

Свидетельство о регистрации СМИ: рег. № 1086 от 7.12.1990 г., зарегистрировано Государственным Комитетом СССР по печати. В запись о регистрации СМИ внесены изменения Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций рег. номер ПИ № ФС77-84858 от 21.03.2023 г.

Адрес редакции:

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

E-mail: path.physiol@yandex.ru

Сайт: www.pfiet.ru

Издатель:

ФГБНУ «НИИОПП»,
125315, Москва, ул. Балтийская, 8.
E-mail: niiorp@mail.ru

Входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК России для публикации значимых результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук

Двухлетний импакт-фактор по версии РИНЦ на 2023 г.: 0,560

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

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

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

Выпускающий редактор

Н.Ю. Клишина

Редактор 1-й категории *О.С. Никольская*
Технический редактор *Д.В. Кирьянов*

Сдано в набор 15.12.2025

Подписано к печати 25.12.2025

Опубликовано 30.12.2025

Отпечатано: ООО «Мегаполис-Принт»

Адрес типографии:

125315, г. Москва, Ленинградский проспект, д 78, корп.1

Перепечатка материалов

и использование их в любой форме, в том числе и в электронных СМИ, возможны только с письменного разрешения издателя. За содержание рекламных публикаций ответственность несет рекламодатель.

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

ISSN 0031-2991

Пат. физиол. и экспер. тер.
2025. Том 69. № 4, 1–205.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

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

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал
Основан в 1957 г.

Том 69 № 4 • 2025

Октябрь – Декабрь

Главный редактор:

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

Заместители главного редактора:

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

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

Ответственный секретарь:

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

Редакционная коллегия:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ФМБА России, Москва

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

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

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

О. Мацуо, д.б.н., проф., Университет Киндай, Хигасиосака, Япония

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

Р. Сьюелл, д.б.н., проф., Университет Кардиффа, Кардифф, Великобритания

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

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

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

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

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

им. В.Н. Ореховича», Москва

Редакционный совет:

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

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

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

им. В.П. Сербского», Москва

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

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

биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва

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

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

Д.Б. Никитюк, академ. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва

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

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

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

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

им. Е.Д. Гольдберга», Томск

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

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

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

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

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

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

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

Subscription Index in «Ural Press»:
71456

Publication format: 205 × 265 mm
Printing: Digital Circulation: 100 copies

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

Issuing editor *N.Yu. Klishina*
Editor of 1st category *O.S. Nokolskaya*
Technical Editor *D.V. Kiriyanov*

Sent into set on 15.12.2025
Signed for publication on 25.12.2025
Published on 30.12.2025

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

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

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

ISSN 0031-2991

Pat Fiziol Eksp Ter
2025. Vol. 69. No 4. 1–205.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

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

PATOLOGICHESKAYA FIZIOLOGIYA I EKSPERIMENTAL'NAYA TERAPIYA

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

Vol. 69 № 4 • 2025

October–December

Editor-in-chief:

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

Deputy chief editors:

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

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

Executive editor:

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

Editorial Board:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

P.F. Litvitskiy, *Corr. Member of RAS, DSc, Prof., First Mos. State Med. Univ., Moscow, Russia*

R. Mallet, *PhD, Prof., University of North Texas, Fort Worth (TX), USA*

O. Matsuo, *PhD, Prof., Kindai University, Higashiosaka, Japan*

G.V. Poryadin, *Corr. Member of RAS, DSc, Prof., «Pirogov National Research Med. Univ.», Moscow, Russia*

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

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

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

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

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

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

Advisory Committee:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф.

Триггерный Ca^{2+} -зависимый механизм ранних возрастных нарушений сократительной функции сердца у крыс самцов и самок

5

Роцевская И.М., Смирнова С.Л., Симоненко С.А., Барчуков В.В., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А.

