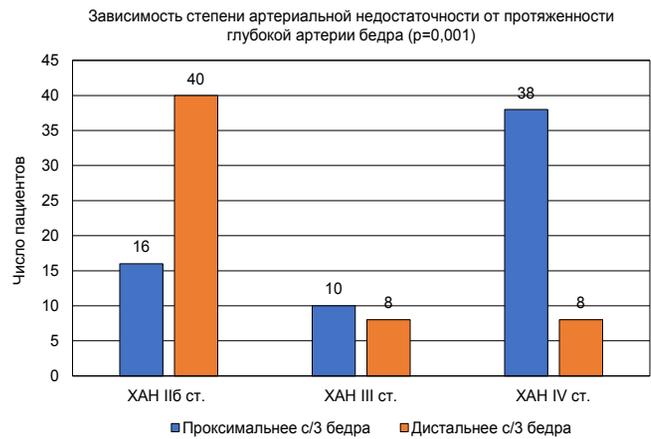


Рис. 3. Зависимость степени артериальной недостаточности от протяженности глубокой артерии бедра ($p=0,001$)

Fig. 3. Dependence of the degree of arterial insufficiency on the length of the deep femoral artery ($p=0.001$)

Первые хирургические вмешательства на ГБА в 1895 г. выполнил отечественный хирург И. Ф. Сабанеев – удаление тромба из ГБА. К сожалению, операция не имела успеха [10]. С этих времен интерес к операциям, а главное изучению параметров артериального русла не угасали и дополнялись новыми знаниями и пониманиями. За счет своих анатомических и функциональных особенностей она имеет большое, а порой и определяющее значение при ишемическом поражении нижних конечностей. Хорошо известен факт, что пациенты с длительно текущим анамнезом перемежающейся хромоты на протяжении многих лет имеют стабильный характер течения заболевания, лишь в отдельных случаях прогрессируют до развития критической ишемии, и в большинстве случаев «заслуга» в сохранении или прогрессировании симптоматики всецело лежит на глубокой артерии бедра [11–13]. Всякое нарушение кровотока в ГБА – важнейшем сосудистом коллекторе – резко сказывается на питании дистальных отделов конечности. В связи с этим большое внимание уделяют реваскуляризации конечности путем пластики ГБА при ее поражении и критической ишемии конечности [14, 15].

Задумываясь о проведении данного исследования, мы задавались вопросом существования реальной зависимости степени ишемии нижних конечностей, при бедренно-подколенной окклюзии, от варианта анатомического строения ГБА – магистрального или рассыпного. При первом типе прослеживался выраженный основной ствол ГБА, от которого отходили латеральная и медиальная огибающие ветви в разной последовательности и перфоранты. Отличительной особенностью анатомического строения ГБА при рассыпном типе являлось отсутствие четкого различия между основным стволом ГБА и его ветвями. Как представляется большинству хирургов, рассыпной тип ГБА можно отнести к классу «плохой», так как при визуальной оценке ангиографических параметров артерии: диаметру, протяженности, количеству и выраженности имеющихся ветвей, она уступает магистральному типу.

Однако по результатам нашего исследования, зависимости степени ишемии от типа строения ГБА, как и от количества перфорантных ветвей выявлено не было.

Вместе с тем, говоря о протяженности глубокой бедренной артерии, статистический анализ показал, что степень артериальной недостаточности зависит от протяженности ГБА – при протяжении артерии ниже уровня средней трети бедра, вероятность ХАН Пб степени выше, в сравнении с результатами короткого основного ствола ($p=0,001$). Наряду с этим, сохранность артерий голени также является значимым фактором потенциального сохранения степени ишемии на уровне Пб ($p=0,002$) при окклюзированном бедренно-подколенном сегменте и проходимой глубокой артерии бедра.

Исходя из вышеизложенного, мы можем сделать ряд выводов, однако, учитывая относительно малую выборку пациентов, исследование требует дальнейшего анализа и обработки.

Выводы

1. Отсутствует статистически достоверная зависимость степени ишемии нижних конечностей от варианта анатомического строения глубокой бедренной артерии.

2. Не выявлена прямая взаимосвязь хронической артериальной недостаточности и количества ветвей ГБА.

3. Протяженность глубокой бедренной артерии является значимым фактором, влияющим на степень артериальной недостаточности.

4. Степень хронической артериальной недостаточности достоверно зависит от сохранности магистрального русла голени при окклюзии бедренно-подколенного сегмента.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Poredoš P, Cevc M, Blinc A. Characteristics of atherosclerosis in femoropopliteal artery and its clinical relevance. *Atherosclerosis*. 2021;(335):31-40. Doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2021.09.012.

2. Клиническая анатомия глубоких сосудов бедра области бедренного треугольника / Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Шанаев И.Н. // *Ангиол. и сосуд. хир.* – 2021. – Т. 27, № 1. – С. 17–23. [Kalinin RE, Suchkov IA, Klimentova EA, Shanaev IN. Clinical anatomy of the deep vessels of the thigh in the femoral triangle region. *Angiol Vasc Surg*. 2021;27(1):17-23. (in Russ.)]. Doi: 10.33529/ANGIO202110.

3. Algan S, Tan O. Profunda femoris artery perforator flaps: a detailed anatomical study. *J Plast Surg Hand Surg*. 2020;54(6):377-381. Doi: 10.1080/2000656X.2020.1801456.

4. Светликов А.В., Гамзатов Т.Х., Кебряков А.В. и др. Хирургическая тактика лечения хронической ишемии у больных с атеросклеротическим поражением глубокой артерии бедра и окклюзией поверхностной бедренной артерии // *Ангиол. и сосуд. хир.* – 2023. – Т. 29, № 2. – С. 61–72. [Svetlikov AV, Gamzatov TKh, Kebryakov AV, Tishkov AV, Margaryants NB, Khardikov IE, Galkin PA, Shapovalov AS,

Lukin SV, Melnikov VM, Khubulava GG, Kashchenko VA, Ratnikov VA, Gurevich VS. Surgical tactics of treatment for chronic ischemia in patients with atherosclerotic lesions of the deep femoral artery and occlusion of the superficial femoral artery. *Angiol Vasc Surg*. 2023;29(2):61-72. (in Russ.)]. Doi: 10.33029/1027-6661-2023-29-2-61-72.

5. Гавриленко А.В., Котов А.Э., Ленишников М.К. Эффективность профундопластики при хирургическом лечении пациентов с критической ишемией нижних конечностей // *Кардиол. и сердечно-сосуд. хир.* – 2019. – Т. 12, № 4. – С. 296–301. [Gavrilenko AV, Kotov AE, Lepshokov MK. Profundoplasty in surgical treatment of patients with critical lower limb ischemia. *Russ J Cardiol Cardiovasc Surg*. 2019;12(4):296-301. (in Russ.)]. Doi: 10.17116/kardio201912041296.

6. Illuminati G, Calio FG, Pizzardi G, Pasqua G, Pasqua R, Masci F et al. Results of infrageniculate bypasses using the profunda femoris artery as inflow source. *Ann Vasc Surg*. 2018;(47):188-194. Doi: 10.1016/j.avsg.2017.09.010.

7. Luke XZ, Addi ZR. Profunda Femoris reconstruction. *Curr Surg Ther*. 2019:988-993.

8. Вахутов М.Ш., Большаков О.П., Варианты анатомического строения вен нижних конечностей как возможная причина развития первичного варикоза // *Ангиол. и сосуд. хир.* – 2011. – Т. 17, № 4. – С. 64–68. [Vakhitov MSh, Bol'shakov OP. Variants of anatomical structure of lower-limb veins as a possible cause of the development of primary varicosity. *Angiol Vasc Surg*. 2011;17(4):64-68. (in Russ.)].

9. Русин В.И., Корсак В.В., Русин В.В. и др. Ангиоархитектоника и морфометрия глубокой артерии бедра // *Новости хир.* – 2019. – Т. 27, № 6. – С. 615–621. [Rusin VI, Korsak VV, Rusin VV. Angioarchitectonics and morphometry of the deep femoral artery. *Novosti Khirurgii*. 2019;27(6):615-621. (in Russ.)]. Doi: 10.18484/2305-0047.2019.6.615.

10. Сабанеев И.Ф. К вопросу о шве сосудов // *Рус. хир. арх.* – 1895. – № 4. – С. 625–639. [Sabaneev IF. Vascular suture. *Russ Surg Arch*. 1895;(4):625-639. (in Russ.)].

11. Manenti A, Roncati L, Manco G, Zizzo M, Farinetti A. Pathophysiology of the profunda femoris artery in chronic lower limb ischemia. *Ann Vasc Surg*. 2021;77:e2-e3. Doi: 10.1016/j.avsg.2021.05.028.

12. Казанчян П.О., Попов В.А., Дебелый Ю.В. и др. Может ли профундопластика быть альтернативой бедренно-подколенно-тибиальным шунтирующим вмешательствам при окклюдированных поражениях артерий ниже паховой связки // *Грудная и сердечно-сосуд. хир.* – 2006. – № 4. – С. 42–48. [Kazanchyan PO, Popov VA, Debelyy YuV. Can profundoplasty be an alternative to femoral-popliteal-tibial bypass surgery for occlusive lesions of the arteries below the inguinal ligament. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;(4):42-48. (in Russ.)].

13. Покровский А.В., Дан В.Н., Чупин А.В. и др. Хирургическое лечение больных с критической ишемией нижних конечностей // *Критическая ишемия. Итоги XX века: Материалы III Международного конгресса северных стран и регионов.* – Петрозаводск-Париж, 1999. – 120 с. [Pokrovskiy AV, Dan VN, Chupin AV. Surgical treatment of patients with critical ischemia of the lower extremities. *Critical ischemia. Results of the 20th century: Materials of the III International Congress of Nordic Countries and Regions. Petrozavodsk-Paris, 1999:120.* (in Russ.)].

14. Georgakarakos E, Tasopoulou RM et al. The importance of profunda femoris artery justifies further the endovascular approach in critical limb ischemia. *Ann Vasc Surg*. 2018;(49):318-319. Doi: 10.1016/j.avsg.2017.11.048.

15. Manenti A, Roncati L, Manco G, Zizzo M, Farinetti A. Pathophysiology of the profunda femoris artery in chronic lower limb ischemia. *Ann Vasc Surg*. 2021;(77):2-3. Doi: 10.1016/j.avsg.2021.05.028.

Информация об авторах

Вахитов Карим Мавлетович – канд. мед. наук, врач сердечно-сосудистый хирург отделения сосудистой хирургии, ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, Россия, ORCID: 0000-0001-8639-9435.

Вахитов Мавлет Шакирович – д-р мед. наук, профессор кафедры общей хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: mavlet.46@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5997-3753.

Куважукова Аксана Фуадовна – врач сердечно-сосудистый хирург отделения сосудистой хирургии, ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: kuvazhukovaaksana@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3080-5953.

Владимиров Павел Александрович – зав. отделением, врач сердечно-сосудистый хирург отделения сосудистой хирургии, ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая

больница», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: vladimirov.pavel@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0863-0309.

Authors information

Vakhitov Karim M. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Vascular Surgeon, Vascular Surgery Department, Leningrad Regional Hospital, Saint Petersburg, Russia, ORCID: 0000-0001-8639-9435

Vakhitov Mavlet Sh. – MD, Professor, General Surgery Department, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: mavlet.46@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5997-3753.

Kuvazhukova Aksana F. – Vascular Surgeon, Vascular Surgery Department, Leningrad Regional Hospital, Saint Petersburg, Russia, e-mail: kuvazhukovaaksana@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3080-5953

Vladimirov Pavel A. – Chief, Vascular Surgery Department, Vascular Surgeon, Vascular Surgery Department, Leningrad Regional Hospital, Saint Petersburg, Russia, e-mail: vladimirov.pavel@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0863-0309.

УДК 617.58:616-002.41.44-037
DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-57-63

А. А. МОИСЕЕВ¹, А. Я. БЕДРОВ¹, А. Н. КРУТИКОВ^{1, 2},
Г. И. ПОПОВ¹, А. А. СУПРУНОВИЧ¹, В. А. КРЕЙЛЬ¹,
А. В. БЕЛОЗЕРЦЕВА¹, К. А. БЕЛОВА¹, А. С. ВЕРТ¹,
Г. Г. ХУБУЛАВА¹

Значение транскутанной оксиметрии при пробе с физической нагрузкой в диагностике синдрома высокой перемежающейся хромоты

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 учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
E-mail: moiseev85@mail.ru

Статья поступила в редакцию 03.12.23 г.; принята к печати 12.02.24 г.

Резюме

Цель. Оценить значение транскутанной оксиметрии в диагностике синдрома высокой перемежающейся хромоты. **Материалы и методы.** В ретроспективное исследование вошли 19 пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей. Сравнительному анализу подвергли минимальные абсолютные значения транскутанного напряжения кислорода, зарегистрированные в ягодичных областях в состоянии покоя сидя и стоя, во время и после ходьбы на беговой дорожке, а также их отношения в зависимости от наличия или отсутствия клинической картины синдрома высокой перемежающейся хромоты. Проведен анализ предсказательной способности показателей транскутанной оксиметрии в диагностике окклюзионно-стенотического поражения общей и внутренней подвздошной артерии. **Результаты.** Статистически значимого различия абсолютных показателей уровня транскутанного напряжения кислорода между группами не выявлено, установлены статистически значимые различия их отношений в зависимости от периода измерения. При уровне отношения транскутанного напряжения кислорода в восстановительном периоде после физической нагрузки к аналогичному, измеренному исходно в положении сидя, менее или равному 80 %, показатели чувствительности и специфичности в диагностике артериогенной природы синдрома высокой перемежающейся хромоты составляют 71 и 86 % соответственно. **Заключение.** При подозрении на синдром высокой перемежающейся хромоты выполнение транскутанной оксиметрии в ягодичных областях при пробе с физической нагрузкой является чувствительным и специфичным маркером гемодинамически значимого окклюзионно-стенотического поражения аорты, общих и внутренних подвздошных артерий.

Ключевые слова: транскутанная оксиметрия, тредмил-тест, высокая перемежающаяся хромота, внутренняя подвздошная артерия, окклюзионно-стенотическое поражение

Для цитирования: Моисеев А. А., Бедров А. Я., Крутиков А. Н., Попов Г. И., Супрунович А. А., Крейль В. А., Белозерцева А. В., Белова К. А., Верт А. С., Хубулава Г. Г. Значение транскутанной оксиметрии при пробе с физической нагрузкой в диагностике синдрома высокой перемежающейся хромоты. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):57–63. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-57-63.

A. A. MOISEEV¹, A. Ya. BEDROV¹, A. N. KRUTIKOV^{1, 2},
G. I. POPOV¹, A. A. SUPRUNOVICH¹, V. A. KREIL¹,
A. V. BELOZERTSEVA¹, K. A. BELOVA¹, A. S. VERT¹,
G. G. KHUBULAVA¹

The role of transcutaneous oximetry at exercise test in the diagnosis of proximal claudication

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

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

² Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

2, Akkuratova str., Saint Petersburg, Russia, 197341

E-mail: moiseev85@mail.ru

Received 03.12.23; accepted 12.02.24

Summary

The aim was to study the role of transcutaneous oximetry of buttock region in the diagnosis of proximal claudication. *Materials and Methods.* The retrospective study included 19 patients with atherosclerosis of the lower extremity arteries. The minimum absolute values of transcutaneous oxygen pressure recorded in the gluteal regions at rest, sitting and standing, during and after treadmill walking, as well as their ratios depending on the presence or absence of clinical signs of proximal claudication were subjected to comparative analysis. The predictive value of transcutaneous oxygen pressure in the diagnosis of occlusive-stenotic disease of the common and internal iliac arteries was analyzed. *Results.* There were no statistically significant differences in the absolute value of the transcutaneous oxygen pressure between the groups; statistically significant differences in their ratios depending on the measurement period were established. When the level of the ratio of transcutaneous oxygen pressure in the recovery period after the treadmill test to the same measured initially in the sitting position is less than or equal to 80%, the sensitivity and specificity in the diagnosis of the occlusive arterial disease are 71% and 86%, respectively. *Conclusion.* The transcutaneous oximetry in the buttock regions during the exercise test is a sensitive and specific indicator of the aortic, common or internal iliac artery occlusive disease in patients with suspected proximal claudication.

Keywords: *transcutaneous oximetry, treadmill test, proximal claudication, internal iliac artery, occlusive disease*

For citation: Moiseev A. A., Bedrov A. Ya., Krutikov A. N., Popov G. I., Suprunovich A. A., Kreil V. A., Belozertseva A. V., Belova K. A., Vert A. S., Khubulava G. G. The role of transcutaneous oximetry at exercise test in the diagnosis of proximal claudication. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):57–63. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-57-63.

Введение

Синдром высокой перемежающейся хромоты (ВПХ) – это комплекс симптомов, возникающих вследствие гипоперфузии ягодичных мышц и мышц бедра при окклюзионно-стенотическом поражении (ОСП) терминального отдела аорты, общих (ОПА) и внутренних подвздошных артерий (ВПА) [1, 2]. Характер клинических проявлений синдрома ВПХ чаще представлен не типичным болевым синдромом, а жалобами на дискомфорт, слабость в области тазобедренного сустава и бедра, а также ощущением, что ноги «устают» или «отказывают» после прохождения определенного расстояния. Если выраженность ишемии нижних конечностей может быть определена рутинным неинвазивным методом, в частности измерением лодыжечного давления, то дифференциальная диагностика синдрома ВПХ затруднена из-за отсутствия общепринятых объективных методов оценки кровоснабжения ягодичных мышц и мышц бедра [1–5]. Метод транскутанной оксиметрии (ТКО) достаточно широко используется в мировой практике при принятии решений относительно необходимости реваскуляризации нижних конечностей, а также для контроля результатов лечения, а его уровень при пробе с физической на-

грузкой используется в диагностике заболеваний периферических артерий [2–5].

Цель исследования – оценка значения транскутанной оксиметрии в диагностике синдрома ВПХ.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 19 пациентов (18 мужчин и 1 женщина), в период с 2022 по 2023 г. проходивших обследование и лечение в отделении сосудистой хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова в связи с наличием клинической картины хронической ишемии нижних конечностей, у которых при сборе жалоб и анамнеза было заподозрено наличие синдрома ВПХ. Средний возраст больных составил 62±1,6 лет. Для исключения других причин болевого синдрома такие пациенты были консультированы невропатологом и травматологом-ортопедом клиники. Всем больным проводилось комплексное ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДС) аорты, подвздошных артерий и артерий нижних конечностей на диагностических ультразвуковых системах *Vivid 7* и *Vivid S60N* фирмы *General Electric* (США) с измерением лодыжечного давления.

Для оценки состояния аорты, артерий таза и нижних конечностей выполнена компьютерно-томо-

Характеристика обследованных больных (N=19)

Table 1

Characteristics of the examined patients (N=19)

Клиническая характеристика и анамнестические данные	Число больных	
	абс.	%
Артериальная гипертензия 2–3 степени, n	16	84,2
Мужской пол, n	18	94,7
Ишемическая болезнь сердца, n	11	57,9
Инфаркт миокарда в анамнезе, n	2	10,5
Стенокардия напряжения, n	3	15,8
Гемодинамически значимое поражение прецеребральных артерий, n	8	42,1
Ишемический инсульт в анамнезе, n	4	21,1
Сахарный диабет, n	3	15,8
Дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника, n	3	15,8

графическая ангиография (КТА) и/или катетерная брюшная аортография и ангиография нижних конечностей (АА). Исследования проводили при отсутствии противопоказаний для внутривенного введения йодсодержащих контрастных препаратов. При проведении КТА в качестве контрастного вещества использовали препарат «Ультравист» 370 мг йода/мл (*Bayer Schering Pharma AG*, Германия). КТА выполнялась на 64-срезовом мультиспиральном компьютерном томографе General Electric Optima CT660 (*GE Healthcare*, США). КТА проводили от уровня диафрагмы до стоп в спиральном режиме с толщиной среза 1,25 мм и скоростью сканирования 39,37 мм за 1 оборот рентгеновской трубки. Сила тока на трубке в момент исследования составляла 350 мА, напряжение – 80 кВ. Контрастный препарат вводили внутривенно в объеме 60–80 мл при помощи автоматического инжектора Dual Shot Alpha фирмы *Nemoto Kyorindo* (Япония) со скоростью 3,3–3,5 мл/с с последующим однократным сканированием и получением артериальной фазы контрастного усиления. АА выполнялась по методике Сельдингера трансфеморальным или трансрадиальным доступами на ангиографическом комплексе *Innova 3100* фирмы *General Electric* (США).

Пробы с физической нагрузкой проводились на беговой дорожке с электроприводом при уклоне 10 %. В течение первой минуты скорость ходьбы постепенно увеличивалась до 3 км/ч и далее сохранялась на том же уровне до прекращения нагрузки. Противопоказаниями к тестированию на беговой дорожке являлись сердечно-сосудистые и костно-суставные заболевания, препятствующие ходьбе на беговой дорожке с указанной скоростью, в том числе стенокардия или явления хронической сердечной недостаточности, выраженный неврологический дефицит после ранее перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения, тяжелая аритмия в покое, выраженный коксартроз, дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника. При появлении или усилении боли по типу перемежающейся хромоты, препятствующей продолжению ходьбы,

пробу с физической нагрузкой прекращали по требованию пациента. При нормальной толерантности к физической нагрузке исследование прекращали через 10 минут.

Для исследования транскутанного напряжения кислорода ($tcpO_2$) использовали транскутанный оксиметр TCM 400 (*Radiometer*, Дания). Калибровка прибора, замена мембран датчиков и процедура измерения проводились в строгом соответствии с рекомендациями производителя устройства. Пациенту перед обследованием запрещалось курение, прием кофе или чая. Перед наложением электрода поверхность кожи очищалась и обезжиривалась спиртовым раствором. Исследование проводилось после отдыха пациента в течение не менее 15 минут. В рамках одной процедуры измерение $tcpO_2$ проводилось одновременно по двум каналам. Измерительные электроды позиционировали на участках кожи в соответствии с ангиосомами ВПА, установленных в верхненаружных квадрантах обеих ягодичных областей (ЯО). Регистрация $tcpO_2$ (в мм рт. ст.) осуществлялась последовательно через каждые 20 секунд сначала в положении сидя (в течение 1 минуты), затем стоя (в течение 1 минуты), во время ходьбы на беговой дорожке и в восстановительном периоде в положении стоя вплоть до возвращения показателя к исходному уровню в покое. Для статистического анализа использовались минимальные значения ($tcpO_{2min}$) из серии полученных показателей для каждого периода регистрации.

Статистический анализ. Статистический анализ полученных данных выполнен в программе MedCalc Ver. 20.010 (Бельгия). Для представления количественных данных использовались среднее арифметическое (M) и ошибка среднего значения (m) для показателей, имеющих нормальное распределение. Данные, распределение которых отличается от нормального, представлены в виде медианы, минимального и максимального значений, верхнего и нижнего квартиля. Проверка на нормальность распределения проводилась с использованием критерия Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Качественные

Характеристика поражения артерий у обследованных больных (N=19)

Table 2

Characteristics of arterial lesion in the examined patients (N=19)

Артерия	С одной стороны	С обеих сторон	Число больных	
			абс.	%
Общая подвздошная	6	1	7	36,8
Внутренняя подвздошная	5	13	18	94,7
Наружная подвздошная	5	4	9	42,1
Общая бедренная	1	–	1	5,3
Глубокая бедренная	2	–	2	10,6
Поверхностная бедренная	3	7	10	52,6
Артерии голени	2	4	6	31,6

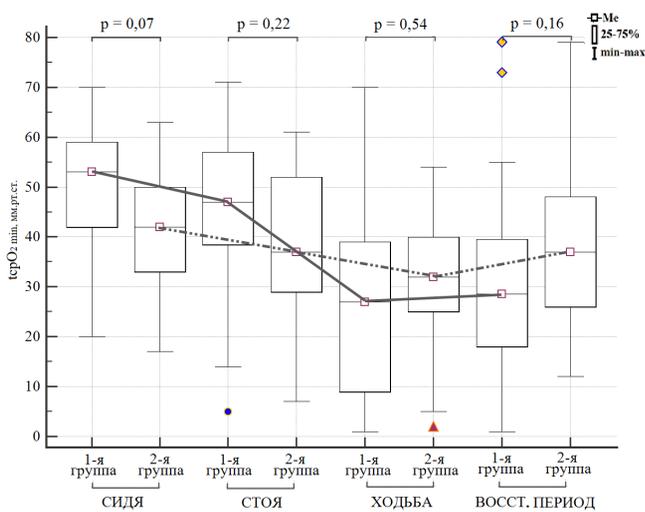


Рис. 1. Показатели транскутанного напряжения кислорода в ягодичной области в покое, при ходьбе и в восстановительном периоде (N=38). Статистический анализ осуществлен с использованием критерия Манна–Уитни

Fig. 1. Levels of transcutaneous oxygen pressure in the gluteal region at rest, during treadmill test and in the recovery period (N=38). The statistical analysis was carried out using the Mann–Whitney criterion

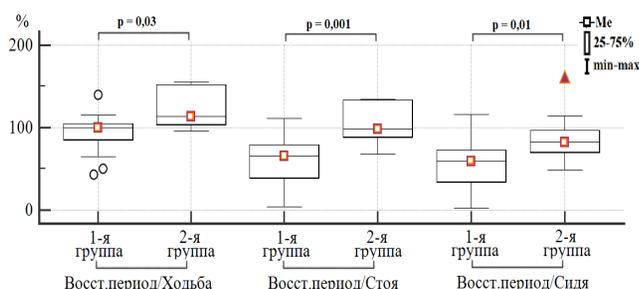


Рис. 2. Показатели отношений транскутанного напряжения кислорода в группах (N=38). Статистический анализ осуществлен с использованием критерия Манна–Уитни

Fig. 2. Levels of transcutaneous oxygen pressure ratios in groups (N=38). The statistical analysis was carried out using the Mann–Whitney criterion

данные представлены в виде абсолютного числа и процента. Оценка значимости различий количественных показателей для трех и более сравнений двух показателей проведена с использованием непараме-

трического U-критерия Манна–Уитни. Уровень статистической значимости различий при количестве сравнений, равном 3, принят при $p < 0,017$, а при 4 сравнениях – $p < 0,0125$ [6]. Для оценки предсказательной способности положительного и отрицательного результатов использованы таблицы сопряженности и метод построения ROC-кривой (уровень статистической значимости принят при $p < 0,05$) с последующим определением площади под ней (AUC – area under the curve) и определением порогового значения исследуемого показателя, соответствующего максимальному значению индекса Юдена. Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013).

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническая характеристика и анамнестические данные обследованных больных представлены в табл. 1.

Среди исследованных больных не было случаев ОСП аорты, характеристика поражения подвздошных артерий и артерий нижних конечностей приведена в табл. 2.

Полученные в результате ТКО у 19 исследуемых пациентов показатели 38 ЯО были разделены на 2 группы: 1-ю (n=24) составили значения $tcpO_{2min}$ в ЯО при наличии у пациента ипсилатерально болевого синдрома по типу ВПХ, а к контрольной, 2-й группе (n=14) отнесены уровни $tcpO_{2min}$ при его отсутствии. Характер распределения показателей отличался от нормального. Медианы уровней $tcpO_{2min}$ в ЯО в выделенных группах приведены на рис. 1.

Между выделенными группами показателей не было выявлено статистически значимых различий абсолютных значений уровня $tcpO_{2min}$ в ЯО. Показатели отношений уровней $tcpO_{2min}$ в восстановительном периоде к таковым в период нагрузки и покоя приведены на рис. 2.

Из приведенных данных следует, что между группами имеются статистически значимые различия только отношений уровней $tcpO_{2min}$ в ВП к аналогичным показателям в покое, в положении сидя и стоя. Медианы этих отношений в 1-й группе составили 59,4 % и 67,6 %, а во 2-й – 82,7 % и 98,4 % со-

Предсказательная способность отношений уровня транскутанного напряжения кислорода в ягодичной области в диагностике ипсилатерального окклюзионно-стенотического поражения магистральных артерий (N=38)

Table 3

Predictive value of the gluteal region transcutaneous oxygen pressure level ratios in the diagnosis of ipsilateral occlusive arterial disease (N=38)

Показатель	Отношение уровней $tcpO_{2\min}$	
	ВП/СТОЯ	ВП/СИДЯ
AUC [ДИ]	0,76 [0,56–0,89]	0,77 [0,60–0,89]
Пороговое значение	≤79,2 %	≤80 %
Индекс Юдена	0,613	0,567
Чувствительность, %	61,3 [42,2–78,2]	71,0 [52,0–85,8]
Специфичность, %	100,0 [59,0–100,0]	85,7 [42,1–99,6]
КП «+»	–	4,97 [0,80–31,0]
КП «–»	0,39 [0,3–0,6]	0,34 [0,2–0,6]
ПЗ «+», %	100 [82,4–100]	95,7 [78,0–99,3]
ПЗ «–», %	70,1 [27,3–47,6]	40,0 [48,6–92,9]
Точность, %	68,4 [51,4–82,5]	73,7 [56,9–86,6]

Примечание: [ДИ] – 95 % доверительный интервал; КП «+» – коэффициент правдоподобия положительного результата теста; КП «–» – коэффициент правдоподобия отрицательного результата теста; ПЗ «+» – прогностическая значимость положительного результата теста; ПЗ «–» – прогностическая значимость отрицательного результата теста.

ответственно. Таким образом, по данным ТКО при пробе с физической нагрузкой отмечается более прогрессивное снижение показателей уровней $tcpO_{2\min}$ в ипсилатеральной ЯО при наличии клинической симптоматики синдрома ВПХ.

Результаты статистического анализа предсказательной способности указанных отношений уровня $tcpO_{2\min}$ в ЯО с целью диагностики ипсилатерального ОСП питающих магистральных артерий представлены в табл. 3.

Дифференциальная диагностика ВПХ часто является сложной задачей из-за наличия у пациента сопутствующих заболеваний, которые могут объяснить имеющиеся симптомы. Вероятно, реальное число пациентов, страдающих этим синдромом, неизвестно из-за отсутствия эффективного метода диагностики, позволяющего подтвердить артериальный генез их жалоб. Больные с коксартрозом и дегенеративно-дистрофическими заболеваниями пояснично-крестцового отдела позвоночника могут иметь сходные симптомы, что затрудняет клиническую дифференциальную диагностику, особенно при их сочетании с нарушением проходимости ВПА. Данные пациенты могут обследоваться на предмет неврологических или ортопедических заболеваний и в ряде случаев подвергаются необоснованным хирургическим вмешательствам без достижения должного клинического результата [1, 7, 8]. Выявление регионарной ишемии ЯО необходимо для дифференциальной диагностики синдрома ВПХ [2, 9].

Современные стандарты диагностики хронической ишемии любой локализации включают в себя комплексную оценку симптомов заболевания, а также объективное инструментальное обследование питающих артерий. Для пациента с перемежающейся хромотой современные клинические рекомендации

предполагают проведение ультразвукового дуплексного сканирования с измерением лодыжечного давления [10]. Основное внимание при исследовании аортоподвздошного сегмента уделяется состоянию проходимости и оценке показателей кровотока в системе «аорта–ОПА–НПА», осуществляющих непосредственное питание нижних конечностей, а исследование проходимости и показателей кровотока в стволе и ветвях ВПА в «рутинном» порядке не производится. В то же время имеются литературные данные, свидетельствующие о высокой информативности ультразвуковой оценки кровотока по ягодичным артериям в целях дифференциальной диагностики синдрома ВПХ [11].

Наряду с АА, являющейся «золотым стандартом» диагностики ОСП магистральных артерий, значительную роль в современной сосудистой хирургии играет КТА, которая может быть выполнена как с целью получения характеристик поражения магистральных артерий, так для диагностики синдрома ВПХ – с помощью метода динамического перфузионного сканирования, позволяющего оценить скорость тканевого кровотока в ягодичных мышцах в состоянии покоя, что было продемонстрировано в проведенном ранее исследовании [1]. Помимо необходимости использования контрастного препарата и лучевой нагрузки, КТА является достаточно дорогостоящим исследованием, что ограничивает ее использование с целью первичной диагностики. По сравнению с вышеперечисленными методами, преимуществом ТКО при пробе с физической нагрузкой является возможность регистрации показателей одновременно с появлением боли.

ТКО является методом оценки микрогемодинамики, при котором мониторинг осуществляется с помощью так называемого электрода Кларка, уста-

новленного на кожу и нагревающего ее, создаваемая при этом локальная реактивная гиперемия вызывает местное усиление кровообращения и диффузию газов через мембрану электрода. В ранее проведенных исследованиях установлено, что измеряемое таким электродом tcpO_2 достоверно коррелирует с напряжением кислорода артериальной крови и количественно характеризует кожный кровоток [3]. Стандартной областью для измерения tcpO_2 с достоверно установленным порогом ишемии является тыл стопы [4].

В доступной литературе имеются единичные исследования, посвященные использованию ТКО в диагностике синдрома ВПХ. Измерение показателей кожного кровотока в наружных квадрантах ЯО имеет свое анатомическое обоснование. Согласно ангиосомной концепции, именно в этой зоне расположены кожно-мышечные ветви перфорантных артерий, прободающих глубокую фасцию и берущих начало от ветвей верхней ягодичной артерии – самой крупной ветви ВПА, питающей большую и среднюю ягодичную мышцы [12]. При гипоперфузии бассейна ВПА важную компенсаторную роль играет сохранение проходимости ее ветвей, осуществляющих связь с основными коллатеральными артериями, прежде всего глубокой артерией бедра и люмбальными артериями. При окклюзии ствола ВПА и сохранении проходимости ее ветвей коллатеральное кровоснабжение из других бассейнов может происходить на достаточном функциональном уровне [13–15].

В связи с тем, что низкие абсолютные значения $\text{tcpO}_{2\text{min}}$ могут быть не только результатом артериального ОСП, но и высокого чрескожного градиента или системной гипоксии, целесообразнее использовать отношения показателей, которые позволяют количественно оценить динамику изменений $\text{tcpO}_{2\text{min}}$, связанных с физической нагрузкой. Анализ полученных данных показал, что при снижении уровня $\text{tcpO}_{2\text{min}}$ в ЯО в восстановительном периоде после физической нагрузки на 20 % и более от исходного, измеренного в положении сидя, обладает точностью 74 %, а показатели чувствительности и специфичности в диагностике ОСП аорты, ОПА, ВПА составляют 71 и 86 % соответственно. В представленном исследовании при наличии синдрома ВПХ динамика снижения уровня $\text{tcpO}_{2\text{min}}$ в ВП относительно исходного в положении сидя, вероятно, отражает развитие регионарной гипоперфузии, приводящей к сохранению ишемии ягодичных мышц после прекращения физической нагрузки, вследствие недостаточной эффективности коллатерального кровоснабжения.

Ограничения. Проведенное исследование носило одноцентровой ретроспективный характер. Исследованная группа пациентов относительно небольшая, что могло повлиять на результаты статистического анализа. В проведенном исследовании аппаратные возможности были представлены 2 каналами получения информации от электродов. Современные аппараты для ТКО могут быть оснащены пятью электродами, позволяя одновременно регистрировать изменения уровня tcpO_2 в ЯО и на стопах, а также в области груди, для учета потенциальных системных

изменений напряжения кислорода артериальной крови, связанных с физической нагрузкой [4].

Заключение

Метод ТКО позволяет оценить степень выраженности регионарной гипоперфузии отдельных сегментов нижних конечностей при физической нагрузке и может быть использован для первичной дифференциальной диагностики синдрома ВПХ, вызванного ОСП брюшной аорты, ОПА, ВПА.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Бедров А.Я., Моисеев А.А., Белозерцева А.В. и др. Роль проходимости внутренних подвздошных артерий в развитии синдрома высокой перемежающейся хромоты в отдаленном периоде после резекции аневризмы интравенальной сегмента аорты // *Вестн. хир. им. И. И. Грекова*. – 2019. – Т. 178, № 4. – С. 34–41. [Bedrov AY, Moiseev AA, Belozertseva AV, Morozov AN, Khubulava GG, Pugachenko YuA, Baykova AV. The patency of internal iliac arteries and its role in the development of buttock claudication syndrome in the remote period after open infrarenal aortic aneurysm repair. *Grekov's Bull Surg*. 2019;178(4):34-41. (in Russ.)]. Doi: 10.24884/0042-4625-2019-178-4-34-41.
2. Mahé G, Kaladji A, Le Faucheur A, Jaquinandi V. Internal Iliac Artery Stenosis: Diagnosis and How to Manage it in 2015. *Front Cardiovasc Med*. 2015;2:33. Doi: 10.3389/fcvm.2015.00033.
3. Abraham P, Picquet J, Vielle B, Sigaudou-Roussel D, Paisant-Thouveny F, Enon B, Saumet JL. Transcutaneous oxygen pressure measurements on the buttocks during exercise to detect proximal arterial ischemia: comparison with arteriography. *Circulation*. 2003;107(14):1896-1900. Doi: 10.1161/01.CIR.0000060500.60646.E0.
4. Abraham P, Ramondou P, Hersant J, Sempore WY, Feuilloy M, Henni S. Investigation of arterial claudication with transcutaneous oxygen pressure at exercise: Interests and limits. *Trends Cardiovasc Med*. 2021;31(4):218-223. Doi: 10.1016/j.tcm.2020.03.003.
5. Koch C, Chauve E, Chaudru S, Le Faucheur A, Jaquinandi V, Mahé G. Exercise transcutaneous oxygen pressure measurement has good sensitivity and specificity to detect lower extremity arterial stenosis assessed by computed tomography angiography. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(36):e4522. Doi: 10.1097/MD.0000000000004522.
6. Гржибовский А.М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // *Экология человека*. – 2008. – Т. 144, № 3. – С. 50–58. [Grjibovskiy AM. Analysis of three and more independent groups of quantitative data. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2008;144(3):50-58. (in Russ.)].
7. Han SH, Jeon CH, Lee DH, Choo HS, Chung NS. Clinical and radiological characteristics of concomitant peripheral arterial obstructive disease in patients with lumbar spinal stenosis. *Pain physician*. 2013;16(5):513-520.
8. Kauppila LI. Atherosclerosis and disc degeneration/low-back pain: a systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;37(6):661-670. Doi: 10.1016/j.ejvs.2009.02.006.
9. Mahe G, Kalra M, Abraham P, Liedl DA, Wennberg PW. Application of exercise transcutaneous oxygen pressure measurements for detection of proximal lower extremity arterial

disease: a case report. *Vasc Med.* 2015;20(3):251-255. Doi: 10.1177/1358863X14567030.

10. Mahé G, Jaquinandi V. *Artériopathie des membres inférieurs athéromateuse : diagnostic [Diagnosis of lower limb peripheral artery disease]. Presse Med.* 2018;47(1):47-55. Doi: 10.1016/j.lpm.2017.09.021.

11. Bruninx G, Salame H, Wery D, Delcour C. *Le Doppler des artères fessières. Un outil efficace pour exclure une pathologie artérielle fessière et un complément important du Doppler des membres inférieurs [Doppler study of gluteal arteries. A useful tool for excluding gluteal arterial pathology and an important adjunct to lower limb Doppler studies]. J Mal Vasc.* 2002;27(1):12-17.

12. Pan WR, Taylor GI. *The angiosomes of the thigh and buttock. Plast Reconstr Surg.* 2009;23(1):236-249. Doi: 10.1097/PRS.0b013e3181934873.

13. Nitta J, Hoshina K, Isaji T. *Changes in blood flow distribution after hypogastric artery embolization and the ischaemic tolerance of the pelvic circulation. Medicine.* 2019;98(5):e14214. Doi: 10.1097/MD.00000000000014214.

14. Kudo T. *How Do We Evaluate Pelvic Circulation and Predict Buttock Claudication? Circ J.* 2021;85(4):351-352. Doi: 10.1253/circj.CJ-21-0067.

15. Mell M, Tefera G, Schwarze M, Carr S, Acher C, Hoch J, Turnipseed W. *Absence of buttock claudication following stent-graft coverage of the hypogastric artery without coil embolization in endovascular aneurysm repair. J Endovasc Ther.* 2006;13(3):415-419. Doi: 10.1583/06-1849.1.

Информация об авторах

Моисеев Алексей Андреевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры, сосудистый хирург, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: moiseev85@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9923-4688.

Бедров Александр Ярославович, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры, заведующий отделением сосудистой хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия e-mail: abedrov@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8382-1127.

Крутиков Александр Николаевич, канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: ankrutikov@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-6897-6171.

Попов Гурий Иванович, канд. мед. наук, ассистент кафедры, сосудистый хирург, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: trek-4300@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-6334-7456.

Супрунович Андрей Александрович, канд. мед. наук, ассистент кафедры, врач УЗ-диагностики, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: doctoras@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3749-0379.

Крейль Виктор Августович, канд. мед. наук, рентген-эндоваскулярный хирург, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: kreil.victor@yandex.ru.

Белозерцева Анастасия Валерьевна, врач-рентгенолог, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: anbeloz@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9367-9918.

Белова Ксения Александровна, сосудистый хирург, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: ksens96@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5081-8148.

Верт Алисия Сергеевна, студент 6-го курса лечебного факультета, e-mail: vertalisa@icloud.com, ORCID: 0009-0004-2491-8577.

Хубулава Геннадий Григорьевич, академик РАН, д-р мед. наук, профессор, зав кафедрой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: ggkh07@rambler.ru, ORCID: 0000-0002-9242-9941.

Authors information

Moiseev Alexey A. – Cand. (PhD) Med. Sci., Department Assistant, Vascular Surgeon, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: moiseev85@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9923-4688.

Bedrov Alexander Ya. – Dr. Med. Sci., Associate Professor, Vascular Surgeon; Head, Department of Vascular Surgery, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: abedrov@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8382-1127.

Krutikov Alexander N. – Cand. (PhD) Med. Sci., Leading Research Fellow, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: ankrutikov@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-6897-6171.

Popov Guriy I. – Med. Sci., Department Assistant, Vascular Surgeon, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: trek-4300@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-6334-7456.

Suprunovich Andrei A. – Cand. (PhD) Med. Sci., Department Assistant, Doctor of Ultrasonography, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: doctoras@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3749-0379.

Kreil Victor A. – Cand. (PhD) Med. Sci., Endovascular Surgeon, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: kreil.victor@yandex.ru.

Belozertseva Anastasia V. – Radiologist, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: anbeloz@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9367-9918.

Belova Ksenia A. – Vascular Surgeon, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: ksens96@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5081-8148.

Vert Alisia S. – Medical Student, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: vertalisa@icloud.com, ORCID: 0009-0004-2491-8577.

Khbulava Gennadiy G. – Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Med. Sci., Professor, Head of Department, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: ggkh07@rambler.ru, ORCID: 0000-0002-9242-9941.

УДК 57.084.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-64-69

Ю. А. ТАМИНКИНА¹, Н. Н. ПАВЛИЧЕНКО¹,
Е. Г. ГИЛЕРОВИЧ², О. В. КИРИК², Д. Э. КОРЖЕВСКИЙ²

Опыт использования интракраниального введения эндотелина-1 для индукции ишемического повреждения головного мозга у крыс при оценке эффективности клеточной терапии

¹ Общество с ограниченной ответственностью «Транс-Технологии», Санкт-Петербург, Россия
192148, Россия, Санкт-Петербург, Железнодорожный пр., д. 40

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12
E-mail: taminkina.yulia@gmail.com

Статья поступила в редакцию 19.11.23 г.; принята к печати 12.02.24 г.

Резюме

Введение. Ишемический инсульт занимает одно из первых мест среди причин инвалидизации и смертности населения. Одним из перспективных новых терапевтических методов является клеточная терапия. Для изучения клеточной терапии в лабораторных условиях важно выбрать подходящую экспериментальную модель инсульта. Экспериментальная модель с применением эндотелина-1 позволяет получить повреждение в корковых и подкорковых структурах мозга и при этом обладает малой травматичностью и относительной простотой в исполнении. **Цель** – оценить пригодность модели ишемического инсульта, воспроизведенной с помощью эндотелина-1, для анализа влияния клеточной терапии на восстановительные процессы. **Материалы и методы.** Самцы крыс линии Вистар-Киото были распределены по группам: ложная операция (n=4), контроль (n=4), клеточный контроль (n=9), клеточная терапия (n=8). Для оценки повреждения использовали методы морфометрии и иммуногистохимии с антителами к NeuN, GFAP, нестину и виментину. **Результаты.** Установлено, что данная модель вызывает ишемическое повреждение в области, близкой к месту инъекции, с характерными клеточными реакциями. При определении объема повреждения обнаружена выраженная внутригрупповая вариабельность, что не позволило подтвердить ожидаемый эффект клеточной терапии. **Заключение.** Эндотелиновая модель ишемии головного мозга пригодна для изучения клеточных реакций, развивающихся после ишемического инсульта, однако значительная вариабельность объема повреждения не позволяет ее рекомендовать для количественной оценки эффектов клеточной терапии.

Ключевые слова: инсульт, эндотелин-1, ишемическое повреждение, клеточная терапия

Для цитирования: Таминкина Ю. А., Павличенко Н. Н., Гилерович Е. Г., Кирик О. В., Коржевский Д. Э. Опыт использования интракраниального введения эндотелина-1 для индукции ишемического повреждения головного мозга у крыс при оценке эффективности клеточной терапии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):64–69. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-64-69.

Yu. A. TAMINKINA¹, N. N. PAVLICHENKO¹,
E. G. GILEROVICH², O. V. KIRIK², D. E. KORZHEVSKY²

Experience of using intracranial introduction of endothelin-1 for inducing ischemic brain damage in rats to evaluate cell therapy efficacy

¹ Trans-Tekhnologii, Saint Petersburg, Russia
40, Zheleznodorozhniy ave., Saint Petersburg, Russia, 192148

² Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia
12, Akademika Pavlova str., Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: taminkina.yulia@gmail.com

Received 19.11.23; accepted 12.02.24

Summary

Introduction. Ischemic stroke is one of the leading cause of disability and death. One of the promising therapeutic methods is cell therapy. The choice of an appropriate experimental stroke model is of great importance for studying the restorative effect of cell therapy in the laboratory. An experimental model using endothelin-1 allows to induce damage in the cortical and subcortical brain structures, while being relatively easy to perform and less traumatic. **Aim.** To assess the effectiveness of an

ischemic stroke model reproduced using endothelin-1 to analyze the results of general cellular therapy on recovery processes. *Materials and Methods.* Male Wistar-Kyoto rats were divided into groups: sham operation (n=4), ischemia control (n=4), cell control (n=9), cell therapy (n=8). Damage was assessed by using morphometry and immunohistochemistry with antibodies against NeuN, GFAP, nestin, and vimentin. *Results.* It has been established that this model causes ischemic damage in the area close to the injection site with characteristic cellular reactions. Assessing the size of the damage showed a large within-group variability, which did not allow us to confirm the expected effect of the cell therapy. *Conclusion.* The endothelin model of cerebral ischemia is suitable for studying the cellular reactions that develop after ischemic stroke, but the significant variability in the volume of damage does not allow it to be recommended for quantitative assessment of the effects of cell therapy.

Keywords: stroke, endothelin-1, ischemic injury, cell therapy

For citation: Taminkina Yu. A., Pavlichenko N. N., Gilerovich E. G., Kirik O. V., Korzhevsky D. E. Experience of using intracranial introduction of endothelin-1 for inducing ischemic brain damage in rats to evaluate cell therapy efficacy. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):64–69. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-64-69.

Введение

Наиболее распространенной причиной нарушений функций головного мозга является ишемия [1]. На сегодняшний день в литературе описано множество методов для индукции ишемического повреждения, с помощью которых можно воспроизводить различные клинические случаи [2–5]. Однако подбор адекватной модели инсульта является сложной задачей. Особую важность выбор модели приобретает, если планируется изучение действия нового терапевтического агента или способа лечения, поскольку требуется получить ишемическое повреждение нервной ткани определенной степени тяжести в заданной области мозга.

Одним из перспективных подходов к воспроизведению ишемического повреждения мозга может быть применение эндотелина-1 в качестве сосудосуживающего средства, которое обеспечивает транзиторную ишемию в областях мозга, близких к месту инъекции. Преимущество метода перед наиболее распространенной моделью окклюзии средней мозговой артерии (СМА) [6–9] заключается в том, что вещество проникает непосредственно в ткань мозга в заданной точке, это позволяет не учитывать индивидуальные особенности ветвления СМА, которые могут иметь место даже у линейных крыс [2]. С помощью данного метода можно стандартизовать локализацию и объем ишемического повреждения, варьируя дозу и количество точек введения эндотелина-1 по стереотаксическим координатам [10]. Данная модель экспериментального инсульта должна характеризоваться малой травматичностью, хорошими показателями выживания животных в эксперименте и возможностью моделирования повреждения практически в любых корковых и подкорковых структурах мозга [3, 11–13]. Именно поэтому она может быть предпочтительной для исследования новых методов лечения ишемического повреждения, например клеточной терапии [14, 15].

Цель нашей работы состояла в том, чтобы проверить пригодность модели ишемического инсульта, воспроизведенной с помощью эндотелина-1, для анализа влияния клеточной терапии на восстановительные процессы.

Материалы и методы исследования

Исследовали головной мозг крыс-самцов линии Вистар-Киото (250–300 г, 3–4 месяца, *Charles River Laboratories, EastLothian, UK*). Научная работа про-

водилась на базе лаборатории Institute of Neuroscience (*Newcastle University, UK*), лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии ФГБНУ ИЭМ (Санкт-Петербург, Россия) и научного отдела ООО «Транс-Технологии» (Санкт-Петербург, Россия).

Моделирование ишемического инсульта головного мозга крысы. Для проведения экспериментального инсульта использовали интракраниальное введение в мозг крысы эндотелина-1 (endothelin-1 (ET-1), Sigma E7764). Протокол экспериментов одобрен Локальным этическим комитетом при ФГБНУ ИЭМ (протокол № 3/19 от 25.04.2019 г.). Все манипуляции с животными проводили под общей анестезией в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (CIOMS, Geneva, 1985 г.). Голова крысы фиксировалась в стереотаксической системе (DualM, *RWD, Китай*). Согласно выбранным координатам, делали отверстия в костях черепа с помощью бормашины. Через них шприцем Гамильтона в ткань мозга вводили эндотелин-1 в физиологическом растворе в концентрации 400 пМоль/мкл [11] в три участка последовательно: первичная моторная кора, первичная соматосенсорная кора и стриатум (на уровнях +0,2 мм, +2,2 мм и +0,7 мм относительно брегмы соответственно), по 2 инъекции объемом 1 мкл в каждую область [16]. Эффект введения контролировали при помощи лазерной доплерографии (лазерный флоуметр BLF21 (*Transonic, США*)), резкое снижение кровотока (на 90 %) в месте введения считали показателем успешно проведенной манипуляции [11].

В группе «ложная операция» (ЛО, n=4) животным проводили все манипуляции по моделированию ишемического повреждения, но без введения эндотелина-1. В группе контроля животным после инъекции эндотелина-1 вводили в хвостовую вену 0,8 мл физиологического раствора (n=4), в группе клеточного контроля (n=9) и группе клеточной терапии (n=8) животным после инъекции эндотелина-1 вводили в хвостовую вену фибробласты дермы человека (ФБДч) и мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) в физиологическом растворе соответственно [17–19].

Культивирование ММСК и фибробластов дермы человека. ММСК человека и ФБДч были предоставлены банком стволовых клеток ООО «Транс-

Технологии». После размораживания клетки наращивали по общепринятой методике [20]. ММСК культивировали в полной ростовой среде, содержащей α MEM (Minimum essential medium, Alpha modification) (79 %), FBS (Fetal bovine serum) (20 %), раствор пенициллина и стрептомицина (1 %) (*HyClone*, Новая Зеландия) и bFGF (Basic fibroblast growth factor, *Sigma*, Германия) (0,01 %). ФБДч культивировали в полной ростовой среде, содержащей dMEM (Minimum essential medium, d modification) (88 %), FBS (10 %), L-glutamine (1 %), раствор пенициллина и стрептомицина (1 %) (*HyClone*, Новая Зеландия). Для внутривенных введений клетки в количестве 2×10^6 ресуспендировали в 0,8 мл физиологического раствора.

Иммунофенотипирование ММСК и фибробластов дермы человека. Клетки фенотипировали на проточном цитофлуориметре Epics XL (*Beckman Coulter*, США). ММСК КМ человека характеризовали на наличие следующих маркеров: CD90 (PE-Cy5, R-Phycoerythrin-Cyanin 5), CD44 (FITC, Fluorescein isothiocyanate), CD105 (PE, R-Phycoerythrin) (*Beckman Coulter*, США) и CD73 (PE, Becton Dickinson Biosciences, США). Также анализировали клетки на отсутствие маркеров гемопоэтических клеток CD34 (PE), CD45 (FITC), CD11b (FITC), CD14 (PE) (*Beckman Coulter*, США). Для фенотипирования ФБДч использовали моноклональные антитела CD90 (PE-Cy5, *Beckman Coulter*, США). Жизнеспособность всех клеток определяли по отсутствию окраски 7AAD (7-Aminoactinomycin D, *Beckman Coulter*, США). Анализ данных проводили в программе Kaluza (*Beckman Coulter*, США).