Электрическая активность сердца и микроциркуляция крови в миокарде крыс в условиях острой алкогольной интоксикации

17

Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Давыдова Т.В.

Антитела к глутамату восстанавливают баланс ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах головного мозга у стареющих мышей C57BL/6 при нарушениях памяти, индуцированных х нейротоксическим фрагментом $A\beta_{25-35}$

28

Мишина А.В., Пасько А.Ю., Астахова А.И., Микрюкова А.А., Зиганшина М.М., Лискова Ю.В., Антошел Д.И., Коваленко Л.В., Московцев А.А.

Сборка стрессорных гранул персонифицированными эндотелиальными клетками HUVEC

36

Самойлова Ю.Г., Матвеева М.В., Кудлай Д.А., Хорошуннова Е.А.

Биохимические маркеры в прогнозировании саркопении при сахарном диабете 2 типа

47

Якубенко Я.А., Смирнова А.А., Логинов В.И., Бурденный А.М., Лялина И.Ю., Казубская Т.П., Пронина И.В.

Аберрантная экспрессия шести генов системы апоптоза при раке почки

57

Александрова С.Г., Александрова М.Р.

Факторы риска развития поражения почек при коронавирусной пневмонии COVID-19.

70

Антонова В.В., Куйдин Д.В., Габитов М.В., Крюков И.А., Редкин И.В., Черпаков Р.А., Кузовлев А.Н.

Влияние криптон-кислородной смеси на неврологический статус крыс после моделирования открытой ЧМТ

79

Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю., Слаутин В.Н., Александрова А.Д.

Антифибротическое действие плацентарных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при фиброзе печени

89

Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Лыбыгина А.В., Гребенкина Л.А., Колесникова Л.И.

Коррекция процессов окислительной модификации липидов и нуклеиновых кислот у мужчин с идиопатическим бесплодием: этилметилгидроксипиридина малат (Этоксидол)

101

ORIGINAL RESEARCH

Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F.

Triggered Ca^{2+} -dependent mechanism of early age-related impairments in cardiac contractile function in male and female rats

Roshchevskaya I.M., Smirnova S.L., Simonenko S.A., Barchukov V.V., Tsorin I.B., Vititnova M.B., Kryzhanovskii S.A.

Electrical activity of the heart, and blood microcirculation in the myocardium of rats under conditions of acute alcohol intoxication

Vetrile L.A., Zakharova I.A., Davydova T.V.

Glutamate antibodies restore the balance of IL-6 and IL-10 in brain structures in aging C57BL/6 mice with memory impairment induced by the neurotoxic fragment $A\beta_{25-35}$

Mishina A.V., Pasko A.Y., Astakhova A.I., Mikryukova A.A., Ziganshina M.M., Liskova Y.V., Antoshel D.I., Kovalenko L.V., Moskovtsev A.A.

Stress granule assembly by HUVEC endothelial cells

Samoilova Iu.G., Matveeva M.V., Kudlay D.A., Khoroshunova Ye.A.

Biochemical markers in the prediction of sarcopenia in type 2 diabetes mellitus

Yakubenko Ya.A., Smirnova A.A., Loginov V.I., Burdenny A.M., Lyalina I.Yu., Kazubskaya T.P., Pronina I.V.

Aberrant expression of six apoptosis genes in kidney cancer

Aleksandrova S.G., Aleksandrova M.R.

Risk factors for kidney damage in COVID-19 coronavirus pneumonia

Antonova V.V., Kuydin D.V., Gabitov M.V., Kriukov I.A., Redkin I.V., Cherpakov R.A., Kuzovlev A.N.

Effect of krypton-oxygen mixture on the neurological status of rats after modelling of open traumatic brain injury

Grebnev D.Yu., Maklakova I.Yu., Slautin V.N., Alexandrova A.D.

Antifibrotic effect of placental multipotent mesenchymal stromal cells in liver fibrosis

Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Labygina A.V., Grebenkina L.A., Kolesnikova L.I.

Correction of the processes of oxidative modification of lipids and nucleic acids in men with idiopathic infertility: ethylmethylhydroxypyridine malat (Ethoxidol)

Холименко И.М., Шатохин М.Н., Конопля Н.А., Кравцов А.Ю.

Состояние оксидантно-антиоксидантной системы при остром гестационном пиелонефрите на различные trimestры беременности

111

Осиков М.В., Шеломенцев А.В., Шишкова Ю.С., Бойко М.С., Федосов А.А., Агеева А.А.

Ингибирование перекисного окисления липидов как механизм нейропротекторного действия мелатонина при экспериментальной острой ишемии головного мозга

123

Попова И.А., Литвицкий П.Ф., Вуколова М.Н., Мальцева Л.Д., Бойко А.А., Аполлонова И.А., Силаева А.С.

Цифровое моделирование процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией

133

Золотов Н.Н., Щипкова Е.С., Алексеева Е.В., Филиппов А.Г., Морозов С.Г.

Изменения уровня кортикостерона и активностей ферментов метаболизма либерина тиреотропного гормона у крыс при холодовом плавательном стрессе

150

ОБЗОРЫ

Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н., Жданова И.А., Молчанова М.С., Сонин Д.Л., Галагудза М.М.

Экспериментальные модели печеночно-клеточной недостаточности на основе изолированного и комбинированного действия этиологических факторов

157

Лямина С.В., Калиш С.В., Кожевникова Е.О., Кадымов Л.В.

Патогенетическое значение и преимущества таргетирования макрофагов при хроническом воспалении, ассоциированном со старением

168

Зверев Я.Ф., Рыкунова А.Я.

Применение флавоноидов в экспериментальной терапии ревматоидного артрита

182

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., Тимохина А.С., Дыдыкина А.А., Семкина О.А.

Трава топинамбура – перспективный источник биологически активных веществ

196

Kholimenko I.M.1, Shatokhin M.N.2, Konoplja N.A.3, Kravcov A.Ju.2

The state of the oxidant-antioxidant system in acute gestational pyelonephritis at different trimesters of pregnancy

Osikov M.V., Shelomentsev A.V., Shishkova Yu.S., Boyko M.S., Fedosov A.A., Ageeva A.A.

Inhibition of lipid peroxidation as a mechanism of neuroprotective action of melatonin in experimental acute cerebral ischemia

123

Popova I.A., Litvitskiy P.F., Vukolova M.N., Maltseva L.D., Boiko A.A., Apollonova I.A., Silaeva A.S.

Digital modeling of the chronic tonsillopharyngitis process with low-grade fever associated with herpesvirus infection

133

Zolotov N.N., Shchipkova E.S., Alekseeva E.V., Filippov A.G., Morozov S.G.

Changes in corticosterone levels and enzyme activities of thyroid hormone liberin metabolism in rats during cold swimming stress

150

REVIEWS

Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N., Zhdanova I.A., Molchanova M.S., Sonin D.L., Galagudza M.M.

Experimental models of hepatocellular failure based on the isolated and combined effects of etiological factors

157

Lyamina S.V., Kalish S.V., Kozhevnikova E.O., Kadimov L.V.

Pathogenetic significance and benefits of macrophage targeting in aging-associated chronic inflammation

168

Zverev Ya.F., Rykunova A.Ya.

Use of flavonoids in experimental therapy of rheumatoid arthritis

182

BRIEF REPORTS

Lupanova I.A., Ferubko E.V., Kurmanova E.N., Timohina A.S., Didikina A.A., Semkina O.A.

Helianthus tuberosus aerial parts: An emerging source of bioactive constituents

196

Оригинальные исследования

© Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., 2025
УДК 615.225.1/612.018.2

Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф.