Гистологическое исследование. На 15-е сутки после экспериментального инсульта [21] наркотизированным животным проводили интракардиальную перфузию 4 % раствором параформальдегида (PFA) на фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4). Затем аккуратно вскрывали черепную коробку, извлекали мозг и погружали его на одни сутки в свежий раствор PFA. Обезвоживание и заливку в парафин проводили по общепринятой методике. При помощи микротома получали фронтальные срезы толщиной 10 μ m. Срезы монтировали на покрытые поли-L-лизинном предметные стекла. В качестве обзорной окраски использовали окрашивание толуидиновым синим по Нисслю.

Иммуногистохимическое окрашивание срезов головного мозга. Все постановки иммуногистохимических реакций проводили после стандартной процедуры депарафинирования, регидратации и высокотемпературного демаскирования в модифицированном цитратном буфере S1700 (*Dako*, Дания) с последующим блокированием эндогенной пероксидазы 3 % раствором перекиси водорода. Для иммуногистохимического выявления зрелых нейронов головного мозга использовали моноклональные мышиные антитела к ядерному белку нервных клеток NeuN (*Chemicon*, США). Для определения глиальной реакции использовали поликлональные кроличьи антитела к глиальному фибриллярному кислому белку (ГФКБ) (RTU, *Agilent*, США); моноклональные мышиные антитела к виментину (*Agilent*, США);

моноклональные мышиные антитела к нестину (*BD Pharmingen*, США).

Для выявления первичных антител для световой микроскопии использовали набор Reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (*Spring Bioscience*, США). Визуализацию реакции проводили с использованием диаминобензидинового хромогена (DAB+, *Agilent*, США). После проведения иммуноцитохимических реакций часть срезов докрашивали гематоксилином.

Анализ препаратов и получение цифровых изображений проводили используя микроскоп Leica DM750 (*Leica*, Германия) и цифровую камеру ICC50 (*Leica*, Германия). Анализ результатов иммунофлуоресцентной реакции проводили с помощью лазерного конфокального микроскопа LSM 800 (*Zeiss*, Германия) и программы Zen-2012 (*Zeiss*, Германия). Морфометрические измерения проводились в программе ImageJ (НИИ).

Расчет объема повреждения и статистическая обработка данных. Оценку объема повреждения проводили на препаратах, окрашенных толуидиновым синим по Нисслю, в программе Image Scope (*Leica Biosystems*, США). Для каждого препарата рассчитывали среднюю площадь повреждения. Полученные значения использовали в стандартной формуле для расчета объема повреждения при ручном подсчете:

$$V_{\text{повр}} = L \times (N-1) \times \text{СУММАС}_{\text{повр}}$$

где $V_{\text{повр}}$ – объем поврежденной части мозга; L – расстояние между срезами, на которых проводили измерение площади повреждения; N – количество срезов, на которых подсчитывали площадь повреждения.

Статистическая обработка данных проведена в программе StatGraphics Centurion (*StatPoint Inc.*, США). Данные представлены в виде медианы (межквартильный размах – МКР). В случае соблюдения условий нормальности распределения и равенства дисперсий (оценивались при помощи критериев Шапиро–Уилка и Бартлета) проводили дисперсионный анализ. Если условия применения дисперсионного анализа не соблюдались, использовали критерий Краскела–Уоллиса. При обнаружении статистически значимого отличия между группами, проводили апостериорное сравнение данных (после дисперсионного анализа – тест Тьюки, после теста Краскела–Уоллиса – критерий Манна–Уитни–Вилкоксона). Критическим уровнем значимости был принят $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Иммунофенотип ММСК и фибробластов дермы человека. ММСК характеризовались экспрессией специфических маркеров CD90, CD44, CD105, CD73, количество таких клеток составляло более 95 % от всей популяции (рис. 1, а–з). При этом они были негативны по маркерам (менее 2 %), характерным для гемопоэтических клеток CD34, CD45, CD11b, CD14 (рис. 1, д, е). Более 95 % клеток культуры фибробластов дермы человека были иммунопозитивными к CD90 (рис. 1, з).

Характеристика гистологического материала. У животных из группы ЛО в нервной ткани головного мозга отсутствовали очаговые изменения и при-

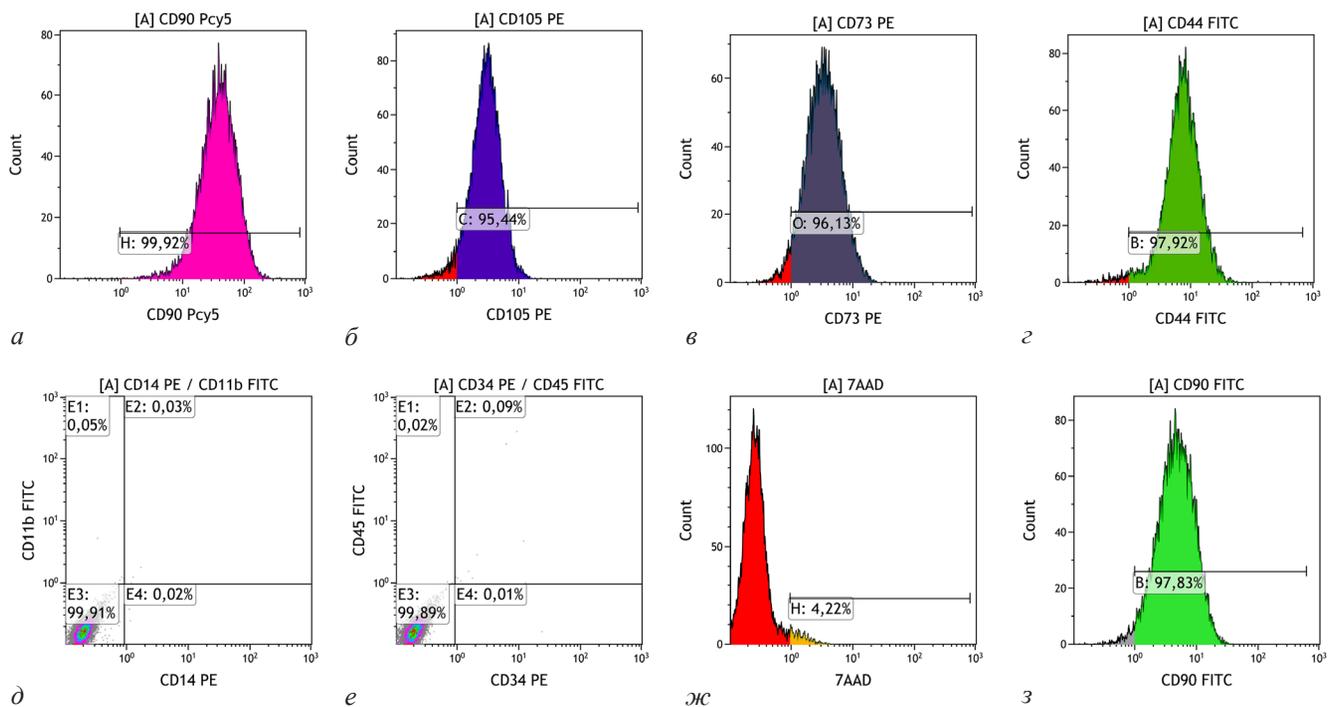


Рис. 1. Результат иммунофенотипирования клеток. Иммунофенотип мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток: *a* – количество CD90⁺ клеток от всей популяции мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток составляет 99,92 %; *б* – CD105⁺ клеток – 95,44 %; *в* – CD73⁺ клеток – 96,3 %; *г* – CD44⁺ клеток – 97,92 %; *д* – CD14⁺ клеток – 0,05 %, CD11b⁺ клеток – 0,08 %; *е* – CD45⁺ клеток – 0,11 %, CD34⁺ клеток – 0,1 %; *ж* – 7AAD⁺ клеток – 4,22 %. Иммунофенотип фибробластов кожи человека; *з* – количество CD90⁺ клеток от всей популяции фибробластов кожи человека – 97,83 %

Fig. 1. Result of cell immunophenotyping. Immunophenotype multipotent mesenchymal stromal cells: *a* – the number of CD90⁺ cells from the entire Immunophenotype multipotent mesenchymal stromal cells population is 99.92 %; *б* – CD105⁺ cells – 95.44 %; *в* – CD73⁺ cells – 96.3 %; *г* – CD44⁺ cells – 97.92 %; *д* – CD14⁺ cells – 0.05 %, CD11b⁺ cells – 0.08 %; *е* – CD45⁺ cells – 0.11 %, CD34⁺ cells – 0.1 %; *ж* – 7AAD⁺ cells – 4.22 %. Immunophenotype human dermal fibroblasts; *з* – the number of CD90⁺ cells from the entire human dermal fibroblasts population is 97.83 %



Рис. 2. Сканированные изображения мозга крысы. Иммуногистохимическая реакция против глиального фибриллярного кислого белка (1), виментина (2) и нестина (3). Масштабный отрезок равен 3 мм

Fig. 2. Rat brain scans. Immunohistochemistry reaction against glial fibrillary acidic protein (1), vimentin (2) and nestin (3). The scale line is 3 mm

знаки дегенерации нейронов. В зависимости от локализации очага ишемии и степени деструкции ткани различали два типа дефекта: небольшое повреждение (затрагивало неокортекс, преимущественно соматосенсорную и моторную области, иногда стриатум) и значительное повреждение (затрагивало большую часть неокортекса, наружную капсулу и хвостатое ядро). При значительном повреждении наблюдалась очаговая некротическая деструкция ткани, сопровождающаяся выраженной воспалительной реакцией.

Подсчет объема повреждения проводили во всех группах, кроме ЛО (n=21). Статистически значимой разницы в размере повреждения между группами не обнаружено (критерий Краскела–Уоллиса, $H=2,6$, $p=0,27$).

Размер инфаркта мозга существенно отличается у животных в пределах индивидуальных групп: ме-

диана (верхний и нижний квартили) в контрольной группе составляет 0,96 (0,00; 5,40), в группе с введением ФБДч – 3,60 (2,98; 762,3), в группе клеточной терапии – 0,13 (0,01; 8,13).

Мы обнаружили, что NeuN-позитивные нейроны в ядре инфаркта полностью отсутствуют. Оценку морфофункционального состояния астроглии проводили с помощью иммуногистохимической реакции на белки промежуточных филаментов ГФКБ, виментин и нестин. На препаратах ГФКБ-иммунопозитивные клетки были равномерно распределены по всей площади среза ткани мозга. Вблизи области повреждения наблюдалась более яркая реакция (рис. 2, 1). Виментин-иммунопозитивная реакция регистрировалась в эндотелии сосудов, эпендиме и в клетках, расположенных в виде широкой ленты по границе повреждения (рис. 2, 2), также в этой пограничной

области отмечали присутствие нестин-иммунопозитивных клеток (рис. 2, 3).

Проведенное исследование подтвердило, что порядок действий по воспроизведению экспериментального инсульта с введением эндотелина-1 достаточно прост и не требует специальных навыков в области хирургии. При этом такой подход занимает гораздо меньше времени и менее травматичен по сравнению с операцией по проведению прямой коагуляции СМА [22]. Стоит, конечно, принять во внимание, что для введения эндотелина-1 в ткань головного мозга необходимо нарушить целостность костей черепа. Однако такие действия по нашему наблюдению не влияют на дальнейшую жизнедеятельность животных, в отличие от экспериментального инсульта с прямой коагуляцией СМА, где может происходить повреждение жевательных мышц, что затрудняет самостоятельный прием пищи. В результате сложной и долгой операции (перманентная окклюзия СМА) увеличивается число летальных исходов. Таким образом, по уровню технической сложности модель с использованием эндотелина-1 является сравнительно простой.

При введении эндотелина-1 были получены инфаркты, затрагивающие кору и глубокие структуры головного мозга. По границе повреждения находится зона ишемической полутени, или пенумбра, в которой располагаются клетки, имеющие потенциальные возможности к восстановлению. В большинстве случаев терапия постинсультного состояния, включая клеточную терапию, направлена на поддержание жизнеспособности нейронов именно в этой области. В случае успешного лечения происходит восстановление пограничной к очагу инфаркта ткани и область дефекта уменьшается, в случае неудачного лечения – увеличивается. В нашем исследовании наблюдалась большая вариабельность размеров повреждения, что не позволило нам установить положительные эффекты от использования клеточной терапии. По литературным данным получение устойчивого результата после введения эндотелина-1 (значительное снижение кровотока в месте введения) возможно при проведении инфузии на расстоянии не более чем 0,5 мм от сосуда [11, 23]. Возможно, причиной плохой воспроизводимости модели является наличие индивидуальной изменчивости ветвления дистальных частей СМА, которая встречается даже у линейных животных [4]. Нельзя исключить и влияние партий эндотелина-1, используемых в эксперименте [23].

Другая возможная причина полученной вариабельности – разная чувствительность животных к введению эндотелина-1 [12, 23, 24]. Возможно, что для получения однородных по объему повреждений мозга при использовании эндотелина-1 критически важен объем мозга экспериментального животного.

Несмотря на то, что данная модель воспроизводится у крыс со значительной вариабельностью объема повреждения, полученный материал позволяет провести оценку клеточных реакций, возникающих в ответ на ишемический инсульт [14]. Это заключение подтверждается присутствием различных типов клеток нервной ткани, претерпевающих реактивные изменения в отдаленный постинсультный период

(15 суток). Используемая модель позволяет провести анализ интересующих областей с возможностью количественной оценки различных популяций клеток, что соответствует рекомендациям STAIR [25]. Вероятно, негативные моменты, связанные с вариабельностью размеров области инсульта при использовании эндотелина-1, отсутствуют в случае применения этого вазоконстриктора в остром эксперименте [26, 27].

Заключение

В представленной работе показано, что модель с внутрикраниальным введением эндотелина-1 технически легко воспроизводима в сравнении с другими методами индукции фокальной ишемии головного мозга. Модель пригодна для изучения клеточных реакций, развивающихся после ишемического инсульта, но в связи со значительной вариабельностью объемов повреждений нервной ткани, не может рассматриваться в качестве модели выбора для оценки влияния клеточной терапии.

Финансирование / Financing

Работа выполнена при финансировании из средств Госзадания ФГБНУ «ИЭМ» и ООО «Транс-Технологии». / The work was carried out with financing from the funds of the state contract of the Institute of Experimental Medicine and LLC «Trans-Technologies».

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Моделирование одностороннего ишемического повреждения нейронов стриатума с помощью непродолжительной окклюзии средней мозговой артерии / Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Байса А.Е., Власов Т.Д. // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. – 2009. – Т. 147, № 2. – С. 255–256. [Korzhevskii DE, Kirik OV, Baisa AE, Vlasov TD. Simulation of unilateral ischemic injury to the striatal neurons inflicted by short-term occlusion of the middle cerebral artery. *Bull Exp Biol Med.* 2009;147(2):255-256. (in Russ.)].
2. Carmichael ST. Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose. *NeuroRx.* 2005;2(3):396-409. Doi: 10.1602/neurorx.2.3.396.
3. Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Devel Ther.* 2015;9:3445-3454. Doi: 10.2147/DDDT.S56071.
4. Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.* 2017;133(2):245-261. Doi: 10.1007/s00401-017-1667-0.
5. Полякова Е.А., Дранишников Н.В., Власов Т.Д. Метод моделирования обратимой окклюзии средней мозговой артерии // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2009. – Т. 13, № 3. – С. 61–63. [Polyakova EA, Dranishnikov NV, Vlasov TD. Method of modeling reversible occlusion of the middle cerebral artery. *Regional circulation and microcirculation.* 2009;13(3):61-63. (in Russ.)].
6. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга : монография / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 327 с. [Gusev EI, Skvortsova VI. *Cerebral ischemia: monograph.* Moscow, 2001:327. (in Russ.)].
7. Macrae IM. Preclinical stroke research - advantages and disadvantages of the most common rodent models of fo-

cal ischaemia. *Br J Pharmacol.* 2011;164(4):1062-1078. Doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01398.x.

8. Llovera G, Roth S, Plesnila N, Veltkamp R, Liesz A. Modeling stroke in mice: Permanent coagulation of the distal middle cerebral artery. *J Vis Exp.* 2014;(89):e51729. Doi: 10.3791/51729.

9. Sokolowski JD, Soldozy S, Sharifi KA, Norat P, Kearns KN, Liu L, Williams AM, Yağmur K, Mastorakos P, Miller GW, Kalani MYS, Park MS, Kellogg RT, Tvrđik P. Preclinical models of middle cerebral artery occlusion: new imaging approaches to a classic technique. *Front Neurol.* 2023;14:1170675. Doi: 10.3389/fneur.2023.1170675.

10. Abeysinghe HCS, Roulston CL. A complete guide to using the endothelin-1 model of stroke in conscious rats for acute and long-term recovery studies. *Methods Mol Biol.* 2018;1717:115-133. Doi: 10.1007/978-1-4939-7526-6_10.

11. Ansari S, Azari H, Caldwell KJ, Regenhardt RW, Hedna VS, Waters MF, Hoh BL, Mecca AP. Endothelin-1 induced middle cerebral artery occlusion model for ischemic stroke with laser doppler flowmetry guidance in rat. 2013;(72):500014. Doi: 10.3791/50014.

12. Horie N, Maag A-L, Hamilton SA, Shichinohe H, Bliss TM, Steinberg GK. Mouse model of focal cerebral ischemia using endothelin-1. *J Neurosci Methods.* 2008;173(2):286-290. Doi: 10.1016/j.jneumeth.2008.06.013.

13. Wang Y, Jin K, Greenberg DA. Neurogenesis associated with endothelin-induced cortical infarction in the mouse. *Brain Res.* 2007;1167:118-122. Doi: 10.1016/j.brainres.2007.06.065.

14. Lowrance SA, Fink KD, Crane A, Matyas J, Dey ND, Matchynski JJ, Thibo T, Reinke T, Kippe J, Hoffman C, Sandstrom M, Rossignol J, Dunbar GL. Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate cognitive deficits in an endothelin-1 rat model of stroke. *Restor Neurol Neurosci.* 2015;33(4):579-588. Doi: 10.3233/RNN-130329.

15. Ejma M, Madetko N, Brzecka A, Alster P, Budrewicz S, Koszewicz M, Misiuk-Hojło M, Tomilova IK, Somasundaram SG, Kirkland CE. The Role of Stem Cells in the Therapy of Stroke. *Curr Neuropharmacol.* 2022;20(3):630-647. Doi: 10.2174/1570159X19666210806163352.

16. Paxinos G, Watson Ch. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* 7th Edition. San Diego, Acad Press. 2013:472.

17. Russell WMS, Birch RL. *The principles of humane experimental technique.* London, Methuen & Co, 1959:238.

18. Zutphen BF, Valk JB. Education and training: a basis for the introduction of the Three Rs alternatives into animal research. *Altern Lab Anim.* 1995;23(1):123-127.

19. Yamaguchi S, Yoshida M, Horie N, Satoh K, Fukuda Y, Ishizaka S, Ogawa K, Morofuji Y, Hiu T, Izumo T, Kawakami S, Nishida N, Matsuo T. Stem Cell Therapy for Acute/Subacute Ischemic Stroke with a Focus on Intraarterial Stem Cell Transplantation: From Basic Research to Clinical Trials. *Bioengineering (Basel).* 2022;10(1):33. Doi: 10.3390/bioengineering10010033.

20. Penfornis P, Pochampally R. Isolation and expansion of mesenchymal stem cells/multipotential stromal cells from human bone marrow. *Methods Mol Biol.* 2011;698:11-21. Doi: 10.1007/978-1-60761-999-4_2.

21. Колтакова М.Э., Фильченко И.А., Трайковский А. и др. Особенности поведения в восьмирукавном лабиринте на фоне изменений активности микроглии полосатого тела после моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 92–96. [Koltakova ME, Filchenko IA, Trajkovski A, Tsyba DL, Kirik OV, Han A, Leipert A, Korzhevskii DE, Vlasov TD. Rat's behaviour in eight-arms maze after modeling of focal transient cerebral ischemia with subsequent activation of striatal microglia. Regional blood circulation and microcirculation. 2018;17(2):92-96. (in Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-92-96.

22. Pavlichenko N, Sokolova I, Vijde S, Shvedova E, Alexandrov G, Krouglyakov P, Fedotova O, Gilerovich EG, Polyntsev DG, Otellin VA. Mesenchymal stem cells transplantation could be beneficial for treatment of experimental ischemic stroke in rats. *Brain Res.* 2008;1233:203-213. Doi: 10.1016/j.brainres.2008.06.123.

23. O'Neill MJ, Clemens JA. Rodent models of focal cerebral ischemia. *Curr Protoc Neurosci.* 2001; Chapter 9: Unit 9.6. Doi: 10.1002/0471142301.ns0906s12.

24. Teo L, Bourne JA. A reproducible and translatable model of focal ischemia in the visual cortex of infant and adult marmoset monkeys. *Brain Pathol.* 2014;24(5):459-474. Doi: 10.1111/bpa.12129.

25. Fisher M, Feuerstein G, Howells DW et al.; STAIR Group. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. *Stroke.* 2009;40(6):2244-2250. Doi: 10.1161/STROKEAHA.108.541128.

26. Sugimoto K, Morais A, Sadeghian H, Qin T, Chung DY, Ashina M, Hougaard A, Ayata C. Intravascular endothelin-1 does not trigger or increase susceptibility to spreading depolarizations. *J Headache Pain.* 2020;21(1):127. Doi: 10.1186/s10194-020-01194-3.

27. Bazzigaluppi P, Mester J, Joo IL, Weisspapier I, Dorr A, Koletar MM, Beckett TL, Khosravani H, Carlen P, Stefanovic B. Frequency selective neuronal modulation triggers spreading depolarizations in the rat endothelin-1 model of stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2021;41(10):2756-2768. Doi: 10.1177/0271678X211013656.

Информация об авторах

Таминкина Юлия Александровна – научный сотрудник научно-исследовательского отдела ООО «Транс-Технологии», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: taminkina.yulia@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5256-9360.

Павличенко Наталья Николаевна – канд. биол. наук, руководитель группы научно-исследовательского отдела ООО «Транс-Технологии», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: pravlichenko@alkorbio.ru, ORCID: 0000-0002-4455-6743.

Кирик Ольга Викторовна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: olga_kirik@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6113-394.

Гилерович Елена Георгиевна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: andreura@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-8074-2041.

Коржевский Дмитрий Эдуардович – д-р мед. наук, профессор РАН, руководитель Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: DEK2@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-2456-8165.

Authors information

Taminkina Yulia A. – Researcher, Research Department, Trans-Tekhnologii, Saint Petersburg, Russia, e-mail: taminkina.yulia@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5256-9360.

Pavlichenko Natalya N. – Candidate (Ph.D) of Biological Sciences, Head, Group, Research Department, Trans-Tekhnologii, Saint Petersburg, Russia, e-mail: taminkina.yulia@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4455-6743.

Kirik Olga V. – Candidate (Ph.D) of Biological Sciences, Senior Researcher, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia, e-mail: olga_kirik@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6113-394.

Gilerovich Elena G. – Doctor of Medical Sciences, Leading Researcher, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia, e-mail: andreura@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-8074-2041.

Korzhevsky Dmitry E. – Doctor of Medical Sciences, Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of General and Particular Morphology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia, e-mail: DEK2@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-2456-8165.

УДК 578.76, 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-70-80

В. А. МАРЧЕНКО^{1, 2}, И. А. ЗЕЛИНСКАЯ³,
Е. Ю. ПОДЪЯЧЕВА³, Д. В. МУХАМЕТДИНОВА³,
Я. Г. ТОРОПОВА³, М. М. ГАЛАГУДЗА³, Д. А. ЛИОЗНОВ¹,
И. Н. ЖИЛИНСКАЯ^{1, 2}

Системные нарушения вазомоторной активности кровеносных сосудов, вызванные вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, на фоне преморбидной хронической кардиомиопатии

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А. А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 195067, Россия, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
E-mail: vmarcenco@gmail.com

Статья поступила в редакцию 15.05.24 г.; принята к печати 28.06.24 г.

Резюме

Цель – оценить системное влияние вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 на вазомоторную активность кровеносных сосудов на фоне преморбидной хронической кардиомиопатии. *Материалы и методы.* Исследование выполнено на 30 половозрелых самцах крыс стока Вистар. Животные были разделены на три группы: 1) хКМП – животные с хронической кардиомиопатией; 2) ГИ – здоровые крысы, инфицированные вирусом гриппа А/Санкт-Петербург/48/16 (Н1N1)pdm09; 3) хКМП + ГИ – крысы с преморбидной хронической кардиомиопатией, инфицированные исследуемым вирусом. Хроническую кардиомиопатию моделировали посредством внутривентрикулярного введения доксорубина. Через 1 и 7 дней животных наркотизировали и проводили некропсию с извлечением брыжейки и выделением артерий 3-го порядка. Вазомоторную активность сосудов брыжейки исследовали при помощи миографии. *Результаты.* Инфекционная активность вируса гриппа в легких крыс в группе хКМП + ГИ через 1 день после заражения составляла 6,2 lg ЭИД₅₀/мл, тогда как в группе ГИ была ниже – 5,6 lg ЭИД₅₀/мл (p<0,05). Через 7 дней инфекционный титр вируса в легких крыс не выявляли. Чувствительность кровеносных сосудов брыжейки к вазоконстриктору в группе хКМП + ГИ через 1 день была увеличена на 7 % по сравнению с группой хКМП (p<0,05). Также через 7 дней наблюдали тенденцию к снижению интегрального ответа сосудов в группе хКМП + ГИ на вазоконстриктор и вазодилатор по сравнению с группой хКМП. *Заключение.* Вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 усиливает системные нарушения вазомоторной активности кровеносных сосудов в условиях хронической кардиомиопатии, что характеризуется снижением интегрального ответа микрососудов брыжейки на вазоконстриктор и вазодилатор через 7 дней после заражения.

Ключевые слова: крысы стока Вистар, хроническая доксорубин-индуцированная кардиомиопатия, вирус гриппа А(Н1N1)pdm09, иммуногистохимия, проволочная миография

Для цитирования: Марченко В. А., Зелинская И. А., Подъячева Е. Ю., Мухаметдинова Д. В., Торорова Я. Г., Галагудза М. М., Лиюзов Д. А., Жилинская И. Н. Системные нарушения вазомоторной активности кровеносных сосудов, вызванные вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, на фоне преморбидной хронической кардиомиопатии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3): 70–80. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-70-80.