Триггерный Ca^{2+} -зависимый механизм ранних возрастных нарушений сократительной функции сердца у крыс самцов и самок

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

Возрастные структурные и функциональные изменения в сердце мужчин диагностируются раньше, чем у женщин. Особенности механизмов, лежащих в основе половых различий развития возраст-ассоциированной электрической нестабильности и нарушения сократительной активности миокарда, остаются недостаточно изученными. **Цель исследования** — изучить половые особенности возрастных изменений транскрипционной активности генов белков, наиболее значимых для поддержания электрической стабильности и сократительной функции миокарда — $Ca_v1.2$, K_v1 каналов, рецепторов IP_3R и $RyR2$, белков SERCA, Plamb, CaM и Epac2.

Методика. Работу проводили на самцах и самках крыс породы Wistar в возрасте 4 и 18 мес. Методом ПЦР — анализа в предсердиях и левом желудочке молодых и пожилых крыс оценивали экспрессию генов, кодирующих вышеперечисленные белки.

Результаты. У крыс-самцов старение ассоциировано с более выраженными нарушениями экспрессии белков, участвующих в регуляции кальциевого обмена, чем у самок. В левом желудочке и предсердиях стареющих самцов выявлен значительный рост экспрессии генов белков потенциал-зависимых $Ca_v1.2$, $K_v1.1$ каналов, риадиноновых $RyR2$ и инозитол-трисфосфатных $IP_3R1,2,3$ рецепторов и регуляторов их активности — кальмодулина, Epac2, а также Ca^{2+} -АТФазы SERCA2 и фосфоламбана. У самок возрастные изменения экспрессии исследуемых генов в левом желудочке были минимальными: отмечено лишь повышение уровня мРНК белков Epac2 и CaM и, напротив, снижение $RyR2$ и IP_3R3 . Основные отклонения от показателей молодых самок выявлены в предсердиях, главным образом в правом: гиперэкспрессия каналов $K_v1.1$ и $Ca_v1.2$, рецепторов $RyR2$, IP_3R1 , IP_3R3 и белков Epac2 и CaM. У крыс обоего пола отмечено многократное снижение уровня мРНК каналов $K_v1.6$ типа.

Заключение. Предполагается, что триггерным механизмом возникновения ранних возрастных нарушений сердечного ритма и сократимости миокарда являются изменения транскрипционной активности генов, участвующих в регуляции кальциевого гомеостаза и электрической активности миокарда. Выраженность этих изменений в большей мере проявляется у особей мужского пола.

Ключевые слова: старение; половой диморфизм; экспрессия; сердце; риадиноновые рецепторы; $RyR2$; инозитол-1,4,5-трисфосфатные рецепторы; IP_3R ; кальмодулин; Epac 2; $Ca_v1.2$, $K_v1.1$, 1.3, 1.6 каналы; SERCA2; фосфоламбан

Для цитирования: Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф. Триггерный Ca^{2+} -зависимый механизм ранних возрастных нарушений сократительной функции сердца у крыс самцов и самок. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(4): 5–16.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.5-16

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала — Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф.; подготовка иллюстративного материала, статистическая обработка материала — Суханова И.Ф.; написание текста — Кожевникова Л.М.; редактирование — Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все авторы.

Для корреспонденции: Кожевникова Любовь Михайловна, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № FGFU-2025-0006.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F.

Triggered Ca²⁺-dependent mechanism of early age-related impairments in cardiac contractile function in male and female rats

Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russian Federation

Age-related structural and functional changes in the heart are diagnosed earlier in males than in females. The mechanisms underlying sex differences in age-associated electrical instability and impaired myocardial contractility remain insufficiently studied. **Aim:** to investigate sex-specific age-related changes in the transcriptional activity of genes encoding key proteins maintaining electrical stability and myocardial contractility – Cav1.2, K_v1 channels, IP₃R and RyR2 receptors, and regulatory proteins SERCA2, phospholamban, calmodulin, and Epac2.