V. A. MARCHENKO^{1, 2}, I. A. ZELINSKAYA³,
E. Yu. PODYACHEVA³, D. V. MUKHAMETDINOVA³,
Ya. G. TOROPOVA³, M. M. GALAGUDZA³,
D. A. LIOZNOV¹, I. N. ZHILINSKAYA^{1, 2}

Systemic alteration of vasomotor activity of blood vessels in Wistar rats with premorbid chronic cardiomyopathy infected with influenza A(H1N1)pdm09

¹ Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia
15/17, Professora Popova str., 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

³ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia
2, Akkuratova str., Saint Petersburg, Russia, 197341
E-mail: vmarcenco@gmail.com

Received 15.05.24; accepted 28.06.24

Summary

Aim. To assess systemic vasomotor activity of blood vessels of Wistar rats with premorbid chronic cardiomyopathy infected with influenza A(H1N1)pdm09 virus. *Materials and Methods.* The study was performed on 30 mature male Wistar rats. The animals were divided into three groups: 1) chCMP – animals with chronic cardiomyopathy; 2) IAV – healthy animals infected with influenza A/St Petersburg/48/16 (H1N1)pdm09 virus; 3) chCMP + IAV – animals with premorbid cardiomyopathy infected with the studied virus. Chronic cardiomyopathy was modeled by intraperitoneal administration of doxorubicin. At 1 and 7 days post-infection (dpi), rats were anesthetized followed by necropsy with extraction of the mesentery and isolation of the third-order mesenteric arteries. Vasomotor activity of mesenteric blood vessels was assessed by wire myography. *Results.* The viral infectious titer in pulmonary tissues of rats in the chCMP + AIV group at 1 dpi was 6.2 lg EID50/ml, while it was lower in the AIV group – 5.6 lg EID50/ml ($p < 0.05$). After 7 dpi, no infectious titer was detected in pulmonary tissues. The sensitivity of mesenteric blood vessels to the vasoconstrictor in the chCMP + IAV group after 1 dpi was increased by 7% compared to the chCMP group ($p < 0.05$). Also after 7 dpi, a tendency toward attenuation in integral response (based on area under the curve) of mesenteric arteries in the chCMP + AIV group to vasoconstrictor and vasodilator was observed compared with the chCMP group. *Conclusion.* Influenza A(H1N1)pdm09 virus aggravates systemic alterations in vasomotor activity of blood vessels in rats with chronic cardiomyopathy, which is characterized by a decrease in the integral response of mesenteric microvessels to vasoconstrictor and vasodilator after 7 dpi.

Keywords: Wistar rats, chronic doxorubicin-induced cardiomyopathy, influenza A(H1N1)pdm09 virus, immunohistochemistry, wire myography

For citation: Marchenko V. A., Zelinskaya I. A., Podyacheva E. Yu., Mukhametdinova D. V., Toropova Ya. G., Galagudza M. M., Lioznov D. A., Zhilinskaya I. N. Systemic alteration of vasomotor activity of blood vessels in Wistar rats with premorbid chronic cardiomyopathy infected with influenza A(H1N1)pdm09. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):70–80. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-70-80.

Введение

Гриппозная инфекция занимает доминирующее положение в структуре заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ). Так, ежегодно вирусы гриппа инфицируют около 12–15 % мирового населения, что является причиной 290–650 тыс. летальных исходов [1].

Тканевой тропизм вируса гриппа позволяет заражать не только клетки мерцательного эпителия дыхательной системы, но и клетки сердечно-сосудистой системы, включая кардиомиоциты, проводящую систему сердца и эндотелий кровеносных сосудов [2, 3]. Известно, что вирусы гриппа инфицируют эндотелий кровеносных сосудов, взаимодействуя с сиаловыми кислотами, связанные с галактозой $\alpha 2$ -6-связью [4–6]. Так, в исследованиях *in vitro* было показано, что вирусы гриппа А, включая подтипы А(Н3N2) и А(Н1N1)

pdm09, способны вызывать изменение морфологии эндотелиоцитов, индуцировать их апоптоз, а также вызывать изменение экспрессии целого ряда эндотелиальных факторов [7–9]. В исследованиях *in vivo* вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 вызывал морфофункциональные изменения со стороны эндотелия кровеносных сосудов легких крыс линии Вистар в остром периоде инфекции, а также приводил к системным изменениям вазомоторной активности кровеносных сосудов, в частности – брыжейки, на протяжении не менее 60 дней после инфицирования [10–12]. Последующие исследования по изучению воздействия вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 на функциональную активность кровеносных сосудов крыс на фоне преморбидной острой кардиомиопатии выявили значительное усиление сосудистой патологии, включая выраженную модуляцию экспрессии эндотелиальных факторов, как

в сосудистом эндотелии легких, так и в плазме крови, а также выраженные системные изменения вазомоторной функции кровеносных сосудов [13]. Полученные результаты указывают на тот факт, что вирусы гриппа способны вызывать не только активацию, но и эндотелиальную дисфункцию кровеносных сосудов.

По современным представлениям, дисфункция эндотелия играет ключевую роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, имеются эпидемиологические данные, указывающие на положительную корреляцию между интенсивностью эпидемического процесса и ростом числа летальных исходов у пациентов с сердечно-сосудистой патологией [14, 15]. Так, у пациентов с данными заболеваниями показатель «дополнительной» смертности от гриппозной инфекции составляет 481 на 100 тыс. населения, против 2 на 100 тыс. населения среди здоровых взрослых без соматических заболеваний [16–18].

Целью исследования стало изучение влияния вируса гриппа А(H1N1)pdm09 на вазомоторную активность сосудистого эндотелия на фоне преморбидной хронической кардиомиопатии.

Материалы и методы исследования

Лабораторные животные. Эксперименты были проведены на 30 самцах крыс стока Вистар SPF-статуса массой 290–340 г (ФГБУ ПЛЖ «НМИЦ им. В. А. Алмазова», Россия). Крыс содержали в отдельной комнате в стандартных условиях: полный пищевой рацион и стандартный суточный свет-темновой режим (12:12). Манипуляции с животными проводили в соответствии со следующими нормативными документами: ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Эксперимент был одобрен комиссией по биоэтике ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» МЗ РФ (протокол № 13-1 от 17.07.2023 г.).

Фармакологические агенты. Подготовку Доксорубицин-ЛЭНС® (ООО «ВЕРОФАРМ», Россия) для введения животным осуществляли непосредственно перед использованием (*ex tempore*). Дозирование химиопрепарата производили для каждого животного индивидуально, исходя из его текущей массы тела. Рассчитанную дозу разводили стерильным физиологическим раствором.

Моделирование хронической доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии. Животные были случайным образом распределены на 3 группы (n=10): 1) хКМП (крысы с хронической кардиомиопатией); 2) ГИ (крысы без преморбидной патологии, инфицированные вирусом гриппа); 3) хКМП + ГИ (крысы с хронической кардиомиопатией, инфицированные вирусом гриппа). С целью моделирования хронической кардиомиопатии (хКМП) крысам из группы хКМП и хКМП + ГИ внутрибрюшинно вводили 6 раз 1,67 мг/кг доксорубицина с интервалом в 2 дня, таким образом кумулятивная доза составляла 10 мг/кг.

Далее животные находились под наблюдением в течение 60 дней, что является достаточным для реализации отсроченных побочных эффектов химиотерапии, фиброзного поражения миокарда и развития систолической дисфункции [19].

Для оценки развития хронической кардиомиопатии на протяжении всего введения доксорубицина, а также через 30 и 60 дней после достижения кумулятивной дозы проводили регистрацию эхокардиограммы при помощи ультразвуковой установки The Vevo 2100 (VisualSonics Inc., Канада). Анализ объема и функции сердца осуществляли в М-режиме (одномерное сканирование). Для оценки морфофункциональных показателей левого желудочка регистрировали:

- 1) конечный диастолический внутренний диаметр левого желудочка (LVIDd, мм);
- 2) конечно-систолический внутренний диаметр левого желудочка (LVIDs, мм);
- 3) толщину передней стенки левого желудочка (IVS, мм);
- 4) толщину задней стенки левого желудочка в диастолу (LVPW, мм);
- 5) фракцию укорочения (FS, %), которая была рассчитана по следующей формуле:

$$FS (\%) = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd \times 100.$$

Вирус. В эксперименте использовали адаптированный к крысам вирус гриппа А/Санкт-Петербург/48/16 (H1N1)pdm09 [20]. Инфекционный титр вируса составлял 6,6 lg ЭИД₅₀/мл.

Моделирование экспериментальной гриппозной инфекции. Животных групп ГИ и хКМП + ГИ после наркотизации изофлураном интраназально инфицировали вирусом гриппа в объеме 0,2 мл. Животным группы хКМП интраназально вводили 0,2 мл питательной среды DMEM («Биолот», Россия). Через 1 и 7 дней после введения вируса или питательной среды животных эвтаназировали. При некропсии выделяли сердце, ткани легких и брыжейки.

Определение инфекционного титра вируса в легких. Ткани правого легкого взвешивали на лабораторных весах PR124 (Ohaus, США), после чего добавляли среду DMEM в соотношении 1:10, а затем подвергали гомогенизации с помощью лабораторного гомогенизатора SHM2 (Stuart, Великобритания). После центрифугирования (15 мин, 1000×g) супернатант инокулировали в аллантоисную полость развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ) по общепринятой методике. Для этого готовили серию десятикратных разведений материала в фосфатно-солевом буфере (PBS) и вводили по 200 мкл каждого разведения (10⁻¹–10⁻⁸), используя на каждое разведение по пять РКЭ. Инкубацию эмбрионов проводили при температуре 36 °С в течение 2 суток, после чего из эмбрионов отбирали по 100 мкл аллантоисной жидкости, переносили в иммунологический планшет и добавляли 100 мкл 0,5 % суспензии куриных эритроцитов. Реакция гемагглютинации учитывалась после оседания эритроцитов в контроле. Инфекционную активность рассчитывали по методу Рида–Менча [21].

Определение инфекционного титра вируса в брыжейке. Ткани брыжейки животных помещали

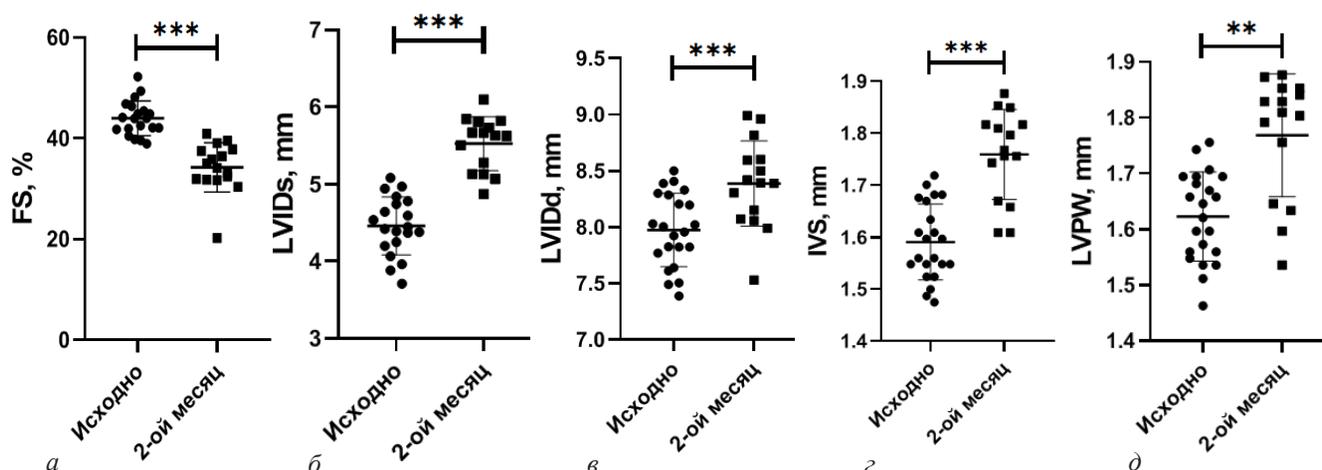


Fig. 1. Parameters of echocardiography in rats before and after doxorubicin administration: *a* – фракция укорочения (FS); *б* – конечно-систолический внутренний диаметр левого желудочка (LVIDs); *в* – конечный диастолический внутренний диаметр левого желудочка (LVIDd); *г* – толщина передней стенки левого желудочка (IVS); *д* – толщина задней стенки левого желудочка в диастолу (LVPW) ($M \pm SD$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$ по сравнению с исходным значением, Т-критерий Вилкоксона, $n=20$)

Fig. 1. Parameters of echocardiography in rats before and after doxorubicin administration: *a* – FS or fractional shortening; *б* – LVIDs or left-ventricular end-systolic internal diameter; *в* – LVIDd or left-ventricular end-diastolic internal diameter; *г* – IVS or left-ventricular anterior wall thickness; *д* – LVPW or left-ventricular posterior wall thickness in diastole ($M \pm SD$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$ compared with initial value, Wilcoxon sign rank test, $n=20$)

в пробирку, а затем добавляли 1 мл культуральной среды DMEM, после чего проводили гомогенизацию и центрифугирование. Для инокуляции эмбрионов были использованы разведения 10^{-1} – 10^{-3} .

Гистологическое исследование миокарда. Фиксацию тканей сердца проводили в 10 % нейтральном забуференном формалине. Далее материал заливали в блоки с парафином, а затем при помощи микротомы Ассу-Cut SRM 200 (Sakura, США) изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм. После окрашивания гематоксилином–эозином микропрепараты фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse E400 (Nikon, Япония).

Иммуногистохимическое исследование. С целью локализовать нуклеопротеин (NP) вируса гриппа в легких и брыжейке животных срезы с аутопсийным материалом инкубировали с мышиными моноклональными антителами к соответствующему антигену (в разведении 1:1000). Детекцию осуществляли с использованием системы визуализации (Dako, Дания).

Вазомоторная активность эндотелия микрососудов брыжейки. Из материала от каждого животного изолировали по 3 артерии 3-го порядка, с последующим их монтированием в камерах проволочного миографа (DMT 620M, Дания). Сосуды 3-го порядка являются микрососудами, чей диаметр составляет в среднем 200–500 мкм [22].

Для исследования вазомоторной активности микрососудов использовали протокол кумулятивного ответа на вазоконстриктор фенилэфрин (ФЭ) и вазодилататор ацетилхолин (АХ) со ступенчато увеличивающейся концентрацией агонистов (от 10^{-7} до 10^{-5} М). Полученные данные регистрировали с помощью программного обеспечения LabChart 8 (ADInstruments, Новая Зеландия). В качестве основных показателей оценки вазомоторной активности сосудов использовали: 1) концентрацию, обеспечивающую 50 % максимального ответа сосудов на агонист (EC_{50} , $\log [M]$); 2) величину максимального ответа сосудов на агонист (E_{max} , %). Кроме того, также определяли площадь под кривой «концентрация–ответ» (AUC).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США) с использованием метода нелинейного регрессионного анализа, а также однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Полученные данные представляли как среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (SD) и стандартную ошибку среднего (SE). Статистическая значимость оценивалась с помощью U-критерия Манна–Уитни, Т-критерия Вилкоксона и критерия Брауна–Форсайта.

Результаты исследования и их обсуждение

Моделирование хронической кардиомиопатии. У животных через 60 дней после окончания введения доксорубина отмечалось увеличение конечно-систолического размера левого желудочка (LVIDs) по сравнению с исходными значениями ($p < 0,001$) (рис. 1). В связи с этим, также наблюдали снижение фракции укорочения (FS) на 19–22 % по сравнению с исходным показателем ($p < 0,001$), что указывает на развитие систолической дисфункции миокарда левого желудочка.

Гистологический анализ аутопсийного материала миокарда крыс в группе хКМП позволил выявить следующие морфопатологические изменения: анезонуклеоз, некроз отдельных кардиомиоцитов, зоны фиброза (рис. 2). Более выраженных изменений в тканях миокарда крыс с хКМП, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09, не обнаруживали.

Инфекционный титр вируса гриппа в гомогенатах легких и брыжейки крыс. Инфекционная активность вируса в гомогенатах легких крыс через 1 день после инфицирования вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 (группа ГИ) составляла 5,6 Ig ЭИД₅₀/мл, тогда как у животных в группе хКМП + ГИ инфекционный титр вируса был достоверно выше – 6,2 Ig ЭИД₅₀/мл ($p < 0,05$) (табл. 1). Через 7 дней после заражения в гомогенатах легких крыс в группе ГИ и хКМП + ГИ титр вируса не определялся. В гомогенатах легких животных в группе хКМП, а также в

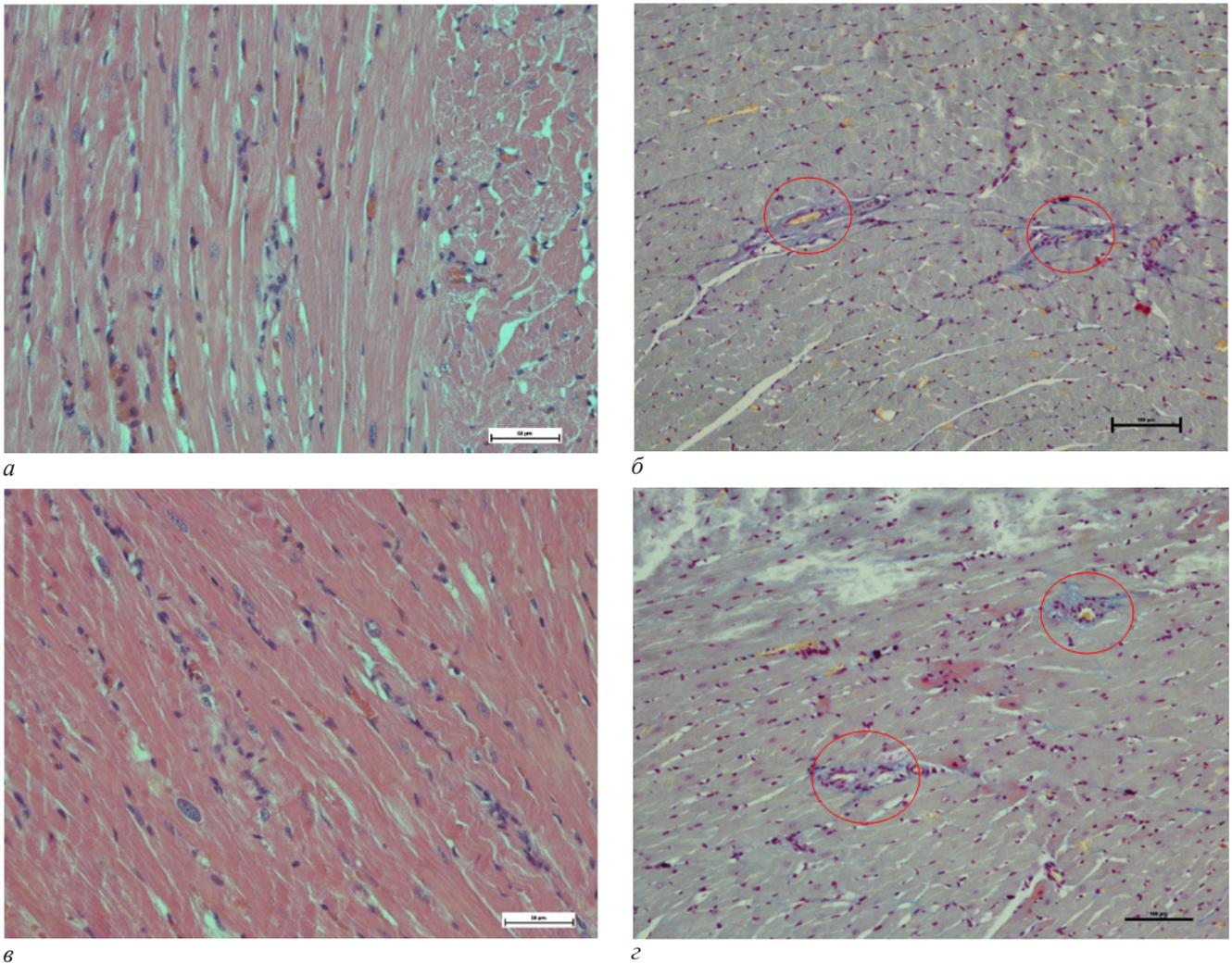


Рис. 2. Гистологическое исследование миокарда крыс в группе хКМП (а, б) и группе хКМП + ГИ (в, з), ув. ×200, окрашивание гематоксилином и эозином для а и б; окрашивание по Маллори для в и з. Область красного круга – периваскулярный фиброз.
 Fig. 2. Histological examination of rat myocardial tissues in the chCMP group (a, b) and in the chCMP + IAV group (v, z), magn. × 200, H&E staining for a and b; Mallory staining for v and z. Indications. Red circle zone indicates perivascular fibrosis

Таблица 1

Титр вируса гриппа А/СП6/48/16 (H1N1)pdm09 в гомогенатах легких и брыжейки крыс (M±SD)

Table 1

Influenza A/St. Petersburg/48/16 (H1N1)pdm09 virus titer of in rat pulmonary and mesenteric homogenates (M±SD)

День после инфицирования	Инфекционный титр вируса гриппа (lg ЭИД ₅₀ /мл)					
	хКМП		ГИ		хКМП + ГИ	
	Легкие	Брыжейка	Легкие	Брыжейка	Легкие	Брыжейка
1-й	0,0±0,0	0,0±0,0	5,6±0,2*	0,0±0,0	6,2±0,4* #	0,0±0,0
7-й	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контролем, # – p < 0,05 по сравнению с группой IAV, U-критерий Манна-Уитни, n=5.

тканях брыжейки крыс всех групп на протяжении всего периода исследования вирус не обнаруживался.

Детекция и локализация нуклеопротеина вируса гриппа в тканях легких и брыжейки крыс. Вирусный белок нуклеопротеин обнаруживали только в кровеносных сосудах крыс групп ГИ и хКМП + ГИ через 1 день после заражения (рис. 3, в, д). Через 7 дней NP антиген вируса в кровеносных сосудах крыс из данных двух групп не выявляли (рис. 3, з, е), также как и в группе

хКМП через 1 и 7 дней (рис. 3, а, б). В свою очередь, в кровеносных сосудах брыжейки крыс всех групп нуклеопротеин вируса на протяжении всего исследования также не детектировали (данные не представлены).

Вазомоторная активность микрососудов брыжейки крыс. В группе хКМП + ГИ через 1 день после инфицирования наблюдали увеличение чувствительности артерий брыжейки крыс к фенилэфрину в среднем на 7,2 % по сравнению с группой хКМП (p<0,05)

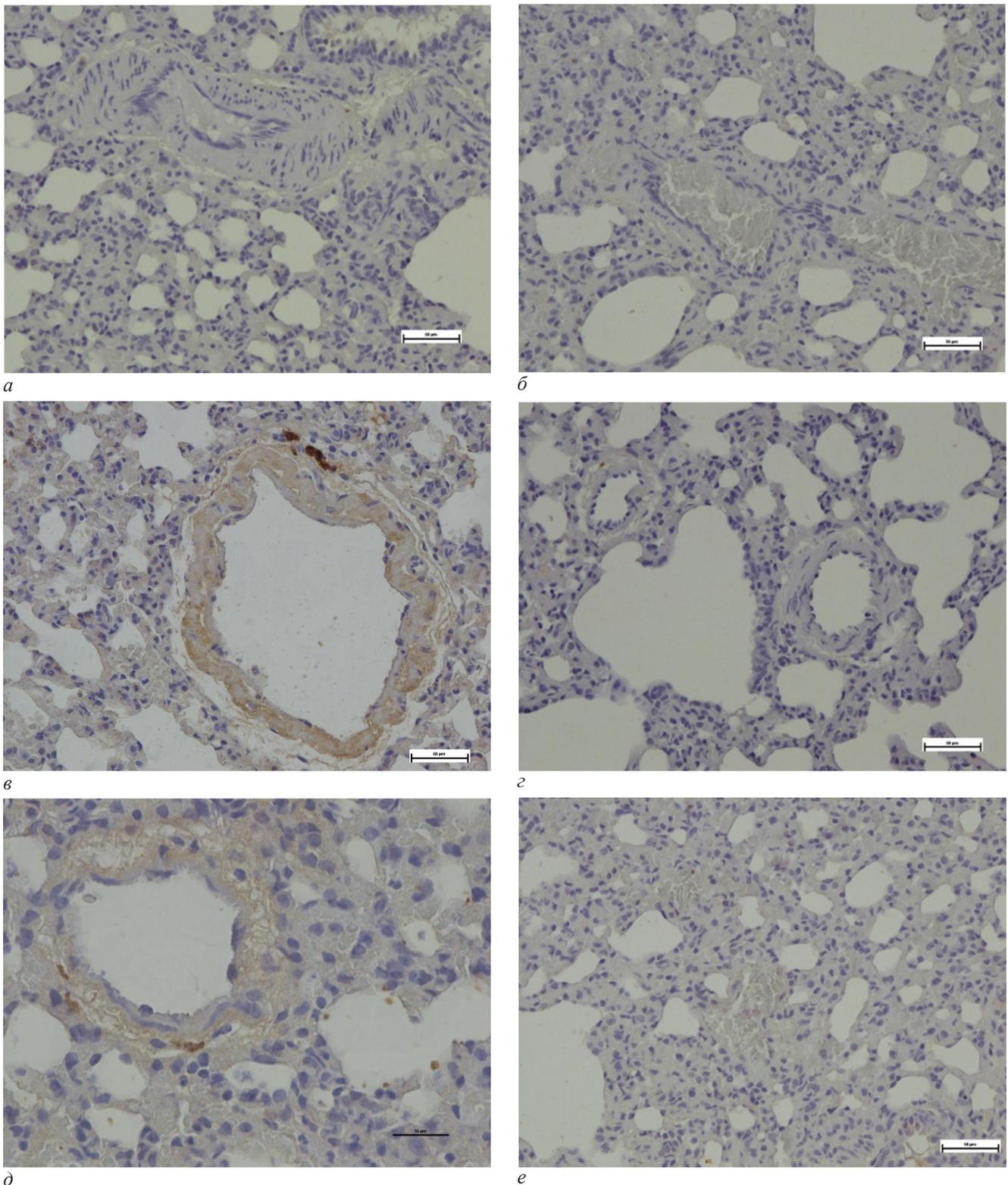


Рис. 3. Результаты иммуногистохимического исследования по детекции нуклеопротеина вируса гриппа в кровеносных сосудах легких крыс в группе хКМП через 1 день (а) и 7 дней (б), в группе ГИ через 1 день (в) и 7 дней после инфицирования (з), в группе хКМП + ГИ через 1 день (д) и 7 дней после инфицирования (е) (ув. $\times 400$, реакция с хромогеном DAB)

Fig. 3. Immunohistochemistry assay for influenza virus nucleoprotein detection in blood vessels of rat lungs in the chCMP group after 1 dpi (a) and 7 dpi (b), in the IAV group after 1 dpi (c) and 7 dpi (z), in the chCMP + IAV group after 1 dpi (d) and 7 dpi (e) (magn. $\times 400$, DAB chromogen staining)

(табл. 2). На 7-й день максимальную чувствительность артерий к фенилэфрину регистрировали в группе ГИ (была выше на 4,7 % по сравнению с группой хКМП + ГИ ($p < 0,05$)). При анализе чувствительности артерий к ацетилхолину выявлено отсутствие статистически значимых различий между группами на протяжении всего периода исследования.