Materials and Methods. The study was conducted on male and female Wistar rats aged 4 and 18 months. Using PCR analysis, gene expression of the aforementioned proteins was evaluated in the atria and left ventricle of young and aged rats.

Results. In male rats, aging was associated with more pronounced disruptions in calcium-handling proteins compared to females. In aged males, significant upregulation of genes encoding voltage-gated Ca_v1.2 and K_v1.1 channels, ryanodine RyR2 receptors, inositol trisphosphate IP3R1, IP3R2, IP3R3 receptors, and their regulators – calmodulin, Epac2, sarcoplasmic Ca²⁺-ATPase (SERCA2), and phospholamban – was observed in the left ventricle and atria. In females, age-related gene expression changes in the left ventricle were minimal, with only increased mRNA levels of Epac2 and CaM, and reduced RyR2 and IP3R3. Major deviations from young females were detected in the atria, particularly the right atrium: hyperexpression of K_v1.1 and Ca_v1.2 channels, RyR2, IP₃R1, IP₃R3 receptors, and Epac2, CaM proteins. Both sexes showed marked reduction in K_v1.6 channel mRNA levels. **Conclusion:** Age-related disruptions in cardiac rhythm and myocardial contractility are proposed to be triggered by altered transcriptional activity of genes regulating calcium homeostasis and electrical myocardial activity. These changes are more pronounced in males.

Keywords: aging; sexual dimorphism; expression; heart; ryanodine receptors; RyR2; inositol-1,4,5-trisphosphate receptors; IP3R; calmodulin; Epac2; Ca_v1.2, K_v1.1, 1.3, 1.6 channels; SERCA2; phospholamban

For citation: Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F. Triggered Ca²⁺-Dependent Mechanism of Early Age-Related Impairments in Cardiac Contractile Function in Male and Female Rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 5–16

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.5-16

Authors' contributions: concept and design of the study, material collection and processing – Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F.; preparation of illustrative material, statistical analysis – Sukhanova I.F.; writing, editing the text – Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Lyubov M. Kozhevnikova, Doctor of Medical Sciences, Major scientific researcher of the Laboratory of Chronic Inflammation and Microcirculation Institute of General Pathology and Pathophysiology Russian Academy of Sciences, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Information about the authors:

Kozhevnikova L.M., <https://orcid.org/0000-0002-1323-6472>Sukhanova I.F., <https://orcid.org/0000-0002-1220-2596>

Funding. The study was carried out as part of a state assignment № FGFU-2025-0006.

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

Received 28.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

С увеличением продолжительности жизни населения планеты возрастает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, которые являются ведущей причиной смертности во всем мире [1]. Изменения на уровне экспрессии генов белков, принимающих участие в регуляции внутриклеточной сигнализации и функ-

циональной активности клеток, играют важную роль в инициации процессов старения клеток, тканей и органов [2–4]. Показано, что в процессе физиологического старения целостность структуры миокарда в большей степени сохраняется в женском организме, что может быть одной из причин различия в продолжительности жизни женщин и мужчин [5, 6]. У пожилых людей возрастает частота и тяжесть мерцательных аритмий,

которая играет критическую роль в генезе внезапной сердечной смерти. Частота возникновения фибрилляций предсердий (Atrial fibrillation, AF) у пожилых мужчин выше, чем у женщин [7, 8]. Полагают, что это связано с более ранним поражением коронарных артерий у мужчин. У женщин AF диагностируется в более пожилом возрасте, чем у мужчин, но у них высок риск развития связанных с AF осложнений [5, 9]. В экспериментах на крысах также продемонстрировано, что возрастные структурные и функциональные изменения в сосудах и миокарде у самцов развиваются раньше, чем у самок. Полагают, что это связано с дефицитом тестостерона, который может вызвать аритмогенную утечку ионов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикула (sarcoplasmic reticulum, SR) [10].

Поддержание внутриклеточного гомеостаза Ca^{2+} имеет решающее значение не только в регуляции процессов возбуждения и сокращения, но и транскрипции генов. В кардиомиоцитах активация потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа, главным образом $Ca_v1.2$ типа, контролирует поступление Ca^{2+} в клетку, что необходимо для формирования потенциала действия и инициации многочисленных сигнальных каскадов [11]. Важнейшую роль в регуляции кальциевого гомеостаза играют встроенные в мембрану SR инозитол-1,4,5-трифосфатные (IP_3R) и рианодиновые (RyR) рецепторы [12–14]. С дисфункцией этих рецепторов/каналов связывают нарушения тонуса сосудов и сердечного ритма [15, 16]. Активность IP_3Rs и RyRs стимулируется многими эндогенными молекулами, которые действуют через сопряженные с G-белками рецепторы (G protein-coupled receptors – GPCR), и модулируется Ca^{2+} , кальмодулином (CaM), протеинкиназами A и G (PKA и PKG), активными формами кислорода и другими факторами. Агонисты, действующие через Gs-белок, активируют аденилатциклазу, что приводит к повышению концентрации циклического аденозинмонофосфата (сAMP), активации PKA и сAMP-связывающих белков Ерас (Exchange Proteins Directly Activated by сAMP), последующему фосфорилированию IP_3Rs и RyRs и изменению их активности [11, 17].

Эффективность кальций-индуцированного высвобождения Ca^{2+} из SR в кардиомиоцитах обусловлена морфологической близостью $Ca_v1.2$ -каналов с RyR2-рецепторами. Поступление внеклеточного Ca^{2+} в цитозоль и его связывание с RyR2 инициирует возникновение искр Ca^{2+} (Ca^{2+} spark) и сокращение сердечной мышцы [18]. После сокращения уровень $Ca^{2+}_{цит.}$ снижается за счет его обратного захвата в SR, опосредованного Ca^{2+} -АТФазе сарко/эндоплазматического ретикула (SERCA). Активность SERCA регулируется ингибирующим белком

фосфоламбаном (Plamb). Агонисты β -адренорецепторов активируют протеинкиназу А (PKA) и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимую протеинкиназу II (CaMKII), которые фосфорилируют $Ca_v1.2$, RyR2, Plamb и тропонин I, что обеспечивает реализацию положительных инотропных и лужитропных эффектов симпатической стимуляции [18, 19]. Старееющее сердце характеризуется сниженной реакцией на симпатическую стимуляцию и высоким риском развития аритмий. Полагают, что связанное с возрастом снижение функциональной активности синоатриального узла обусловлено уменьшением экспрессии основного Ca^{2+} -проводящего канала SR – RyR2, а также с изменением экспрессии других ионных каналов – Nav1.5, Nav β 1, Cav1.2, Kv1.5 и HCN1 [20–22]. В настоящей работе представлены данные о ранних возрастных изменениях транскрипционной активности генов, наиболее значимых для поддержания сократительной функции миокарда: – $Ca_v1.2$, Kv1.1, 1.3, 1.6 – каналов, рецепторов IP_3R и RyR2, белков SERCA, Plamb, CaM и Ерас. Оценена зависимость этих изменений от половой принадлежности и их потенциальная роль в формировании возрастной патологии сердца.

Методика

Работа выполнена на беспородных крысах – самцах и самках породы Вистар в возрасте 4 и 18 мес. Условия содержания животных соответствовали приказу МЗ РФ № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» от 23.08.2010 и этическим нормам, изложенным в Правилах лабораторной практики (GLP) и Хельсинкской декларации (2000). Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями Этического комитета Института общей патологии и патофизиологии и утверждено Комитетом по этике (протокол № 1а от 02.10.2020).