Величины максимального ответа артерий брыжейки крыс на фенилэфрин в группах через 1 и 7 дней не различались. При этом следует отметить тенденцию к снижению максимальной величины ответа на фенилэфрин на 7-й день (относительного 1-го дня) во всех группах. В свою очередь, максимальный ответ на ацетилхолин в группе хКМП + ГИ через 1 день

Показатели вазомоторной активности артерий брыжейки крыс (M±SE)

Table 2

Vasomotor activity parameters of rat mesenteric arteries (M±SE)

Агонист	Фенилэфрин (ФЭ)		Ацетилхолин (АХ)	
<i>Чувствительность к агонисту, EC₅₀, M</i>				
День после инфицирования	1-й	7-й	1-й	7-й
хКМП	-5,54±0,15*	-5,36±0,09	-6,16±0,32	1,94±33,08
ГИ	-5,84±0,08	-5,73±0,08*	-6,46±0,04	-6,49±0,19
хКМП + ГИ	-5,97±0,06	-5,46±0,06	-6,69±0,10	-7,14±9,19
<i>Величина максимального ответа, E_{max}, %</i>				
хКМП	58,63±15,52	46,22±7,91	60,87±11,47*	75,09±7,26
ГИ	97,43±8,63	89,83±12,22	80,86±5,81	81,72±7,26
хКМП + ГИ	80,43±6,28	67,90±8,61	94,36±1,80	79,24±8,56

Примечание: log EC₅₀, M – концентрация агониста, обеспечивающая 50 % от максимального ответа; E_{max}, % – максимальная величина ответа. Различия статистически значимы: *p<0,05 – относительно группы хКМП + ГИ, критерий Брауна–Форсайта, три сосуда от каждого животного, n=5.

после заражения был выше на 33,5 % по сравнению с группой хКМП (p<0,05). Через 7 дней после заражения величины максимального ответа артерий брыжейки на ацетилхолин во всех группах практически не отличались.

Межгрупповые и внутригрупповые отличия в кумулятивном дозозависимом ответе артерий брыжейки животных на вазоконстриктор и вазодилататор не выявляли (рис. 4).

Как видно из рис. 5, через 1 день интегральный ответ артерий брыжейки крыс на фенилэфрин в группе хКМП + ГИ был выше на 43 % по сравнению с группой хКМП (p<0,05). Через 7 дней во всех группах регистрировали тенденцию к снижению выраженности интегрального ответа сосудов на фенилэфрин, однако в группе хКМП + ГИ данные изменения были наиболее выраженными.

Интегральный ответ артерий брыжейки крыс на ацетилхолин в группе хКМП + ГИ через 1 день был выше по сравнению с группой хКМП (p<0,01). Через 7 дней в группах ГИ и хКМП наблюдали тенденцию к увеличению интегрального ответа, тогда как в группе хКМП + ГИ величина интегрального ответа снижалась.

Из трех исследованных групп наименее выраженным интегральным ответом на фенилэфрин и ацетилхолин на всех временных сроках обладала группа хКМП. В группе хКМП + ГИ через 1 и 7 дней регистрировали более выраженный интегральный ответ на фенилэфрин, нежели в группе хКМП, но менее выраженный, чем в группе ГИ. При этом ответ на ацетилхолин был наиболее выраженным именно в группе хКМП + ГИ.

Грипп представляет собой высококонтагиозное заболевание, которое характеризуется развитием интоксикационного и катарального синдромов. При тяжелом течении гриппозной инфекции также наблюдается развитие геморрагического синдрома [23]. В свою очередь, развитие тяжелого течения гриппа часто наблюдают у людей из групп риска, включая

пациентов с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы [24].

Вирусы гриппа в основном инфицируют клетки эпителия респираторного тракта, однако также могут поражать клетки сосудистого эндотелия. Клетки эндотелия, включая эндотелиоциты микрососудов легких, являются полупермиссивными для вируса гриппа. Так, в ходе различных исследований *in vitro* было показано, что при инфицировании культуры клеток эндотелия (HUVEC, EA.hy926, MLEC) различными вирусами гриппа типа А, включая подтипы А(Н1N1)pdm09 и А(Н3N2), инфекционная активность вируса составляет в среднем 3–4 lg ТЦД₅₀/мл [9, 25–27].

Инфицирование клеток эндотелия приводит к их активации. В ответ на внедрение вируса в клетках эндотелия наблюдается повышение экспрессии ряда генов, кодирующих эндотелиальные факторы с провоспалительными, констрикторными и протромбогенными эффектами [28, 29]. Следует отметить, что активация эндотелия возникает не только вследствие непосредственного внедрения вируса гриппа в клетку, но также и в ответ на высокие концентрации в плазме крови определенных провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и ФНО), что характерно при тяжелом течении гриппозной инфекции [26, 28, 30]. Кроме того, активация клеток эндотелия может стать причиной развития дисфункции эндотелия (ДЭ) – типового патологического состояния, для которого характерно стойкое и длительное изменение морфологии и/или функциональной активности эндотелиальных клеток [31].

В свою очередь, ДЭ является не только одним из неспецифических звеньев патогенеза, но и фактором риска развития различных патологий сердечно-сосудистой системы [14, 15, 32, 33].

В данном исследовании изучали системное влияние вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 на вазомоторную активность кровеносных сосудов брыжейки крыс стока Вистар на фоне преморбидной хронической кардиомиопатии.

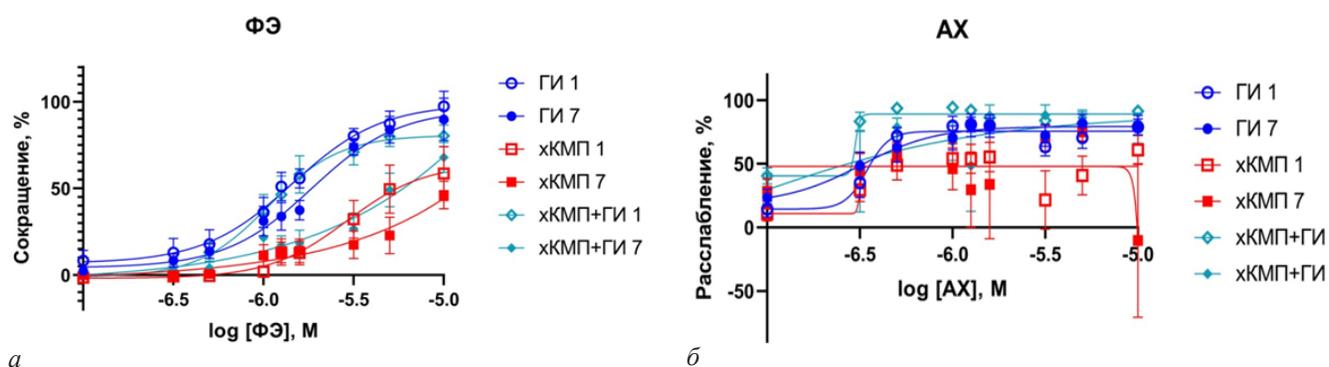


Рис. 4. Дозозависимые кривые «концентрация-ответ» артерий брыжейки крыс ($M \pm SE$): *a* – ответ сосудов на фенилэфрин; *б* – ответ сосудов на ацетилхолин. Различия статистически значимы: $p > 0,05$ – относительно группы xKMP + GI, критерий Брауна–Форсайта, три сосуда от каждого животного, $n = 5$

Fig. 4. Dose-dependent concentration-response curves of rat mesenteric arteries ($M \pm SE$): *a* – phenylephrine-dependent response, *б* – acetylcholine-dependent response. Differences are statistically significant: $p > 0.05$ compared with the chCMP + IAV group, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, $****p < 0.0001$ compared with the control group, Brown–Forsythe test, three blood vessels from every rat in the group, $n = 5$

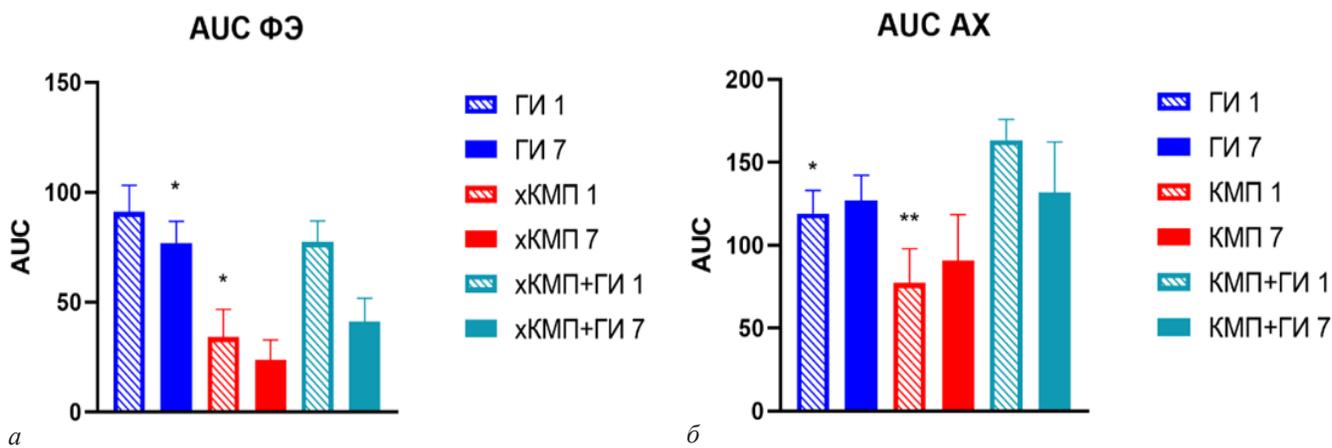


Рис. 5. Интегральный ответ артерий брыжейки крыс ($M \pm SE$): *a* – фенилэфрин-зависимое сокращение; *б* – ацетилхолин-зависимое расслабление. Различия статистически значимы: $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ относительно группы xKMP + GI, критерий Брауна–Форсайта, три сосуда от каждого животного, $n = 5$

Fig. 5. Integral response of rat mesenteric blood vessels ($M \pm SE$): *a* – phenylephrine-dependent response, *б* – acetylcholine-dependent response. Differences are statistically significant: $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ compared with the chCMP + IAV group, Brown–Forsythe test, three blood vessels from every rat in the group, $n = 5$

Так, инфекционный титр вируса в тканях легких крыс в группе GI через 1 день после инфицирования составлял $5,6 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$, а в группе xKMP + GI значимо выше – $6,2 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$ ($p < 0,05$), что можно объяснить выраженным иммуносупрессивным эффектом, оказываемым доксорубицином [34]. Через 7 дней после заражения в тканях легких животных в группах GI и xKMP + GI вирус не выявляли, как и в группе xKMP в ходе всего исследования. Репликацию вируса гриппа в тканях и кровеносных сосудах легких и брыжейки подтверждали при помощи иммуногистохимического исследования. Так, нуклеопротеин вируса гриппа обнаруживали в кровеносных сосудах крыс через 1 день после инфицирования (в группах GI и xKMP + GI), в то время как в тканях брыжейки крыс вирусный белок не выявляли.

При изучении вазомоторной активности кровеносных сосудов брыжейки выявляли целый ряд изменений. Так, вирус гриппа A(H1N1)pdm09 на фоне хронической доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии (группа xKMP + GI) через 1 день после инфицирования вызывал увеличение чувствительности сосудов к вазодилатору фенилэфрину по сравнению с группой xKMP, но не группой GI. Также в группе xKMP + GI через 7 дней наблюдалось наибо-

лее выраженное снижение чувствительности сосудов по сравнению с другими группами. В свою очередь, чувствительность сосудов брыжейки во всех исследуемых группах к вазодилатору ацетилхолину через 1 день оставалась на одном уровне. Через 7 дней регистрировали значительную вариабельность ответа группы xKMP по сравнению с другими группами. Чувствительность сосудов к вазодилатору в группах GI и xKMP + GI не изменялась на протяжении всего периода исследования.

При анализе интегрального ответа со стороны сосудов брыжейки также регистрировали изменения. Так, в группе xKMP на протяжении всего периода исследования интегральный ответ оставался наименьшим по сравнению с другими группами как на вазоконстриктор, так и на вазодилатор. Наибольшее снижение интегрального ответа сосудов на вазоконстриктор и вазодилатор с течением времени (на 7-й день по сравнению с 1-м днем) наблюдали в группе xKMP + GI.

Следует отметить, что наблюдаемые изменения вазомоторной активности сосудов резко отличаются от тех, которые регистрировали у крыс, инфицированных исследуемым вирусом, на фоне острой доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии [13].

Это можно объяснить тем, что при хронической доксорубин-индуцированной кардиомиопатии наблюдается развитие выраженного фиброза периваскулярного пространства, а также ремоделирование кровеносных сосудов, с последующей индукцией эндотелиально-мезинхимального перехода и изменением фенотипа клеток эндотелия [19, 35].

Заключение

Вирус гриппа А(H1N1)pdm09 усиливает системные нарушения вазомоторной активности кровеносных сосудов в условиях хронической кардиомиопатии на протяжении всего периода инфекции, что характеризуется снижением интегрального ответа на вазоконстриктор и вазодилататор. Следует отметить, что регистрируемые изменения возникают на фоне полной элиминации вируса гриппа к 7-му дню после инфицирования.

Полученные результаты указывают на отягощение течения хронической патологии кардиоваскулярной системы при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(H1N1)pdm09.

Данная статья является продолжением работ по исследованию воздействия вируса гриппа А(H1N1)pdm09 на функциональную активность сосудистого эндотелия, начатых в 2020 г. группой ученых ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Источник финансирования / Funding

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства Здравоохранения (тема № 223012300007-6 «Роль вирусов гриппа в развитии дисфункции эндотелия кровеносных сосудов»). / This research was supported by the state assignment of the Ministry of Health of Russia (registration number: 223012300007-6 «The role of influenza viruses in the development of endothelial dysfunction of blood vessels»).

Литература / References

1. Office WHOEMR. Global Influenza Strategy 2019-2030 / *Wkly Epidemiol Monit* 2019.
2. Filgueiras-Rama D, Vasilijevic J, Jalife J et al. Human influenza A virus causes myocardial and cardiac-specific conduction system infections associated with early inflammation and premature death. *Cardiovasc Res.* 2021;117(3):876-889. Doi: 10.1093/cvr/cvaa117.
3. Teijaro JR, Walsh KB, Cahalan S et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection. *Cell.* 2011;146(6):980-991. Doi: 10.1016/j.cell.2011.08.015.
4. Abe Y, Smith CW, Katkin JP et al. Endothelial alpha 2,6-linked sialic acid inhibits VCAM-1-dependent adhesion under flow conditions. *J Immunol.* 1999;163(5):2867-2876.
5. Zeng H, Goldsmith CS, Maines TR, Belser JA, Gustin KM, Pekosz A et al. Tropism and infectivity of influenza virus, including highly pathogenic avian H5N1 virus, in ferret tracheal differentiated primary epithelial cell cultures. *J Virol.* 2013;87(5):2597-2607. Doi: 10.1128/JVI.02885-12.

6. Cioffi DL, Pandey S, Alvarez DF, Cioffi EA. Terminal sialic acids are an important determinant of pulmonary endothelial barrier integrity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012;302(10):L1067-L1077. Doi: 10.1152/ajplung.00190.2011.

7. Sumikoshi M, Hashimoto K, Kawasaki Y, Sakuma H, Suzutani T, Suzuki H et al. Human influenza virus infection and apoptosis induction in human vascular endothelial cells. *J Med Virol.* 2008;80(6):1072-1078. Doi: 10.1002/jmv.21185.

8. Азаренок А.А., Ляпина Л.А., Оберган Т.Ю. и др. Изменение активности тканевого активатора плазминогена клеток эндотелия под воздействием вируса гриппа А и его поверхностных белков // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2014. – Т. 57, № 1. – С. 3–8. [Azarenok AA, Lyapina LA, Obergan TYu, Kharchenko EP, Kozlova NM, Zhilinskaya IN. Change in activity of tissue plasminogen activator caused by influenza A virus and its surface proteins. *Tromboz, gemostaz i reologiya.* 2014;57(1):3-8. (in Russ.)].

9. Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А. и др. Экспрессия эндотелиальных факторов в клетках эндотелия человека при инфекции, вызванной вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 (Orthomyxoviridae; Alphainfluenzavirus) // *Вопр. вирусол.* – 2021. – Т. 66, № 3. – С. 198–210. [Marchenko VA, Barashkova SV, Zelinskaya IA, Toropova YG, Ramsay ES, Zhilinskaya IN. Modulation of endothelial factors activity in human endothelial cells in influenza A(H1N1)pdm09 virus infection. *Probl Virol.* 2021;66(3):198-210. (in Russ.)]. Doi: 10.36233/0507-4088-48.

10. Marchenko V, Zelinskaya I, Toropova Y, Shmakova T, Podyacheva E, Lioznov D et al. Influenza A Virus Causes Histopathological Changes and Impairment in Functional Activity of Blood Vessels in Different Vascular Beds. *Viruses.* 2022;14(2):396. Doi: 10.3390/v14020396.

11. Марченко В.А., Зелинская И.А., Торопова Я.Г. и др. Длительность системных нарушений вазомоторной функции эндотелия микрососудов, вызванных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2023. – Т. 22, № 4. – С. 74–86. [Marchenko VA, Zelinskaya IA, Toropova YaG, Mukhametdinova DV, Galagudza MM, Lioznov DA et al. Duration of systemic alteration in vasomotor function of microvascular endothelium caused by the influenza A(H1N1)pdm09 virus. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2023;22(4):74-86. (in Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2023-22-4-74-86.

12. Marchenko V, Mukhametdinova D, Amosova I, Lioznov D, Zhilinskaya I. Influenza A(H1N1)pdm09 Virus Alters Expression of Endothelial Factors in Pulmonary Vascular Endothelium in Rats. *Viruses.* 2022;14(11):2518. Doi: 10.3390/v14112518.

13. Marchenko V, Zelinskaya I, Toropova Y et al. Influenza A(H1N1)pdm09 Virus Aggravates Pathology of Blood Vessels in Wistar Rats with Premorbid Acute Cardiomyopathy. *Viruses.* 2023;15(5):1114. Doi: 10.3390/v15051114.

14. Allbritton-King JD, Garcia-Cardeña G. Endothelial cell dysfunction in cardiac disease: driver or consequence? *Front Cell Dev Biol.* 2023;11:1278166. Doi: 10.3389/fcell.2023.1278166.

15. Little PJ, Askew CD, Xu S, Kamato D. Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease: History and Analysis of the Clinical Utility of the Relationship. *Biomedicines.* 2021;9(6):699. Doi: 10.3390/biomedicines9060699.

16. Nguyen JL, Yang W, Ito K, Matte TD, Shaman J, Kinney PL. Seasonal Influenza Infections and Cardiovascular Disease Mortality. *JAMA Cardiol.* 2016;1(3):274-281. Doi: 10.1001/jamacardio.2016.0433.

17. Карпова Л.С., Волик К.М., Столяров К.А. и др. Влияние эпидемий гриппа на показатели смертности и

«дополнительную» смертность от соматических и инфекционных заболеваний среди населения С-Петербурга с 2009 по 2015 годы // *Здоровье населения и среда обитания*. – 2016. – № 5. – С. 39–44. [Karpova LS, Volik KM, Stolyarov KA, Popovtseva NM, Stolyarova TP. Excess mortality from separate nosological forms of somatic and infectious diseases among children and adults in Saint Petersburg since 2009 to 2015. *Public Health and Life Environment*. 2016; (5):39-44. (in Russ.)].

18. Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet*. 2018;391(10127):1285-1300. Doi: 10.1016/S0140-6736(17)33293-2.

19. Podyacheva E, Shmakova T, Kushnareva E, Onopchenko A, Martynov M, Andreeva D et al. Modeling Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy With Fibrotic Myocardial Damage in Wistar Rats. *Cardiol Res*. 2022;13(6):339-356. Doi: 10.14740/cr1416.

20. Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А. и др. Моделирование гриппозной инфекции у половозрелых крыс стока Wistar // *Вопр. Вурисол.* – 2020. – Т. 65, № 3. – С. 155–166. [Marchenko VA, Barashkova SV, Zelinskaya IA, Toropova YG, Sorokin EV, Zhilinskaya IN. Modeling influenza virus infection in mature Wistar rats. *Probl Virol*. 2020;65(3):159-166. (in Russ.)]. Doi: 10.36233/0507-4088-48.

21. Ramakrishnan MA. Determination of 50 % endpoint titer using a simple formula. *World J Virol*. 2016;5(2):85-86. Doi: 10.5501/wjv.v5.i2.85.

22. Pourageaud F, de Mey JG. Structural properties of rat mesenteric small arteries after 4-wk exposure to elevated or reduced blood flow. *Am J Physiol*. 1997;273(4):H1699-H1706. Doi: 10.1152/ajpheart.1997.273.4.H1699.

23. Эсауленко Е.В., Стуколкин К.О., Дунаева Н.В. и др. Редкие симптомы (диарея, менингизм, геморрагический синдром) у больных гриппом различных субтипов // *Вестн. НГУ.* – 2013. – № 71. – С. 93–97. [Esaulenko EV, Stukolkin KO, Dunaeva NV, Grigor'eva IV, Bondar ES, Pozdniakova MG. Rare symptoms (diarrhea, meningism, hemorrhagic syndrome) in patients with different influenza virus subtypes. *Vestnik NSU*. 2013;(71):93-97. (in Russ.)].

24. Costantino C, Vitale F. Influenza vaccination in high-risk groups: a revision of existing guidelines and rationale for an evidence-based preventive strategy. *J Prev Med Hyg*. 2016;57(1):E13-E18.

25. Bauer L, Rijsbergen LC, Leijten L, Benavides FF, Noack D, Lamers MM et al. The pro-inflammatory response to influenza A virus infection is fueled by endothelial cells. *Life Sci Alliance*. 2023;6(7):e202201837. Doi: 10.26508/lsa.202201837.

26. Armstrong SM, Wang C, Tigdi J, Si X, Dumpit C, Charles S et al. Influenza infects lung microvascular endothelium leading to microvascular leak: role of apoptosis and claudin-5. *PLoS One*. 2012;7(10):e47323. Doi: 10.1371/journal.pone.0047323.

27. Sumikoshi M, Hashimoto K, Kawasaki Y, Sakuma H, Suzutani T, Suzuki H et al. Human influenza virus infection and apoptosis induction in human vascular endothelial cells. *J Med Virol*. 2008;80(6):1072-1078. Doi: 10.1002/jmv.21185.

28. Short KR, Kuiken T, Van Riel D. Role of Endothelial Cells in the Pathogenesis of Influenza in Humans. *J Infect Dis*. 2019;220(11):1859-1860. Doi: 10.1093/infdis/jiz349.

29. Hunt BJ, Jurd KM. Endothelial cell activation. A central pathophysiological process. *BMJ*. 1998;316(7141):1328-1329. Doi: 10.1136/bmj.316.7141.1328.

30. Pober JS. Activation and injury of endothelial cells by cytokines. *Pathol Biol (Paris)*. 1998;46(3):159-163.

31. Власов Т.Д., Петрищев Н.Н., Лазовская О.А. Дисфункция эндотелия. Правильно ли мы понимаем этот термин? // *Вестн. анестезиол. и реаниматол.* – 2020. – Т. 17, № 2. – С. 76–84. [Vlasov TD, Petrishev NN, Lazovskaya OA. Endothelial dysfunction. Do we understand this term properly? *Messenger of ANESTHESIOLOGY AND RESUSCITATION*. 2020;17(2):76-84. (in Russ.)]. Doi: 10.21292/2078-5658-2020-17-2-76-84.

32. Gallo G, Volpe M, Savoia C. Endothelial Dysfunction in Hypertension: Current Concepts and Clinical Implications. *Front Med (Lausanne)*. 2022;8:798958. Doi: 10.3389/fmed.2021.798958.

33. Giannitsi S, Bougiakli M, Bechlioulis A, Naka K. Endothelial dysfunction and heart failure: A review of the existing bibliography with emphasis on flow mediated dilation. *JRSM Cardiovasc Dis*. 2019;8:2048004019843047. Doi: 10.1177/2048004019843047.

34. Monteran L, Ershaid N, Doron H, Zait Y, Scharff Y, Ben-Yosef S et al. Chemotherapy-induced complement signaling modulates immunosuppression and metastatic relapse in breast cancer. *Nat Commun*. 2022;13(1):5797. Doi: 10.1038/s41467-022-33598-x.

35. Pan JA, Zhang H, Lin H, Gao L, Zhang HL, Zhang JF et al. Irisin ameliorates doxorubicin-induced cardiac perivascular fibrosis through inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition by regulating ROS accumulation and autophagy disorder in endothelial cells. *Redox Biol*. 2021;46:102120. Doi: 10.1016/j.redox.2021.102120.

Информация об авторах

Марченко Владимир Александрович – канд. мед. наук, научный сотрудник отдела биотехнологии, Научно-исследовательский институт гриппа имени А. А. Смородинцева; доцент кафедры медицинской микробиологии, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: vmarcenco@gmail.com, ORCID: 0000-0001-6870-3157.

Зелинская Ирина Александровна – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории биопротезирования и кардиопротекции Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: irina.selinskaja@gmail.com, ORCID: 0000-0002-1971-3444.

Польдичева Екатерина Юрьевна – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории биопротезирования и кардиопротекции Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: ekaterinapodyachevaspb@gmail.com, ORCID: 0000-0002-0365-3301.

Мухаметдинова Дарья Владимировна – лаборант-исследователь научно-исследовательской группы экспериментальной патоморфологии Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: mukh.dv@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-7109-1187.

Торопова Яна Геннадьевна – д-р. биол. наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией биопротезирования и кардиопротекции Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: yana.toropova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1629-7868.

Галагуза Михаил Михайлович – д-р. мед. наук, профессор, член-корр. РАН, директор Института экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский

центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: galagoudza@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5129-9944.

Люзнов Дмитрий Анатольевич – д-р. мед. наук, профессор, директор, Научно-исследовательский институт гриппа имени А. А. Смородинцева; зав. кафедрой инфекционных болезней, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: dmitry.lioznov@influenza.spb.ru, ORCID: 0000-0003-3643-7354.

Жилинская Ирина Николаевна – д-р. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологии, Научно-исследовательский институт гриппа имени А. А. Смородинцева; профессор кафедры медицинской микробиологии, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: irina@influenza.spb.ru, ORCID: 0000-0002-0084-1323.

Authors information

Marchenko Vladimir A. – Candidate (Ph.D.) of Medical Sciences, Researcher, Biotechnology Department, Smorodintsev Research Institute, Assistant Professor, Medical Microbiology Department, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia, e-mail: vmarcenco@gmail.com, ORCID: 0000-0001-6870-3157.