Крысы были рандомизированы на 4 группы: 1-я группа – самцы в возрасте 4 мес. (молодые, $n = 14$); 2-я группа – самцы в возрасте 18 мес. (возрастные, $n = 14$); 3-я группа – самки в возрасте 4 мес. (молодые, $n = 13$); 4-я группа – самки в возрасте 18 мес. (возрастные, $n = 13$). Наркотизированных (25%-ный раствор уретана, 4 мл/кг) крыс декапитировали, извлекали фрагменты сердца и грудного отдела аорты. Ткани помещали в раствор RNAlater (Ambion, США) и хранили до выделения РНК при температуре -20°C . Ткани перетирали в жидком азоте. Выделение РНК из тканей проводили с помощью набора GeneJET™ (Thermo Fisher Scientific Inc., США) согласно протоколу производителя. Концентрацию суммарной РНК в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000

(Thermo Fisher Scientific Inc., США). Выделенную суммарную РНК для предотвращения контаминации геномной ДНК обрабатывали ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Синтез кДНК проводили с помощью набора RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) согласно протоколу производителя. ПЦР-РВ проводили с помощью набора qPCRMix-HS (Евроген, Россия), используя праймеры и флуоресцентные зонды (ДНК-синтез, Россия), согласно протоколам производителей на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Полученные значения экспрессии для каждого исследуемого гена нормировали на значение экспрессии референсного гена. В качестве референсного гена использовали ген β-актина. Уровень экспрессии гена β-актина между сравниваемыми группами (крысы 4 и 18 мес.) в условиях наших экспериментов оставался неизменным. Экспрессию гена-мишени оценивали в относительных единицах по изменению соотношения уровней мРНК исследуемого белка и β-актина. Объектами исследования были гены *Kcna1* (K_v1.1), *Kcna3* (K_v1.3) и *Kcna6* (K_v1.6), *CACNA1C* (Ca_v1.2) каналов, *Ryr2* (*Ryr2*), *Itp1*, *Itp2*, *Itp3* (трех типов IP₃R рецепторов), *ATP2A2*, *PLN*, CaM и *Rapgef4*, кодирующие, соответственно, белки SERCA2, Plamb, CaM и Erac2.

Предварительную обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения, прилагаемого к прибору. Дальнейшую обработку проводили в приложении Microsoft Excel с использованием алгоритма 2^{-ΔΔCt}. Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Graph Pad Prism 8. Для сравнения средних значений и оценки статистических различий между двумя группами использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Предварительно была выполнена проверка соответствия выборок нормальному распределению. Расхождения считались достоверными при *p* < 0,05. Данные представлены в виде медианы с первым и третьим квартилями – Me (Q1; Q3). Принятый уровень значимости составлял 5%.

Результаты

Потенциал-зависимые калиевые каналы (K_v1.1, K_v1.3 и K_v1.6 типа). Установлено, что во всех отделах стареющего сердца крыс – самцов возрастает уровень экспрессии гена *Kcna1* и снижается – *Kcna6*, ответственных за синтез соответственно каналов K_v1.1 и K_v1.6 типов. Содержание мРНК K_v1.3 канала было повышено в левом желудочке и снижено в правом предсердии возрастных самцов (рис. 1, а/а).