Zelinskaya Irina A. – Laboratory of Bioprosthesis and Cardiac Protection, Center of Experimental Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Institute, Saint Petersburg, Russia, e-mail: irina.selinskaja@gmail.com, ORCID: 0000-0002-1971-3444.

Podyacheva Ekaterina Yu. – Junior Researcher, Laboratory of Bioprosthesis and Cardiac Protection, Center of Experimental

tal Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Institute, Saint Petersburg, Russia, e-mail: ekaterinapodyachevaspb@gmail.com, ORCID: 0000-0002-0365-3301.

Mukhametdinova Darya V. – Laboratory Research Assistant, Experimental Pathomorphology Group, Center of Experimental Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Institute, Saint Petersburg, Russia, e-mail: mukh.dv@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-7109-1187.

Toropova Yana G. – Sc. D. (Biology), Head, Laboratory of Bioprosthesis and Cardiac Protection, Center of Experimental Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Institute, Saint Petersburg, Russia, e-mail: yana.toropova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1629-7868.

Galagudza Michael M. – MD, Professor; Member, Russian Academy of Sciences; Director, Institute of Experimental Medicine, Chief researcher, Laboratory of Microcirculation and Myocardial Metabolism; Head, Department of Pathology, Almazov National Medical Research Institute, Saint Petersburg, Russia, e-mail: galagoudza@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5129-9944.

Lioznov Dmitry A. – MD, Professor, Director, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Head, Department of Infectious Diseases, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: dmitry.lioznov@influenza.spb.ru, ORCID: 0000-0003-3643-7354.

Zhilinskaya Irina N. – Sc. D. (Biology), Leading Researcher, Biotechnology Department, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Professor, Medical Microbiology Department, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia, e-mail: irina@influenza.spb.ru, ORCID: 0000-0002-0084-1323.

А. Н. ИВАНОВ, М. А. САХАНЬ, А. В. ЕРМАКОВ,
А. А. САВКИНА, Т. В. СТЕПАНОВА, В. В. НИКИТИНА,
Е. В. ЛЕНГЕРТ, Т. С. КИРИЯЗИ

Влияние полилактидных раневых покрытий с таниновой кислотой на концентрацию маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов, Россия
410012, Россия, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112
E-mail: lex558452@gmail.com

Статья поступила в редакцию 19.02.24 г.; принята к печати 27.05.24 г.

Резюме

Введение. В настоящее время остро стоит проблема поиска новых эффективных средств лечения кожных ран. Одним из возможных решений проблемы представляется применение синтетических раневых покрытий на основе полилактида с адресной доставкой таниновой кислоты. **Цель.** Оценка изменения концентрации маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток под влиянием микрокамерных полилактидных раневых покрытий, нагруженных таниновой кислотой, в динамике заживления экспериментального полнослойного дефекта кожи у белых крыс. **Материалы и методы.** Для достижения цели выполнен эксперимент на 63 белых крысах-самцах, разделенных на четыре группы: интактные животные (n=9), группа сравнения (n=18), опытные группы № 1, 2 (по n=18). У животных сравнительной и опытных групп оперативным путем создавалась модель острой эксцизионной кожной раны размером 10x10 мм. Животным опытной группы № 1 на сформированный кожный дефект накладывалось полилактидное микрокамерное раневое покрытие без активных компонентов. Крысам опытной группы № 2 накладывалось аналогичное покрытие, микрокамеры которого были нагружены таниновой кислотой. Оценивались концентрации в крови фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), синдекана-1, sE-селектина. **Результаты.** В результате исследований обнаружили, что заживление полнослойного дефекта кожи у крыс сопровождается альтерацией и активацией эндотелия, характеризующимися повышением сывороточных концентраций синдекана-1 в 4,4 раза и sE-селектина в 2,2 раза. Также происходит активация ангиогенеза с увеличением концентрации VEGF в 1,7 раза на 7-е сутки эксперимента и в 6,5 раз на 14-е сутки. Покрытия с таниновой кислотой вызывают снижение альтерации эндотелиального гликокаликса и воспалительной активации эндотелиоцитов, что проявляется уменьшением к 7-м суткам эксперимента сывороточных концентраций VEGF и синдекана-1 в 2 раза и sE-селектина в 1,7 раз по сравнению с аналогом без активных компонентов. На 14-е сутки эксперимента в опытной группе № 2 концентрации VEGF в 5,9, Синдекана-1 в 2,8, а E-селектина в 2,2 раза меньше, чем у крыс группы сравнения. При этом, концентрации VEGF и E-селектина соответствуют значениям интактных животных, а уровень синдекана-1 превышает контроль на 58 %. **Заключение.** Полилактидные раневые покрытия с микрокамерами, заполненными таниновой кислотой, оказывают значительное влияние на течение раневого процесса у крыс с полнослойным дефектом кожи.

Ключевые слова: раневые покрытия, послыйный дефект кожи, таниновая кислота, полилактид, фактор роста эндотелия сосудов, синдекан-1, sE-селектин

Для цитирования: Иванов А. Н., Сахань М. А., Ермаков А. В., Савкина А. А., Степанова Т. В., Никитина В. В., Ленгерт Е. В., Кириязи Т. С. Влияние полилактидных раневых покрытий с таниновой кислотой на концентрацию маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):81–88. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-81-88.

A. N. IVANOV, M. A. SAHAN, A. V. ERMAKOV,
A. A. SAVKINA, T. V. STEPANOVA, V. V. NIKITINA,
E. V. LENGERT, T. S. KIRIYAZI

Influence of polylactide wound dressings with tannic acid on serum concentration of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation in white rats during healing of experimental full-thickness skin defect

V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russia
112, Bolshaya Kazachya str., Saratov, Russia, 410012
E-mail: lex558452@gmail.com

Received 19.02.24; accepted 27.05.24

Summary

Introduction. The development of effective treatment of skin wounds is the one of the current challenges. Synthetic wound dressings based on polylactide, capable of targeted delivery of biologically active substances, provide new solutions to the problem of stimulating regeneration. Tannic acid seems to be a promising substance as a component of wound dressings due to its anti-inflammatory and antioxidant effects. **The aim** of the study was to assess the changes in the serum concentrations of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation under the influence of microchamber polylactide wound dressings loaded with tannic acid during the healing of an experimental full-thickness skin defect in white rats. **Materials and Methods.** The experiment was carried out on 63 white male rats, divided into four groups: intact animals (n=9), comparison group (n=18), experimental groups No. 1, 2 (n=18 each). A 10×10 mm acute excisional skin wound model was surgically created in animals of the comparative and experimental groups. Animals in the experimental group № 1 received a polylactide microchamber wound dressing without active components on the formed skin defect. The rats of experimental group № 2 received a similar dressing with its microchambers loaded with tannic acid. The concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF), syndecan-1, and sE-selectin in the blood were assessed. **Results.** It was found that the healing of a full-thickness skin defect in rats is accompanied by alteration and activation of the endothelium, characterized by an increase in serum concentrations of syndecan-1 in 4.4 times and sE-selectin in 2.2 times. There is also an activation of angiogenesis with increase in VEGF concentration 1.7 times on the 7th day and 6.5 times on the 14th day of the experiment. Dressings with tannic acid cause a decrease in the alteration of the endothelial glycocalyx and inflammatory activation of endothelial cells, which is manifested by a decrease in serum concentrations of VEGF and syndecan-1 by 2 times and sE-selectin by 1.7 times on the 7th day of the experiment compared to the analogue without active components and complete normalization of the serum concentration of the angiogenesis stimulator VEGF by the 14th day of the experiment. **Conclusion.** Polylactide wound dressings with micro-chambers filled with tannic acid have a significant effect on the course of the wound process in rats with a full-thickness skin defect.

Keywords: wound dressings, wound defect of the skin, tannic acid, polylactic acid, vascular endothelial growth factor, syndecan-1, sE-selectin

For citation: Ivanov A. N., Sahan M. A., Ermakov A. V., Savkina A. A., Stepanova T. V., Nikitina V. V., Lengert E. V., Kiriya T. S. Influence of polylactide wound dressings with tannic acid on serum concentration of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation in white rats during healing of experimental full-thickness skin defect. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2024;23(3):81–88. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-81-88.

Введение

Распространенность острых и хронических ран, как в России, так и за рубежом, остается на высоком уровне, что обуславливает актуальность совершенствования технологий их лечения. Согласно прогнозам национальной программы медицинского страхования в США ожидается, что к 2024 г. ежегодный объем рынка средств для ухода за ранами достигнет 15–22 миллиардов долларов [1].

Значительные изменения в принципах лечения ран стали возможны с развитием технологий обработки полимеров естественного и искусственного происхождения [2]. В качестве материала для создания раневых покрытий использовались различные природные полимеры, в том числе коллаген, хитозан, фибрин, желатин, гиалуроновая кислота и шелк [3].

Синтетические полимеры обладают рядом преимуществ по сравнению с натуральными, включая дополнительные возможности модификации их механических свойств. Среди синтетических полимеров для создания раневых покрытий использовались полигликолид, полиэтиленгликоль, поликапролактон, полилактид и сополимеры молочной и гликолевой кислот [4, 5]. Особый интерес представляет полилактид – полимер, сочетающий оптимальные механические свойства, включая прочность, биodeградацию без токсичных продуктов и невысокую стоимость производства [6]. Согласно современным данным литературы, использование гидрогелей и трехмерно организованных волокон способно ускорить заживление ран, а применение биodeградируемых полимеров для создания раневых покрытий позволяет из-

бежать травматизации тканей при смене повязки [7]. Новые возможности для ускорения заживления раневых дефектов тканей открывают технологии микро- и наноструктурирования перевязочных материалов, которые позволяют включать в состав биополимеров различные биологически активные вещества, влияющие на течение раневого процесса.

Естественное заживление ран включает в себя ряд последовательно сменяющих друг друга сложных процессов, включая гемостаз, воспаление, формирование и ремоделирование ткани [8]. Очевидно, что срок заживления раны напрямую зависит от скорости сменяемости фаз. В этой связи подбор биологически активного вещества должен осуществляться с учетом его влияния на разные стадии раневого процесса. В качестве биологически активного вещества перспективным представляется использование таниновой кислоты. Согласно данным литературы, таниновая кислота обладает выраженным противовоспалительным действием, снижает образование активных форм кислорода, а также принимает участие в процессах ремоделирования коллагена [9].

Цель исследования – изучить динамику изменений концентрации маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи и выявить влияние раневых покрытий из полилактида без активных компонентов и с таниновой кислотой на изменения параметров ангиогенной активности эндотелиоцитов в процессе регенерации.

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования включал в себя четыре группы беспородных крыс-самцов в возрасте от 6 до 12 месяцев, массой 180–240 граммов.

В первую (контрольную) группу вошли 9 крыс.

Вторую группу составили животные (18 крыс) с раневым полнослойным дефектом кожи в межлопаточной области (группа сравнения).

Третья группа (опытная группа № 1) состояла из 18 крыс, которым выполнена модель раневого полнослойного дефекта кожи в межлопаточной области, который был закрыт биодеградируемым микрокамерным покрытием, не содержащим активных компонентов.

В четвертую (опытная группа № 2) вошло 18 крыс, которым выполнена модель раневого полнослойного дефекта кожи в межлопаточной области, закрытого биодеградируемым микрокамерным покрытием, микрокамеры которого были заполнены таниновой кислотой.

При выполнении эксперимента соблюдались все условия, предусмотренные Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, с Федеральным законом от 27.12.2018 N 498-ФЗ (ред. от 27.12.2019) «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации». Исследование выполнено в соответствии с рекомендациями этического комитета СГМУ (протокол № 12 от 30.06.2022 г.).

Всем животным за 10 минут до проведения манипуляций внутримышечно вводили раствор тилетамина

и золазепам (Телазол 100 мг®, производитель *Zoetis Manufacturing & Research Spain*, Испания) из расчета 20 мг/кг (0,2 мл/кг) массы тела и ксилазина гидрохлорида (Ксиланит®, производитель ООО «Нита-Фарм», Россия) в дозе 10 мг/кг (0,5 мл/кг) массы тела. Моделирование полнослойного дефекта кожи осуществлялось хирургическим методом [10]. У животных сравнительной и опытных групп после депиляции и антисептической обработки кожи в межлопаточной области с помощью квадратного трафарета спиртовым раствором йода 5 % наносились контуры будущего раневого дефекта размером 10×10 мм. По разметке с помощью скальпеля проводилось формирование полнослойного раневого дефекта. Для того чтобы избежать влияния анальгетиков на интенсивность воспалительного ответа, тонус сосудов и перфузию микроциркуляторного русла в послеоперационном периоде дополнительного обезболивания не проводилось.

Раневые покрытия из полилактида (полимолочная кислота) в виде массивов полимерных микрорезервуаров (микрокамер) были изготовлены с применением шаблона с рельефом в виде лунок микронного размера по методике, изложенной в [11]. Толщина стенок микрокамер покрытия составляла 0,3–0,5 мкм, горизонтальное сечение микрокамер покрытия имело форму квадрата со стороной 10 мкм, высота микрокамер составляла 12 мкм.

Площадь покрытия соответствовала размеру раневого дефекта и составляла порядка 1 см². Наложение покрытия проводилось однократно, непосредственно после формирования раневого дефекта. После выполнения манипуляции каждая крыса помещалась в отдельную клетку. В послеоперационном периоде ежедневно проводился визуальный контроль раневого дефекта. Признаков нагноения ран, а также выпадений раневых покрытий из раны не было.

Для биохимических исследований перед выведением из эксперимента у животных под наркозом проводился забор крови путем пункции правых отделов сердца. Кровь забирали в пробирки *Vacutette* с активатором свертывания и разделительным гелем для получения сыворотки. Сыворотку крови получали путем центрифугирования 3000 об/мин. Затем их аликвотировали, замораживали и хранили при температуре –80 °С. Животных сравнительной и опытных групп выводили из эксперимента на 7-е и 14-е сутки (по 9 особей), путем декапитации.

Концентрации VEGF, синдекана-1, sE-селектина определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов *Cloud-Clone Corp* (Китай). При выполнении ИФА определение оптической плотности проводилось с использованием микропланшетного спектрофотометра *StatFax 4200 (Awareness Technology, США)*.

Также на 7-е и 14-е сутки эксперимента оценивалась динамика регенерации раневой поверхности. Для этого на раневой дефект накладывалась стерильная полимерная пленка, затем маркером на пленку наносилась линия по краю раневого дефекта, после данной манипуляции пленка накладывалась на миллиметровую бумагу, по которой проводилось вычисление площади.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Statistica 10 (StatSoft, США). Большинство данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили. Для сравнения полученных показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считались достоверными при показателе достоверности различий $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что на 7-е сутки после формирования полнослойного раневого дефекта кожи у белых крыс концентрация VEGF в сыворотке крови возрастает в 4 раза по сравнению с контролем (рисунок, а). При этом сывороточные концентрации маркеров альтерации и воспалительной активации эндотелиальных клеток – синдекана-1 и sE-селектина на 7-е сутки после формирования полнослойного дефекта кожи возрастают в 4,4 (рисунок, б) и 2,2 раза (рисунок, в) соответственно. Концентрация VEGF увеличивается в 1,7 раза в период с 7-х по 14-е сутки эксперимента, к 14-м суткам превышая значения интактных животных в 6,5 раз (рисунок, а). Значимой динамики концентраций синдекана-1 и sE-селектина в период между 7-ми и 14-ми сутками после формирования дефекта кожи у крыс не обнаружено (рисунок, б, в). Следовательно, при заживлении полнослойного дефекта кожи у белых крыс без использования покрытий отмечается выраженная активация ангиогенеза до 14-х суток эксперимента, которая сопровождается альтерацией эндотелиального гликокаликса и воспалительной активацией эндотелиоцитов.

Следует отметить, что на 7-е сутки эксперимента у крыс группы сравнения отмечалось сокращение площади раневого дефекта, которая в среднем составила 32,3 (28; 46) мм². К 14-м суткам исследования площадь раны у животных группы сравнения значимо ($p < 0,001$) уменьшалась по сравнению с 7-ми сутками и составляла 6,3 (5; 16) мм².

Результаты биохимических исследований сыворотки крови у крыс опытной группы № 1 свидетельствуют, что при закрытии раневого дефекта кожи полилактидным микрокамерным покрытием без активных компонентов концентрация VEGF и синдекана-1 на 7-е сутки эксперимента не имеют значимых отличий относительно значений группы сравнения в тот же срок наблюдения (рисунок, а, б). При этом концентрация sE-селектина в крови у крыс опытной группы № 1 на 7-е сутки эксперимента на 16 % меньше, чем в группе сравнения в тот же срок наблюдения (рисунок, в). Относительно контроля на 7-е сутки эксперимента у крыс опытной группы № 1 в сыворотке крови повышены концентрации VEGF в 3,4, синдекана-1 в 3,6 раза, а sE-селектина на 88 % (рисунок).

Согласно данным рисунка, а, на 14-е сутки эксперимента уровень VEGF в сыворотке крови животных опытной группы № 1 статистически значимо ниже на 48 % значений группы сравнения в тот же срок наблюдения. Однако при закрытии дефекта кожи раневым покрытием без активных компонентов концентрация VEGF у животных на 14-е сутки экспери-

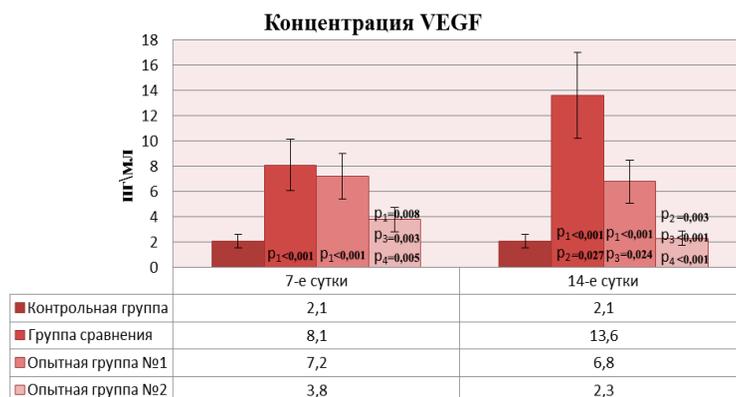
мента в 3,2 раза превышает контрольные значения и не имеет отличий по сравнению со значениями 7-х суток. Уровень маркера альтерации эндотелиального гликокаликса – синдекана-1 в крови у животных опытной группы № 1 не имеет значимых отличий от такового у крыс группы сравнения на 14-е сутки эксперимента. На 14-е сутки концентрация в крови синдекана-1 увеличена относительно контрольных значений в 3,5 раза. Тенденция к уменьшению среднего значения концентрации синдекана-1 у крыс опытной группы № 1 в период между 7-ми и 14-ми сутками эксперимента статистической значимости не достигает (рисунок, б). На 14-е сутки эксперимента опытная № 1 и сравнительная группы значимых отличий в уровне sE-селектина не имеют. При этом концентрация в крови sE-селектина у животных опытной группы № 1 повышена по сравнению с контрольными значениями на 51 % (рис. 1, в).

Макроскопически отмечается, что у животных опытной группы № 1 на 7-е сутки эксперимента площадь раны сокращалась в среднем до 23,4 (20; 36) мм², что статистически значимо меньше ($p = 0,008$), чем у крыс группы сравнения. Через 2 недели у 40 % животных опытной группы № 1 кожная рана эпителизовалась полностью, площадь раны в группе в среднем составила 4,4 (0; 10) мм².

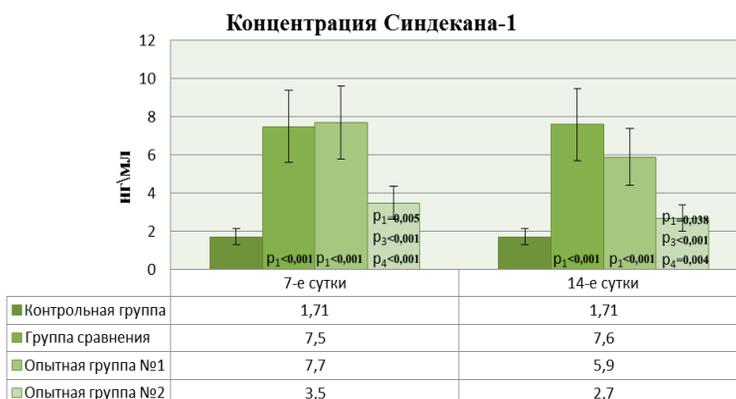
Таким образом, под влиянием полилактидного покрытия без активных компонентов у белых крыс с полнослойным дефектом кожи на 1-й неделе уменьшается воспалительная активация эндотелиоцитов. На второй неделе ангиогенная активность у крыс опытной группы № 1 не снижается, но становится ниже таковой у животных, которым раны не закрывались.

Результаты, представленные на рис. 1, свидетельствуют, что при закрытии полнослойного дефекта кожи полилактидным покрытием с таниновой кислотой активация ангиогенеза, сопровождающаяся альтерацией эндотелиального гликокаликса и воспалительной активацией эндотелиоцитов выражены меньше, чем у крыс группы сравнения. Так, на 7-е сутки эксперимента у животных, которым рана закрывалась покрытием с таниновой кислотой, концентрации VEGF и Синдекана-1 в 2 раза, а E-селектина в 1,7 раза меньше, чем у крыс группы сравнения в тот же срок наблюдения. Вместе с тем на 7-е сутки эксперимента у крыс опытной группы № 2 отмечается повышение сывороточных концентраций VEGF, E-селектина и синдекана-1 относительно контрольных значений на 81 %, 31 % и в 2 раза соответственно. По сравнению с аналогом без активных компонентов раневое покрытие, содержащее таниновую кислоту, вызывает уменьшение сывороточных концентраций VEGF на 47 %, синдекана-1 на 54 %, а E-селектина на 30 % у животных на 7-е сутки после формирования дефекта кожи.

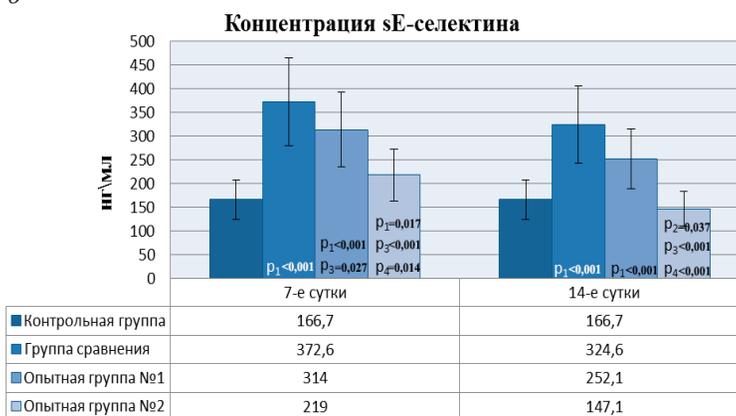
На 14-е сутки эксперимента в опытной группе № 2 концентрации VEGF в 5,9, синдекана-1 в 2,8, а E-селектина в 2,2 раза меньше, чем у крыс группы сравнения. При этом, концентрации VEGF и E-селектина соответствуют значениям интактных животных, а уровень синдекана-1 превышает контроль на 58 %. В этот срок наблюдения при исполь-



а



б



в

Сывороточные концентрации VEGF (а), синдекана-1 (б) и sE-селектина (в) у крыс сравнительной и опытной групп на 7-е и 14-е сутки: p_1 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) по сравнению с контролем; p_2 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно 7-х суток в той же группе; p_3 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно группы сравнения в тот же срок наблюдения; p_4 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно раневого покрытия без активных компонентов в тот же срок наблюдения. Значения медианы для каждой из групп представлены под графиком.

Serum concentration of VEGF (а), syndecan-1 (б) and sE-selectin (в) in rats in comparison and experimental groups on the 7th and 14th days: p_1 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) compared to control; p_2 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) relative to the 7th day in the same group; p_3 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) relative to the comparison group at the same observation period; p_4 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) relative to the wound dressing without active components at the same observation period. The median values for each group are presented below the graph

зовании для закрытия раны покрытия с таниновой кислотой по сравнению с применением аналога без активных компонентов отмечается снижение сывороточных концентраций VEGF на 66 %, синдекана-1 на 54 %, а E-селектина на 41 % (рисунок).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у животных опытной группы, которым выполнялось закрытие раневого дефекта полилактидным покрытием с таниновой кислотой, на 7-е сутки эксперимента площадь раны сокращалась в среднем до 15,6 (10,8; 21,2) мм². Площадь раны у животных опытной группы № 2 была значимо меньше ($p = 0,008$), чем у крыс группы сравнения и крыс

опытной группы № 1 ($p = 0,032$). Через 2 недели у 60 % животных опытной группы № 2 кожная рана эпителизировалась полностью, площадь раны в группе в среднем составила 5,1 (0; 8) мм². Значимых различий площади раны через 14 суток после наложения покрытий без активных компонентов и покрытий с микрокамерами, загруженными таниновой кислотой, не выявлено ($p = 0,927$).

Таким образом, таниновая кислота в составе покрытия вызывает выраженное снижение альтерации эндотелиального гликокаликса, воспалительной активации эндотелиоцитов и к 14-м суткам способствует полной нормализации концентрации стимулятора

ангиогенеза VEGF в крови животных с полнослойным дефектом кожи, что выражается ускорением темпов эпителизации раны.

В результате проведенных биохимических исследований установлено, что заживление полнослойного дефекта кожи у крыс сопровождается альтерацией и активацией эндотелия, характеризующимися повышением сывороточных концентраций синдекана-1 и sE-селектина в 4,4 и 2,2 раза, активацией ангиогенеза с увеличением концентрации VEGF в 4 и 6,5 раз на 7-е и 14-е сутки эксперимента. Известно, что интенсификация отщепления растворимой формы синдекана-1 в очаге воспаления обеспечивается различными ферментами, в том числе ферментами лейкоцитов [12], и свидетельствует об альтерации гликокаликса эндотелиальных клеток, нарушении адгезивных свойств и барьерных функций [13, 14]. Повышение экспрессии sE-селектина происходит под влиянием провоспалительных цитокинов и характеризует воспалительную активацию эндотелиальных клеток, обеспечивающую роллинг лейкоцитов и их последующую трансэндотелиальную миграцию в очаг воспаления [15]. Индукторами повышения продукции VEGF, как основного стимулятора ангиогенеза, при альтерации тканей выступают гипоксия, ацидоз, активные формы кислорода, воспалительные цитокины [16]. Выявленное повышение уровня VEGF в крови у крыс группы сравнения соответствует ранее опубликованным литературным данным [17]. Вместе с тем следует отметить, что на второй неделе эксперимента у крыс группы сравнения продолжается увеличение продукции VEGF, что свидетельствует о продолжающейся воспалительной реакции и вторичной альтерации тканей [16].

Для изучения механизмов сосудистых эффектов полилактидных покрытий были выполнены биохимические исследования маркеров альтерации, воспалительной активации эндотелиальных клеток и ангиогенеза. Обнаружено, что под влиянием полилактидного покрытия без активных компонентов у белых крыс с полнослойным дефектом кожи на 1-й неделе уменьшается концентрация sE-селектина относительно группы сравнения, что отражает снижение воспалительной активации эндотелиальных клеток, при этом значимых изменений концентрации синдекана-1 не выявлено. На второй неделе ангиогенная активность у крыс опытной группы № 1 не снижается, но становится ниже таковой у животных, которым раны не закрывались. Ранее было продемонстрировано, что полилактидные нанопленки и фибриллярные покрытия обеспечивают механическую защиту регенерирующих тканей, препятствуют вторичной альтерации тканей, способствуют пролиферации фибробластов и ускоряют заживление ран [18, 19]. Вероятно, что снижение воспалительной активации эндотелиальных клеток у крыс, которым закрытие дефекта проводилось с помощью полилактидных покрытий без активных компонентов, и отсутствие нарастания продукции VEGF на 2-й неделе эксперимента обусловлено явлением уменьшения вторичной альтерации.

Таким образом, полилактидные покрытия без активных компонентов не влияют на развитие альтерации эндотелия, но ограничивают воспалительную

активацию эндотелиальных клеток на первой неделе после формирования полнослойного дефекта кожи, а также ограничивают нарастание проангиогенной активности на второй неделе эксперимента.

Установлено, что полилактидные покрытия с таниновой кислотой к 14-м суткам вызывают снижение сывороточных концентраций VEGF на 66 %, синдекана-1 на 54 % и sE-селектина на 30–41 % по сравнению с аналогом без активных компонентов. При этом уровень VEGF в крови у животных опытной группы № 2 полностью нормализуется и находится в пределах вариабельности контрольной группы, что указывает на завершение активной фазы ангиогенеза. Ранее были описаны антиангиогенные эффекты пролонгированного высвобождения таниновой кислоты в подкожной клетчатке [20]. В этой связи было сделано предположение, что ограничение избыточного ангиогенеза может также вносить вклад в ускорение нормализации локального кровотока при использовании раневого покрытия с микрокамерами, заполненными таниновой кислотой. В настоящее время проводятся исследования возможностей использования для заживления ран биоадгезивов, содержащих таниновую кислоту, авторского коллектива из США и Китая, результаты которого указывают на двухфазное изменение экспрессии VEGF в зоне раневого дефекта кожи. С помощью иммуногистохимического окрашивания авторы выявили увеличение в сравнении с естественным заживлением экспрессии CD31 (кластер детерминации 31), PDGF (тромбоцитарный фактор роста) и VEGF на 7-й день под влиянием таниновой кислоты. Вместе с тем на 14-й день эксперимента уровни экспрессии CD31, PDGF и VEGF стали ниже, чем при естественном заживлении. В этой связи авторы заключают, что редукция избыточного ангиогенеза содействует регенерации кожи без рубцов на более поздней стадии (стадии ремоделирования) заживления ран [21]. Следовательно, одновременно двумя независимыми исследованиями была выявлена способность таниновой кислоты ограничивать ангиогенез на поздних стадиях заживления ран. Причины различий эффектов на ранних стадиях (7-суток) могут быть обусловлены различными свойствами носителей, использованных для доставки таниновой кислоты в рану.

Снижение сывороточных концентраций синдекана-1 может быть связано с уменьшением лейкоцитарной инфильтрации зоны раневого дефекта при его закрытии покрытием с таниновой кислотой, так как ферменты нейтрофилов обеспечивают отщепление компонентов гликокаликса от эндотелиоцитов [12]. Полученные результаты собственных исследований согласуются с данными литературы, касающимися эффектов таниновой кислоты на структурные изменения при заживлении кожной раны. Так, при применении растворов таниновой кислоты была описана полная редукция нейтрофильной инфильтрации к 10-му дню эксперимента [22]. Учитывая то, что основными стимуляторами экспрессии sE-селектина на поверхности эндотелиоцитов являются воспалительные цитокины, динамика его концентрации у крыс опытной группы № 2 может объясняться описанным

в литературе снижением под влиянием таниновой кислоты в растворе или в составе адгезива продукции интерлейкина-1-бета и фактора некроза опухоли-альфа [21, 22].

Таким образом, покрытия с таниновой кислотой вызывают снижение альтерации эндотелиального гликокаликса и воспалительной активации эндотелиоцитов, что проявляется уменьшением сывороточных концентраций синдекана-1 на 54 % и sE-селектина на 30–41 % по сравнению с аналогом без активных компонентов, а к 14-м суткам способствует полной нормализации концентрации стимулятора ангиогенеза VEGF в крови животных с полнослойным дефектом кожи.

Заключение

Заживление полнослойного дефекта кожи у крыс сопровождается альтерацией и активацией эндотелия, что выражается повышением сывороточных концентраций синдекана-1 и sE-селектина в 4,4 и 2,2 раза, активацией ангиогенеза с увеличением концентрации VEGF в 4 и 6,5 раз на 7-е и 14-е сутки эксперимента. Покрытия с таниновой кислотой вызывают снижение альтерации эндотелиального гликокаликса и воспалительной активации эндотелиоцитов, что проявляется уменьшением сывороточных концентраций синдекана-1 на 54 % и sE-селектина на 30 % и 41 % по сравнению с аналогом без активных компонентов, а к 14-м суткам способствует полной нормализации концентрации стимулятора ангиогенеза VEGF в крови животных с полнослойным дефектом кожи.

Полученные результаты исследования свидетельствуют, что полилактидные раневые покрытия с микрокамерами, заполненными таниновой кислотой, оказывают значительное влияние на течение раневого процесса, что обуславливает перспективы применения данного метода лечения в клинической практике. Вместе с тем обязательным условием для начала клинических испытаний является всесторонняя оценка безопасности. Поэтому перспективы дальнейшей разработки темы связаны с исследованием морфологических изменений, направленных на выявление гистопатогенных эффектов, а также параметров системного воспалительного ответа и реакций эндогенной антиоксидантной системы на применение таниновой кислоты.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Источник финансирования / Funding

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России «Разработка микрокамерных раневых покрытий, обеспечивающих локальную модуляцию оксидативного гомеостаза тканей». / The study was supported by the state assignment of the Razumovsky Saratov State Medical University of the Ministry of Health of Russia «Development of microchamber wound dressings providing local modulation of tissue oxidative homeostasis».

Литература / References

1. Sen CK. *Human Wounds and Its Burden: An Updated Compendium of Estimates. Advances in wound care.* 2019; 8(2):39-48. Doi: 10.1089/wound.2019.0946.
2. Agrawal P, Soni S, Mittal G, Bhatnagar A. *Role of polymeric biomaterials as wound healing agents. Int J Low Extremity Wounds.* 2014;13(3):180-190. Doi: 10.1177/1534734614544523.
3. Negut I, Dorcioman G, Grumezescu V. *Scaffolds for Wound Healing Applications. Polymers.* 2020;12(9):2010. Doi: 10.3390/polym12092010.
4. Zhang J, Song C, Han Y, Xi Z, Zhao L, Cen L, Yang Y. *Regulation of inflammatory response to polyglycolic acid scaffolds through incorporation of sodium tripolyphosphate. Eur Polym J.* 2020;122:109349. Doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109349.
5. Joseph B, Augustine R, Kalarikkal N, Thomas S, Seantier B, Grohens Y. *Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications. Mater Today Commun.* 2019;19:319-335. Doi: 10.1016/j.mtcomm.2019.02.009.
6. Hamad K. *Properties and medical applications of poly (lactic acid): A review. Express Polym Lett.* 2015;9(5):435-455. Doi: 10.3144/expresspolymlett.2015.42.
7. Radhakumary C, Antonty M, Sreenivasan K. *Drug loaded thermoresponsive and cytocompatible chitosan based hydrogel as a potential wound dressing. Carbohydr Polym.* 2011;83(2):705-713. Doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.042.
8. Wang X, Cheng F, Liu J, Smatt JH, Gepperth D, Lastusaari M, Xu C, Hupa L. *Biocomposites of copper-containing mesoporous bioactive glass and nanofibrillated cellulose: Biocompatibility and angiogenic promotion in chronic wound healing application. Acta biomater.* 2016;46:286-298. Doi: 10.1016/j.actbio.2016.09.021.
9. Cheng M, Hu L, Xu G, Pan P, Liu Q, Zhang Z, He Z, Wang C, Liu M, Chen L, Chen J. *Tannic acid-based dual-network homogeneous hydrogel with antimicrobial and pro-healing properties for infected wound healing. Colloids Surf B Biointerfaces.* 2023;227:113354. Doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113354.
10. Смотровин С.М., Довнар Р.И., Васильков А.Ю. и др. *Влияние перевязочного материала, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной раны // Журн. ГТМУ. – 2012. – № 1. – С. 75–80. [Smotrin SM, Dovnar RI, Vasilkov AY, Prokopchik NI, Ioskevich NN. The effect of dressing material containing gold or silver nanoparticles on the healing of an experimental wound. J Grodno State Med University. 2012;1(37):75-80. (in Russ.)].*
11. Иванов А.Н., Ермаков А.В., Ленгерт Е.В. и др. *Раневое микрокамерное покрытие из полилактида и способ его получения. Патент № 281120; заявл. 2023117375/04(037127) от 30.06.2023. Опубликовано: 11.01.2024 Бюл. № 2. [Ivanov AN, Ermakov AV, Lengert EV, Stepanova TV, Savkina AA, Kiriya TS. Wound microchamber coating made of polylactide and method for its production. Patent 2811200, Appl. 2023117375/04(037127) 06/30/2023. Published: 01/11/2024 Bull. No. 2.2023. (in Russ.)].*
12. Gopal S. *Syndecans in Inflammation at a Glance. Front Immunol.* 2020;11:227. Doi: 10.3389/fimmu.2020.00227.
13. McDonald, KK, Cooper S, Danielzak L, Leask RL. *Glycocalyx Degradation Induces a Proinflammatory Phenotype and Increased Leukocyte Adhesion in Cultured Endothelial Cells under Flow. PloS one.* 2016;11(12):e0167576. Doi: 10.1371/journal.pone.0167576.
14. Voyvodic PL, Min D, Liu R, Williams E, Chitalia V, Dunn AK, Baker AB. *Loss of syndecan-1 induces a pro-inflammatory phenotype in endothelial cells with a dysregu-*

lated response to atheroprotective flow. *J Biol Chem.* 2014; 289(14):9547-9559. Doi: 10.1074/jbc.M113.541573.

15. Silva M, Videira PA, Sackstein R. E-Selectin Ligands in the Human Mononuclear Phagocyte System: Implications for Infection, Inflammation, and Immunotherapy. *Front Immunol.* 2018;8:1878. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01878.

16. Shaik-Dasthagirisahab YB, Varvara G, Murmura G, Saggini A, Potalivo G, Caraffa A, Antinolfi P, Tete S, Tripodi D, Conti F, Cianchetti E, Toniato E, Rosati M, Conti P, Speranza L, Pantalone A, Saggini R, Theoharides T C, Pandolfi F. Vascular endothelial growth factor (VEGF), mast cells and inflammation. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2013;26(2):327-335. Doi: 10.1177/039463201302600206.

17. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2014;3(10):647-661. Doi: 10.1089/wound.2013.0517.

18. Aoki S, Kinoshita M, Miyazaki H, Saito A, Fujie T, Iwaya K, Takeoka S, Saitoh D. Application of poly-L-lactic acid nanosheet as a material for wound dressing. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(2):236-240. Doi: 10.1097/PRS.0b013e3182789c79.

19. Bi H, Feng T, Li B, Han Y. In Vitro and In Vivo Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing. *Polymers.* 2020;12(4):839. Doi: 10.3390/polym12040839.

20. Saveleva MS, Ivanov AN, Kurtukova MO, Atkin VS, Ivanova AG, Lyubun GP, Martyukova AV, Cherevko EI, Sargsyan AK, Fedonnikov A S, Norkin IA, Skirtach AG, Gorin DA, Parakhonskiy BV. Hybrid PCL/CaCO₃ scaffolds with capabilities of carrying biologically active molecules: Synthesis, loading and in vivo applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2018;85:57-67. Doi: 10.1016/j.msec.2017.12.019.

21. Wu K, Fu M, Zhao Y, Gerhard E, Li Y, Yang J, Guo J. Anti-oxidant anti-inflammatory and antibacterial tannin-cross-linked citrate-based mussel-inspired bioadhesives facilitate scarless wound healing. *Bioact mater.* 2022;20:93-110. Doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.05.017.

22. Chen Y, Tian L, Yang F, Tong W, Jia R, Zou Y, Yin L, Li L, He C, Liang X, Ye G, Lv C, Song X, Yin Z. Tannic Acid Accelerates Cutaneous Wound Healing in Rats Via Activation of the ERK 1/2 Signaling Pathways. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2019;8(7):341-354. Doi: 10.1089/wound.2018.0853.

Информация об авторах

Иванов Алексей Николаевич – д-р мед. наук, зав. отделением лабораторной диагностики Научно-исследовательского института травматологии, ортопедии и нейрохирургии, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией, зав. кафедрой нормальной физиологии им. И. А. Чувевского, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: lex558452@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4061-5221.

Сахань Максим Алексеевич – ассистент кафедры нормальной физиологии им. И. А. Чувевского, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: maksimsahan425@gmail.com, ORCID: 0009-0004-3909-657X.

Ермаков Алексей Владимирович – канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: oualeksej@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8105-5932.

Савкина Ангелина Альбертовна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2357-400X.

Никитина Виктория Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: vik-nik72@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8893-8612.

Степанова Татьяна Вячеславовна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: cnil-sgmu@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8439-8033.

Ленгерт Екатерина Владимировна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: lengertkatrin@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6447-2811.

Кирязи Татьяна Святославовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии им. И. А. Чувевского, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: fev.6171@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-1180-5560.

Authors information

Ivanov Alexey N. – Doctor of Medical Sciences, Head, Department of Laboratory Diagnostics, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery; Head, Central Scientific Research Laboratory; Head, Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky, Saratov State Medical University, Saratov, Russia, e-mail: lex558452@rambler.ru, ORCID: 0000-0003-4061-5221.

Sahan Maksim A. – Assistant, Department of Normal Physiology named after I.A. Chuevsky; Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: maksimsahan425@gmail.com, ORCID: 0009-0004-3909-657X.

Ermakov Alexey V. – Candidate (PhD) of Physical and Mathematical Sciences, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: oualeksej@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8105-5932.

Savkina Angelina A. – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2357-400X.

Nikitina Victoria V. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Biochemistry, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: vik-nik72@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8893-8612.

Stepanova Tatyana V. – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: cnil-sgmu@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8439-8033.

Lengert Ekaterina V. – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: lengertkatrin@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6447-2811.

Kiriyazi Tatyana S. – Candidate (PhD) of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: fev.6171@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-1180-5560.

УДК 615.015.21
DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-89-95

Г. В. КУКУШКИН, Л. П. СВИРИДКИНА

Влияние лекарственных препаратов различных групп на фармакокинетику цефотаксима в сопоставлении с их действием на лимфатический дренаж тканей

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1
E-mail: germanpharm@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 14.01.24 г.; принята к печати 18.03.24 г.

Резюме

Введение. Лимфатическая система играет ключевую роль в распространении патогенов, включая возбудителей интраабдоминальных инфекций. Актуальной задачей фармакологии является создание методов целенаправленной доставки антибиотиков в лимфатические сосуды и ткани кишечника. Одним из подходов является использование средств, действующих как эндолимфатические проводники, для достижения высокой концентрации лекарств в лимфатической системе. **Цель.** Оценить влияние различных препаратов на концентрацию цефотаксима, антибиотика III поколения, в крови и тканях кишечника, а также на лимфатический дренаж в экспериментах на мышах. **Материалы и методы.** Исследовано влияние гиалуронидазы (ГЛРД), бовгиалуронидазы азоксимера (БовГЛРД+Аз), террилитина (ТРЛ), папайи млечного сока (ПМС), гепарина натрия (ГепН), апротинина (АПРТ), азоксимера бромида (АзБром), фуросемида (ФРСД) и дезоксирибонуклеата натрия (ДЗРН) на время удаления лимфотропного красителя из брыжейки мышей и концентрацию цефотаксима в плазме крови и тканях кишечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. **Результаты.** ГЛРД сокращала время выведения красителя из брыжейки на 26,2 %, БовГЛРД+Аз – на 33,5 %, ТРЛ – на 36 %, ПМС – на 23,1 %, ГепН – на 30,1 %, АПРТ – на 34,6 %. Различия в лимфостимулирующей активности между этими препаратами не были статистически значимы. АзБром и ФРСД увеличивали время удаления красителя на 8,3 % и 6 % соответственно, ДЗРН не оказывал влияния. Препараты ГЛРД, БовГЛРД, ТРЛ, ПМС, ГепН и АПРТ повышали концентрацию ЦФ в крови и тканях кишечника через 1,5 и 24 часа после инъекции, в отличие от моноведения антибиотика. АзБром увеличивал концентрацию ЦФ только через 1,5 часа. ФРСД увеличивал концентрацию антибиотика в тканях кишечника, но не в плазме крови. ДЗРН не влиял на изученные показатели. **Заключение.** Лимфостимулирующие препараты ГЛРД, БовГЛРД, ТРЛ, ПМС, ГепН и АПРТ эффективно направляют антибиотик в лимфатическую систему и могут быть использованы для лимфотропной терапии.

Ключевые слова: цефотаксим, фармакокинетика, лимфатический дренаж, лекарственные препараты, эндолимфатические проводники

Для цитирования: Кукушкин Г. В., Свиридкина Л. П. Влияние лекарственных препаратов различных групп на фармакокинетику цефотаксима в сопоставлении с их действием на лимфатический дренаж тканей. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):89–95. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-89-95.

UDC 615.015.21
DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-89-95

G. V. KUKUSHKIN, L. P. SVIRIDKINA

Effect of drugs of various groups on the pharmacokinetics of cefotaxime in comparison with their effect on lymphatic tissue drainage

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia
1, Ostrovityanova str., Moscow, Russia, 117997
E-mail: germanpharm@yandex.ru

Received 14.01.24; accepted 18.03.24

Summary

Introduction. The lymphatic system plays a key role in spreading pathogens, including those causing intraabdominal infections. An urgent task of pharmacology is to create methods for the targeted delivery of antibiotics to lymphatic vessels and intestinal tissues. One approach is to use agents acting as endolymphatic conductors to achieve a high drug concentration in the lymphatic system. **Aim.** To evaluate the effect of various drugs on the concentration of cefotaxime, a third-generation antibiotic, in blood and intestinal tissues, as well as on lymphatic drainage in experiments on mice. **Materials and methods.** We investigated the ef-

fect of hyaluronidase (HLRD), bovgialuronidase azoximer (BovGLRD+Az), terrilitin (TRL), papaya milky juice (PMJ), sodium heparin (HepS), aprotinin (APRT), azoximer bromide (AzBrom), furosemide (FRSD) and sodium deoxyribonucleate (DRN) on the removal time of lymphotropic dye from mouse mesentery and the cefotaxime concentration in blood plasma and intestinal tissues by high-performance liquid chromatography. *Results.* HLRD reduced the time of dye removal from the mesentery by 26.2%, BovGLRD+Az – by 33.5%, TRL – by 36%, PMS – by 23.1%, HepS – by 30.1%, APRT – by 34.6%. The differences in lymphostimulating activity between these drugs were not statistically significant. AzBrom and FRSD increased the dye removal time by 8.3% and 6%, respectively; the DRN had no effect. HLRD, BovGLRD, TRL, PMJ, HepS and APRT increased the CF concentration in blood and intestinal tissues 1.5 and 24 hours after injection, in contrast to the single injection of antibiotic. AzBrom increased the CF concentration only after 1.5 hours. FRSD increased the antibiotic concentration in intestinal tissues but not in blood plasma. The DRN did not affect the studied indicators. *Conclusion.* Lymphostimulating drugs HLRD, BovGLRD, TRL, PMJ, HepS and APRT effectively direct the antibiotic to the lymphatic system and can be used for lymphotropic therapy.

Keywords: cefotaxime, pharmacokinetics, lymphatic drainage, drugs, endolymphatic conductors

For citation: Kukushkin G. V., Sviridkina L. P. Effect of drugs of various groups on the pharmacokinetics of cefotaxime in comparison with their effect on lymphatic tissue drainage. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):89–95. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-89-95.

Введение

Известно, что в распространении патогенных микроорганизмов важнейшую роль играет лимфатическая система [1, 2]. Бактериальная диссеминация через лимфатические сосуды и взаимодействие «хозяин – бактерия» внутри лимфатических узлов имеют большее значение как для инвазии, так и для развития иммунного ответа [3, 4]. Однако было показано, что иммунные реакции в лимфатическом узле не всегда могут остановить дальнейшее внеклеточное прохождение бактерий через лимфатические сосуды [5]. После первоначального распространения инфекционных патогенов в дренирующие лимфатические узлы они поступают в эфферентные лимфатические сосуды, лимфу и системный кровоток.

В литературе имеется достаточно сообщений, посвященных изучению фармакокинетики антибиотиков, в том числе в условиях инфекционного процесса. Большая роль в этом направлении лимфологии принадлежит отечественным ученым [6–12]. Обсуждается и влияние самих антибиотиков на лимфатический дренаж [13–15]. Вышеизложенное определяет интерес исследователей к поиску новых подходов к лечению гнойно-воспалительных заболеваний, в том числе и интраабдоминальных инфекций, позволяющих санировать лимфатические пути. В связи с этим одной из актуальных задач современной фармакологии является разработка способов целенаправленного транспорта лекарственных средств, прежде всего антибиотиков, в лимфатическую систему и ткани кишечника. Одним из перспективных путей создания высокой концентрации лекарственных средств в лимфатических сосудах и узлах является их совместное введение с препаратами, обладающими свойствами эндолимфатических проводников [16]. Последние направляют лекарственные средства, введенные подкожно, преимущественно в лимфатическую систему. Традиционно к ним относят фермент гиалуронидазу [17–20]. Внедрение таких подходов к лечению несомненно позволит повысить эффективность и безопасность антибактериальной терапии и окажет положительное влияние на клиническое течение гнойно-воспалительных заболеваний органов брюшной полости. Актуальным является проведение дальнейших исследований действия лекарственных средств на функции лимфатической системы, прежде всего дренажную и транспортную, поскольку эти знания, например, о лимфостимулирующей активно-

сти лекарственного препарата, необходимы как для повышения его эффективности, так и безопасности применения. Современная литература, посвященная вопросам таргетной доставки лекарственных средств в лимфатические сосуды, демонстрирует все возрастающий интерес к данной проблеме [21–23], что и послужило основанием для выполнения этого исследования.

Цель исследования – в экспериментах на мышах оценить влияние лекарственных препаратов различных групп на концентрацию цефалоспоринового антибиотика III поколения цефотаксима в крови и тканях стенки кишечника в сопоставлении с их действием на лимфатический дренаж тканей.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на белых беспородных мышах весом 20–22 г, содержащихся в стандартных условиях вивария, согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях [24]. Животные получали полноценный пищевой рацион в условиях свободного доступа к воде и пище. Проведение исследования одобрено Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных. Протоколы 03/2020, 04/2020 от 12.03.2020 ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н. И. Пирогова» Минздрава России.

В эксперименты включены лекарственные препараты различных групп в дозах с учетом коэффициента пересчета с человека на животное [25]: цефотаксим 3 мг (клафоран, Авентис Фарма Лтд, Великобритания), гиалуронидаза (препарат компаратор) 0,1 ЕД (лидаза, АО НПО «Микроген», Россия), бовгиалуронидаза азоксимер 8 ЕД (лонгидаза, ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия), террилитин 0,5 ЕД (Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов ФГУП ФМБА, Россия), папайи млечный сок 0,9 ПЕ (карипазим, ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия), гепарин натрия 13 ЕД (гепарин, ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия), аprotinin 26 АТрЕ (контрикал, Тева Фармацевтические Предприятия Лтд, Израиль), азоксимера бромид 0,02 мг (полиоксидоний, ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия), фуросемид (фуросемид, ОАО «БЗМП», Беларусь),

Влияние изучаемых лекарственных препаратов на скорость лимфатического дренажа брыжейки мышей

Table 1

Effect of the studied drugs on the rate of lymphatic drainage of the mesentery of mice

Препараты	Время удаления лимфотропного красителя из брыжейки мышей ($M \pm m$), мин		
	контрольная группа	основная группа	p
ГЛРД	40,5±0,423	29,87±0,718	<0,001
БовГЛРД+Аз	48,5±0,423	32,25±1,359	<0,001
ТРЛ	50,00±0,707	32,00±0,707	<0,001
ПМС	36,75±0,559	28,25±0,590	<0,001
ГепН	40,75±0,559	28,50±0,567	<0,001
АПРТ	48,75±1,082	31,87±1,025	<0,001
АзБром	37,50±0,681	40,62±0,596	<0,05
ФРСД	39,50±0,423	41,87±0,766	<0,05
ДЗРН	36,25±0,412	33,50±2,070	>0,2

Примечание: ГЛРД – гиалуронидаза, БовГЛРД+Аз – бовгиалуронидаза азоксимер, ТРЛ – террилитин, ПМС – папайи млечный сок, ГепН – гепарин натрия, АПРТ – апротинин, АзБром – азоксимера бромид, ФРСД – фуросемид, ДЗРН – дезоксирибонуклеат натрия.

дезоксирибонуклеат натрия 0,2 мг (деринат, ООО «ФармПак», Россия).

Влияние лекарственных препаратов на лимфатический дренаж (ЛД) изучали в 9 сериях экспериментов по 16 особей в каждой (всего 144 животных). Для этого в заднюю лапу предварительно наркотизированной мыши вводили один из изучаемых лекарственных препаратов, затем в брыжейку животного инъецировали лимфотропный краситель Evans blue (Merck) и оценивали время рассасывания сформированного пятна. Известно, что исследуемый показатель может значительно различаться, поскольку состояние лимфотока зависит от циркадных ритмов жизни животного, и времени, прошедшего от его последнего кормления. В связи с этим, с целью уменьшения погрешностей, вызванных внешними воздействиями, для каждой основной группы экспериментов формировали контрольную группу. Исследования проводили в течение двух часов на паре животных. Вначале изучали состояние ЛД в брыжейке мыши контрольной группы, а затем, с минимальным временным интервалом, у животного основной группы. В следующей паре последовательность проведения эксперимента меняли: сначала оценивали лимфоток у животного основной группы, а затем контрольной. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии CO_2 без выхода из наркоза.

Оценку влияния изучаемых лекарственных препаратов на фармакокинетику цефотаксима (ЦФ) проводили на 180 мышках в двух блоках экспериментов, в каждом по 10 серий. В первой серии каждого блока животным в заднюю лапу вводили только ЦФ. В последующих сериях такую же дозу антибиотика мыши получали через 5 минут после предварительной инъекции одного из вышеперечисленных лекарственных средств. Забор образцов крови и тканей кишечника мышей производили после выведения их из экспери-

мента путем декапитации. Концентрацию ЦФ в плазме крови и тканях животных определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты экспериментальных исследований обрабатывали статистически с применением критерия Стьюдента для малых выборок. Статистически значимыми показатели считали при уровне вероятности $p < 0,05$. С целью выявления статистической зависимости между показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Его показатели от 0,7 и более свидетельствовали о высокой тесноте связи, от 0,3 до 0,7 – об умеренной тесноте связи. Коэффициент Спирмена менее 0,3 указывал на слабую тесноту связи между количественными рядами данных.

Результаты исследования и их обсуждение

Влияние изученных лекарственных препаратов на лимфатический дренаж брыжейки мышей представлено в табл. 1.

Установлено, что гиалуронидаза (ГЛРД) укорачивала время выведения лимфотропного красителя из брыжейки мышей на 26,2 %, бовгиалуронидаза азоксимер (БовГЛРД+Аз) – на 33,5 %, террилитин (ТРЛ) – на 36 %, папайи млечный сок (ПМС) – на 23,1 %, гепарин натрия (ГепН) – на 30,1 %, апротинин (АПРТ) – на 34,6 %. Статистически значимой разницы в лимфостимулирующей активности этих препаратов отмечено не было.

Азоксимера бромид (АзБром) увеличивал время удаления лимфотропного красителя из брыжейки мышей на 8,3 %, а фуросемид (ФРСД) – на 6 %. Дезоксирибонуклеат натрия (ДЗРН) не оказывал влияния на изученный показатель.

Результаты исследования влияния лекарственных препаратов на фармакокинетику ЦФ приведены в табл. 2.

Влияние изучаемых препаратов на концентрацию цефотаксима в плазме крови и тканях стенки кишечника мышей

Table 2

Effect of the studied drugs on the cefotaxime concentration in blood plasma and intestinal wall tissues of mice

Препараты	Концентрация цефотаксима (M±m)			
	в плазме крови, мкг/мл		в тканях стенки кишечника, мкг/г	
	1,5 часа	24 часа	1,5 часа	24 часа
ЦФ	0,17±0,02	0,02±0,01	0,41±0,07	0,15±0,03
ГЛРД+ЦФ	0,33±0,04; p<0,005	0,07±0,01; p<0,01	1,50±0,11; p<0,01	0,47±0,08; p<0,01
БовГЛРД+Аз+ЦФ	0,21±0,03; p<0,05	0,11±0,01; p<0,01	0,62±0,07; p<0,05	0,35±0,07; p<0,05
ТРЛ+ЦФ	0,29±0,04; p<0,01	0,036±0,01; p<0,05	0,83±0,07; p<0,005	0,27±0,02; p<0,05
ПМС+ЦФ	0,31±0,04; p<0,001	0,038±0,01; p<0,05	0,16±0,06; p<0,001	0,46±0,04; p<0,001
ГепН+ЦФ	0,29± 0,03; p<0,005	0,034±0,01; p<0,05	0,84±0,08; p<0,005	0,35±0,08; p<0,05
АПРТ+ЦФ	0,21 ±0,02; p<0,05	0,034±0,01; p<0,05	0,96±0,01; p<0,005	0,71±0,06; p<0,001
АзБром+ЦФ	0,18± 0,01; p<0,05	0,019±0,002; p>0,2	0,63±0,05; p<0,05	0,17±0,02; p>0,2
ФРСД+ЦФ	0,13±0,01; p>0,2	0,015±0,002; p>0,2	0,91±0,08; p<0,005	0,63±0,07; p<0,001
ДЗРН+ЦФ	0,10±0,01; p>0,2	0,014±0,003; p>0,2	0,39±0,03; p>0,2	0,14±0,01; p>0,2

Примечание: ЦФ – цефотаксим, ГЛРД – гиалуронидаза, БовГЛРД+Аз – бовгиалуронидаза азоксимер, ТРЛ – террилитин, ПМС – папайи млечный сок, ГепН – гепарин натрия, АПРТ – апротинин, АзБром – азоксимера бромид, ФРСД – фуросемид, ДЗРН – дезоксирибонуклеат натрия.

Концентрацию антибиотика в крови мышей определяли через 1,5 и 24 часа после начала опыта. Установлено, что через 1,5 часа после введения препаратов наибольшее содержание антибиотика в крови мышей регистрировалось после предварительного введения ГЛРД, ТРЛ, ПМС и ГепН. Лекарственные препараты БовГЛРД+Аз и АПРТ влияли на содержание ЦФ в крови животных в меньшей степени. Концентрация антибиотика в крови мышей на этом сроке наблюдения увеличивалась и при инъекции его на фоне АзБром, проявляющем лимфоблокирующее действие. Через 24 часа содержание ЦФ в крови мышей было увеличено только при сочетанном его применении с лекарственными средствами, проявляющими лимфостимулирующие свойства. На этом сроке наблюдения его уровень в крови был значительно выше у животных с предварительной инъекцией БовГЛРД+Аз, чем у мышей, которым вводили ГЛРД. При этом повышающее влияние ГЛРД на концентрацию антибиотика оставалось более значительным, чем при его инъекциях на фоне ТРЛ, ПМС, ГепН и АПРТ. Препарат АзБром на этом сроке наблюдения на уровень ЦФ в крови мышей не влиял.

Другие изученные лекарственные средства (ФРСД и ДЗРН), не являющиеся лимфостимуляторами, концентрацию антибиотика в крови мышей не изменяли, ни через 1,5 ч, ни через 24 ч эксперимента.

Лекарственные препараты с выявленным лимфостимулирующим действием статистически значимо увеличивали концентрацию ЦФ в тканях кишечника мышей, как через 1,5 часа, так и через 24 часа эксперимента. Повышение содержания антибиотика

на раннем сроке наблюдения (1,5 часа) было наиболее выраженным после предварительной инъекции ГЛРД. Препарат ПМС также способствовал увеличению его уровня в тканях кишечника, однако меньше, чем ГЛРД, но более значительно, чем БовГЛРД+Аз, ТРЛ, ГепН и АПРТ. Влияние ТРЛ, ГепН и АПРТ на концентрацию ЦФ в тканях кишечника не различалось. Самый низкий уровень антибиотика в исследуемых тканях регистрировался при его введении после БовГЛРД+Аз.

Через сутки после начала эксперимента наиболее высокая концентрация ЦФ определялась в тканях кишечника мышей, которым антибиотик вводили после предварительной инъекции АПРТ. При использовании ГЛРД, БовГЛРД+Аз, ПМС и ГепН содержание антибиотика в тканях кишечника было одинаковым, но ниже, чем при его введении после АПРТ. Результаты, полученные при введении ТРЛ, не отличались от данных, зарегистрированных при использовании БовГЛРД+Аз и ГепН, но были менее выраженными, чем в группах животных с предварительным введением ГЛРД и ПМС.

Лекарственные препараты, тормозящие лимфатический дренаж (АзБром и ФРСД) также повышали концентрацию ЦФ в тканях стенки кишечника мышей, при этом АзБром увеличивал ее только на раннем сроке исследования (1,5 часа), тогда как после предварительной инъекции ФРСД содержание антибиотика в образцах исследуемых тканей было больше, чем при его моноведении и через 1,5 часа, и через 24 часа эксперимента.

ДЗРН не только не оказывал влияния на лимфатический дренаж тканей и концентрацию ЦФ в крови

мышей, но и не изменял содержание антибиотика в тканях стенки кишечника животных.

Между содержанием антибиотика в крови и тканях кишечника была выявлена прямая сильная корреляционная связь.

В настоящее время в клинической медицине достаточно успешно применяется метод лечения, получивший название «лимфотропная терапия». Он основан на совместном применении лекарственного препарата, обладающего свойствами эндолимфатического проводника, способного направлять введенное вслед за ним низкомолекулярное лекарственное средство, в том числе и антибиотик, поступающий в обычных условиях в венозный кровоток, преимущественно в лимфатическую систему. Предполагается, что в лимфатических узлах антибиотик может обратимо связываться с лимфоцитами [26]. Для лимфоцитов характерны циркуляция и рециркуляция – выход из крови в ткани, затем переход в лимфатическую систему и продвижение в составе лимфы с последующим возвращением в ткани. За свою жизнь лимфоциты могут проходить до 100 километров. Большая часть этих клеток находится в тканях, при этом каждая клетка осуществляет свою функцию в том регионе, где она была образована (по выражению Б. И. Кузника [27], «каждый лимфоцит имеет свой дом»). При развитии воспалительного процесса, благодаря интенсивной циркуляции, лимфоциты быстро появляются в его зоне. Таким образом, при проведении лимфотропной терапии антибиотик, связанный с лимфоцитами, доставляется этими клетками, прежде всего, в область патологических изменений, что приводит к созданию высокой концентрации в очаге поражения. При этом рециркуляция лимфоцитов обеспечивает более длительное пребывание низкомолекулярного лекарственного препарата в крови, терапевтическая концентрация которого в ней определяется и через сутки после введения.

Наши исследования показали, что предварительная инъекция лекарственных препаратов, обладающих лимфостимулирующим действием (ГЛРД, БовГЛРД+Аз, ТРЛ, ПМС, ГепН, АПРТ), увеличивает концентрацию ЦФ в крови и тканях кишечника по сравнению с моноведением антибиотика через 1,5 ч после начала эксперимента. Такой эффект сохраняется в течение суток, что косвенно указывает на наличие у этих лекарственных средств свойств эндолимфатических проводников. Те из изученных нами лекарственных препаратов, которые не усиливают лимфатический дренаж тканей (ДЗРН) и даже тормозят его (АзБром и ФРСД), не влияют на концентрацию ЦФ в крови мышей, определяемую через 24 часа после инъекции, а значит, не проявляют свойства эндолимфатических проводников.

Однако, с нашей точки зрения, наличие только лимфостимулирующего действия у лекарственного препарата еще не доказывает его способность увеличивать поступление введенного вслед за ним низкомолекулярного лекарственного средства в лимфатическую систему. Интересно отметить, что исследованные нами лекарственные препараты, усиливающие лимфатический дренаж и при этом повы-

шающие концентрацию цефотаксима как в крови, так и в тканях стенки кишечника в течение суток, обладают достаточно высокой молекулярной массой. Так, ГЛРД имеет молекулярную массу около 61 000 Da, а присоединение к ней АзБром (60 000 – 100 000 Da) в БовГЛРД+Аз увеличивает ее почти в 2 раза. Молекулярная масса остальных препаратов также достаточно высока: ТРЛ – 26 800 Da, ПМС – 23 406 Da, ГепН – 15 000–18 000 Da, АПРТ – 6 512 Da, вследствие чего они сами по себе должны поступать преимущественно не в кровеносные, а лимфатические капилляры. ФРСД, не изменяющий концентрацию ЦФ в крови мышей, относится к низкомолекулярным лекарственным средствам (м. м. 330,7 Da) и при этом тормозит лимфатический дренаж. Интересно отметить, что ДЗРН, имеющий высокую молекулярную массу (270 000–500 000 Da), по нашим данным, не влияет на скорость лимфоотока из брыжейки мышей и содержание ЦФ как в крови, так и в тканях стенки кишечника ни на ранних (1,5 часа), ни на поздних (24 часа) сроках исследования. Таким образом, по нашему мнению, эндолимфатический проводник должен обладать двумя независимыми характеристиками: усиливать лимфатический дренаж тканей и иметь достаточно высокую молекулярную массу.

Выявление прямой сильной корреляционной связи между содержанием ЦФ в крови и тканях кишечника объясняет повышение его концентрации в последних на всех сроках исследования после применения препаратов с лимфостимулирующим действием и свойствами эндолимфатических проводников, поскольку они одновременно увеличивают и уровень антибиотика в крови. В связи с этим понятно и накопление ЦФ в тканях кишечника при использовании АзБром по сравнению с его моноведением только на раннем сроке исследования (1,5 часа), что совпадает с увеличением его концентрации на данном этапе эксперимента в крови. Через 24 часа после предварительной инъекции АзБром уровень антибиотика, как в тканях кишечника, так и в крови, не отличается от аналогичных показателей, полученных после моноведения антибактериального препарата. Однако в случае использования ФРСД мы не можем провести параллель между накоплением ЦФ в тканях кишечника и его содержанием в крови, так как плазменная концентрация антибиотика после введения диуретика не превышает таковую при его моноведении. Повышение концентрации ЦФ в тканях кишечника при использовании ФРСД, вероятно, имеет другой механизм и может быть связано с увеличением его количества на единицу объема межклеточной жидкости вследствие реализации мочегонного эффекта.

Заключение

Результаты проведенного исследования углубляют имеющиеся представления о возможностях фармакологической регуляции функций лимфатической системы. Они раскрывают малоизученные механизмы влияния лекарственных препаратов различных групп на дренажную функцию лимфатической системы и их способность изменять фармакокинетику антибиотиков для повышения эффективности лечения.

Полученные данные создают предпосылки к разработке новых подходов к терапии интраабдоминальных инфекций с помощью целенаправленной доставки антибактериальных препаратов в лимфатическую систему. Это обосновывает целесообразность изучения клинического использования лимфотропной терапии и поиск новых препаратов со свойствами эндолимфатических проводников, обеспечивающих поступление низкомолекулярных лекарственных средств преимущественно в лимфатические сосуды и узлы.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

- Siggins MK, Sriskandan S. Bacterial Lymphatic Metastasis in Infection and Immunity. *Cells*. 2021;11(1):33. Doi: 10.3390/cells11010033.
- Magold AI, Swartz MA. Pathogenic Exploitation of Lymphatic Vessels. *Cells*. 2022;11(6):979. Doi: 10.3390/cells11060979.
- Lynskey NN, Banerji S, Johnson LA, Holder KA, Reglin-ski M, Wing PA, Rigby D, Jackson DG, Sriskandan S. Rapid Lymphatic Dissemination of Encapsulated Group A Streptococci via Lymphatic Vessel Endothelial Receptor-1 Interaction. *PLoS Pathog*. 2015;11(9):e1005137. Doi: 10.1371/journal.ppat.1005137.
- Nelson M, Nunez A, Ngugi SA, Atkins TP. The lymphatic system as a potential mechanism of spread of melioidosis following ingestion of *Burkholderia pseudomallei*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(2):e0009016. Doi: 10.1371/journal.pntd.0009016.
- Siggins MK, Lynskey NN, Lamb LE, Johnson LA, Huse KK, Pearson M, Banerji S, Turner CE, Woollard K, Jackson DG, Sriskandan S. Extracellular bacterial lymphatic metastasis drives *Streptococcus pyogenes* systemic infection. *Nat Commun*. 2020;11(1):4697. Doi: 10.1038/s41467-020-18454-0.
- Панченков Р.Т., Выренков Ю.В., Ярема И.В., Щербакoва Э.Г. Эндолимфатическая антибиотикотерапия. – М.: Медицина, 1984. – 240 с. [Panchenkov RT, Vyrenkov YuV, Yarema IV, Shcherbakova EG. Endolymphatic antibiotic therapy. Moscow, Meditsina, 1984:240. (In Russ.)].
- Буянов В.М., Данилов К.Ю., Радзиховский А.П. Лекарственное насыщение лимфатической системы. – Киев: Наукова думка, 1991. – 136. [Buyanov VM, Danilov KYu, Radzikhovskiy AP. Lekarstvennoye насыshcheniye limfaticheskoy sistemy. Kiev, Naukova dumka, 1991:136. (In Russ.)].
- Ярема И.В., Мерзвинский И.А., Шишло В.К. и др. Метод лекарственного насыщения лимфатической системы // Хирургия. – 1999. – № 1. – С. 14–16. [Yarema IV, Merzhvinskiy IA, Shishlo VK, Vazilo VE, Basanov RV, Pavlov VV. Metod lekarstvennogo насыshcheniya limfaticheskoy sistemy. *Khirurgiya*. 1999;(1):14-16. (In Russ.)].
- Ефименко Н.А., Черниковская Н.Е., Выренков Ю.Е. Руководство по клинической лимфологии. – М.: РМАПО, 2001. [Yefimenko NA, Chernikhovskaya NE, Vyrenkov YuE. Rukovodstvo po klinicheskoy limfologii. Moscow, RMAPO, 2001. (In Russ.)].
- Лимфогенные методы в лечении перитонитов различной этиологии / Вторенко В.И., Есипов А.В., Мусаилов В.А., Шишло В.К. // Московский хир. журн. – 2013. – № 3(31). – С. 61–66. [Vtorenko VI, Yesipov AV, Musailov VA, Shishlo VK. Limfogennyye metody v lechenii peritonitov razlichnoy etiologii. *Moskovskiy khirurgicheskiy zhurnal*. 2013;(3):61-66. (In Russ.)].
- Выренков Ю.Е., Харитонов В.В., Гаврилова А.В. Эндолимфатическая терапия в комплексном лечении гнойно-воспалительных и хронических заболеваний (лекция) // Вестн. лимфол. – 2013. – № 1. – С. 4–9. [Vyrenkov YuE, Kharitonov VV, Gavrilova AV. Endolymphaticeskaya terapiya v kompleksnom lechenii gnoyno-восpalitel'nykh i khronicheskikh zabolevaniy (leksiya). *Vestnik limfologii*. 2013;(1):4-9. (In Russ.)].
- Лимфатическая терапия / под ред. А.В. Есипова, П.Е. Крайнюкова, В.А. Мусаилова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 416 с. [Limfaticheskaja terapiya / eds by AV Esipova, PE Kraynyuikova, VA Musailova. Moscow, GEOTAR-Media, 2022:416. (In Russ.)].
- Влияние современных антибиотиков на моторику лимфатических сосудов в норме и при экспериментальном перитоните / Авраменко Е.А., Егорова А.А., Петунов С.Г., Чеминава Р.В. // Вестн. СПбГУ. Медицина. – 2011. – № 3. – С. 119–125. [Avramenko EA, Egorova AA, Petunov SG, CheminaVA RV. Vliyaniye sovremennykh antibiotikov na motoriku limfaticheskikh sosudov v norme i pri eksperimental'nom peritonite. *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine*. 2011;(3):119-125. (In Russ.)].
- Авраменко Е.А. Влияние современных антибиотиков на сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните : клин.-эксперим. иссл. : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2015. [Avramenko EA. Vliyaniye sovremennykh antibiotikov na sokratitel'nyuyu aktivnost' limfaticheskikh sosudov pri peritonite : kliniko-eksperimental'noye issledovaniye. Saint Petersburg, 2015. (In Russ.)].
- Семак М.В. Проблемы лечения хронического послеоперационного остеомиелита конечностей в условиях гнойно-септического отделения многопрофильного стационара и пути их решения : клин.-эксперим. иссл. : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2015. [Semak MV. Problemy lecheniya khronicheskogo послеoperatsionnogo osteomiyelita konechnostey v usloviyakh gnoyno-septicheskogo otdeleniya mnogoprofil'nogo stacionara i puti ikh resheniya : kliniko-eksperimental'noye issledovaniye. Saint Petersburg, 2015. (In Russ.)].
- Левин Ю.М. Патогенетическая терапия (устранение анахронизмов). Новые принципы и методы. – М.: Издательство РУДН, 2014. [Levin YuM. Patogeneticheskaya terapiya (ustraneniye anakhronizmov). Novyye printsipy i metody. Moscow, Izdatel'stvo RUDN, 2014. (In Russ.)].
- Collins DS, Kourtis LC, Thyagarajapuram NR, Sirkar R, Kapur S, Harrison MW, Bryan DJ, Jones GB, Wright JM. Optimizing the Bioavailability of Subcutaneously Administered Biotherapeutics Through Mechanical Drivers. *Pharm Res*. 2017;34(10):2000–2011. Doi: 10.1007/s11095-017-2229-9.
- Kang DW, Bittner B, Sugarman BJ, Zepeda ML, Printz MA. Dispersive effects and focused biodistribution of recombinant human hyaluronidase PH20: A locally acting and transiently active permeation enhancer. *PLoS One*. 2021;16(7):e0254765. Doi: 10.1371/journal.pone.0254765.
- Knowles SP, Printz MA, Kang DW, LaBarre MJ, Tannenbaum RP. Safety of recombinant human hyaluronidase PH20 for subcutaneous drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. 2021;18(11):1673–1685. Doi: 10.1080/17425247.2021.1981286.
- Connor RJ, Clift R, Kang DW. Identifying a predictive relationship between maximal flow rate and viscosity for subcutaneous administration of macromolecules with recombinant human hyaluronidase PH20 in a miniature pig model. *Drug Deliv*. 2023;30(1):2252999. Doi: 10.1080/10717544.2023.2252999.
- Cheng Z, Que H, Chen L, Sun Q, Wei X. Nanomaterial-Based Drug Delivery System Targeting Lymph Nodes.

Pharmaceutics. 2022;14(7):1372. Doi: 10.3390/pharmaceutics14071372.

22. He R, Zang J, Zhao Y, Dong H, Li Y. Nanotechnology-Based Approaches to Promote Lymph Node Targeted Delivery of Cancer Vaccines. *ACS Biomater Sci Eng*. 2022;8(2):406-423. Doi: 10.1021/acsbomaterials.1c01274.

23. McCright J, Naiknavare R, Yarmovsky J, Maisel K. Targeting Lymphatics for Nanoparticle Drug Delivery. *Front Pharmacol*. 2022;13:887402. Doi: 10.3389/fphar.2022.887402.

24. Международные руководящие принципы биомедицинских исследований на животных. Совет международных научно-медицинских организаций. Женева, 2012. URL: https://olaw.nih.gov/sites/default/files/Guiding_Principles_2012.pdf (дата обращения: 14.01.2024). [International guiding principles for biomedical research involving animals. Council for International Organizations of Medical Sciences, Geneva, 2012. URL: https://olaw.nih.gov/sites/default/files/Guiding_Principles_2012.pdf (accessed: 14.01.2024). (in Russ.)].

25. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. – Челябинск: Изд-во ЧГПУ, 2000. – 167 с. [Volchegorskiy IA, Dolgushin II, Kolesnikov OL, Tseylikman VE. *Ekspерimental'noye modelirovaniye i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma*. Chelyabinsk, Izdatel'stvo Chelyabinskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta, 2000:167. (In Russ.)].

26. Клиническая ангиология : руководство. В 2 т. Т. 2. / под ред. А.В. Покровского. – М.: Медицина, 2004. – 888 с. [Clinical Angiology : guide. In 2 vols. Vol. 2. / eds by AV Pokrovskii. Moscow, Meditsina, 2004:888. (In Russ.)].

27. Кузник Б.И., Васильев Н.В. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. – М.: Медицина, 1989. – 320 с. [Kuznik BI, Vasil'yev NV. *Immunogenез, gemostаз i nespetsificheskaya rezistentnost' organizma*. Moscow, Meditsina, 1989:320. (In Russ.)].

Информация об авторах

Кукушкин Герман Владимирович – канд. мед. наук, профессор кафедры фармакологии, ИФМХ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова», Москва, Россия, e-mail: germanpharm@yandex.ru, ORSID: 0000-0002-1661-1071.

Свиридкина Людмила Петровна – д-р мед. наук, профессор, Москва, Россия, e-mail: germanpharm@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-4537-7456.

Authors information

Kukushkin German V. – Candidate (Ph.D.) of Medical Sciences, Professor, Department of Pharmacology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, e-mail: germanpharm@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1661-1071.

Sviridkina Liudmila P. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Moscow, Russia, e-mail: germanpharm@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-4537-7456.

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 01.02.2022 г.:

- 1.5.5. – Физиология человека и животных (медицинские науки);
- 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки);
- 3.1.9. – Хирургия (медицинские науки);
- 3.1.15. – Сердечно-сосудистая хирургия (медицинские науки);
- 3.1.18. – Внутренние болезни (медицинские науки);
- 3.1.20. – Кардиология (биологические науки);
- 3.1.20. – Кардиология (медицинские науки);
- 3.1.24. – Неврология (медицинские науки);
- 3.3.1. – Анатомия человека (медицинские науки);
- 3.3.3. – Патологическая физиология (биологические науки);
- 3.3.3. – Патологическая физиология (медицинские науки).

С 28.12.2018 г. по 16.10.2022 г.:

- 14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки).

С 15.02.2023 г.:

- 3.1.25. – Лучевая диагностика (медицинские 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:

УДК (Универсальная десятичная классификация). Приводится в левом верхнем углу первой страницы рукописи. Автор выбирает УДК в соответствии с тематикой статьи.

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 соответствии 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 изображение 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:

Jiang R-S, Zhang L, Yang H., Zhou M-Y, Deng Ch-Yu, Wu W. Signalling pathway of U46619-induced vascular smooth muscle contraction in mouse coronary artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2021;48(7):996-1006. Doi: 10.1111/1440-1681.13502.

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. – Т. 1, № 1. – С. 5–9. [Kortkevich AA, Kokov AN. Hybrid technology of beam diagnostics in the diagnosis of coronary heart disease: current opportunities and prospects. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2015;1(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 – д-р мед. наук, профессор *Т. Д. Власов*
Научный редактор – д-р мед. наук, профессор *С. Н. Тульцева*
Ответственный секретарь – канд. биол. наук *В. А. Пугач*

Верстка – А. А. Чиркова
Корректор – К. В. Кривоносилова

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 01.02.2022:

- 1.5.5. – Pathological Physiology (Medical Sciences);
- 1.5.5. – Pathological Physiology (Biological Sciences);
- 3.1.9. – Surgery (Medical Sciences);
- 3.1.15. – Cardiovascular Surgery (Medical Sciences);
- 3.1.18. – Internal Medicine (Medical Sciences);
- 3.1.20. – Cardiology (Biological Sciences);
- 3.1.20. – Cardiology (Medical Sciences);
- 3.1.24. – Neurology (Medical Sciences);
- 3.3.1. – Human Anatomy (Medical Sciences);
- 3.3.3. – Pathological Physiology (Biological Sciences);
- 3.3.3. – Pathological Physiology (Medical Sciences).

From 28.12.2018 to 16.10.2022 r.:

- 14.01.13 – Radiology (Medical Sciences).

From 15.02.2023 r.:

- 3.1.25. – Radiology (Medical 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:

The UDC (Universal decimal classification). The UDC number is given in the upper left-hand corner on the first page of the article. The author chooses UDC in accordance with the topic of the article.

- *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 blood circulation 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 – *T. D. Vlasov*
Scientific Editor – *S. N. Tultseva*
Executive Secretary – *V. A. Pugach*
E-mail address for correspondence: tultseva@yandex.ru

Layout designer – A. A. Chirkova
Corrector – K. V. Krivososikova

Editorial board address: 6-8, Lev Tolstoy str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022