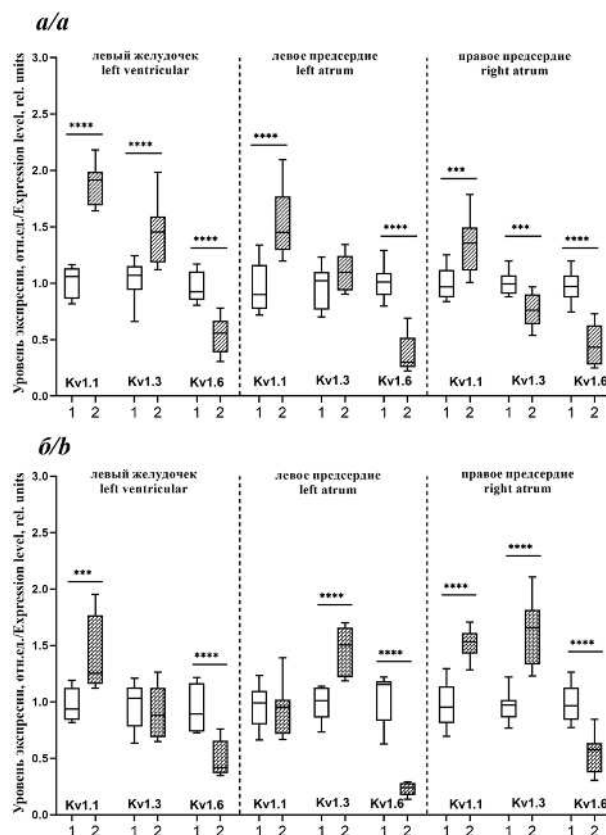


Рис. 1. Возрастные изменения уровня мРНК потенциал-зависимых калиевых каналов K_v1.1, K_v1.3 и K_v1.6 типа в левом желудочке, левом и правом предсердиях сердца крыс-самцов (а) и самок (б). По оси абсцисс цифрой 1 обозначена группа крыс в возрасте 4 мес., цифрой 2 – в возрасте 18 мес. Здесь и далее значение экспрессии для каждого исследуемого гена нормировали на экспрессию референсного гена β-актина в том же образце ткани. Содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в долях от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс самцов или самок, принятого за 1. ****p* < 0,001; *****p* < 0,0001 по сравнению с контролем (крысы 4 мес.).

Fig. 1. Age-related changes in mRNA levels of voltage-gated potassium channels K_v1.1, K_v1.3, K_v1.6 in the left ventricle, left atrium, and right atrium of male (a) and female (b) rat hearts. On the x-axis, group 1 represents rats aged 4 months (young), and group 2 represents rats aged 18 months (aged). Throughout the study, expression levels of each target gene were normalized to the reference gene β-actin within the same tissue sample. The mRNA content of each target protein is expressed as a fraction of the average level in young male or female rats (4 months old), set as 1. ****p* < 0.001; *****p* < 0.0001 compared to controls (4-month-old rats).

У самок высокий уровень экспрессии генов K_v1.1 – каналов отмечен в левом желудочке и правом предсердии (рис. 1, б/б). Как и у самцов, во всех отделах сердца самок наблюдалось значительное снижение уровня экспрессии K_v1.6 каналов. В процессе старения самок в пра-

вом и левом предсердиях выявлено высокое содержание мРНК $K_v1.3$ (рис. 1, б/б).

Потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа ($Ca_v1.2$). Как показано на рис. 2, а/а в процессе старения у крыс самцов в левом желудочке и предсердиях значительно возрастает уровень экспрессии гена *CACNA1C*, кодирующего порообразующую субъединицу α_1C , которая содержит датчик напряжения, а также вспомогательные β_2b , $\alpha_2\delta$, γ -субъединицы, модулирующие биофизические и транспортные свойства канала [23].

В отличие от самцов, у возрастных крыс-самок уровень экспрессии гена *CACNA1C* в левом желудочке оставался неизменным, в то время как в левом предсердии выявлено снижение экспрессии данного гена (рис. 2, б/б). В правом предсердии самок, как и в сердце стареющих самцов, уровень мРНК канала $Ca_v1.2$ был значительно выше, чем в сердце молодых крыс (рис. 2).

Рианодиновые рецепторы 2-го типа (*Ryr2*). В левом желудочке и предсердиях стареющего сердца крыс-самцов выявлен высокий уровень экспрессии гена *Ryr2* (рис. 3, а). В отличие от самцов, в процессе старения у самок только в правом предсердии выявлено значительное увеличение содержания мРНК *Ryr2* рецепторов по сравнению с аналогичными показателями в сердце молодых самок (рис. 3, б/б).

Инозитол-1,4,5-трисфосфатные рецепторы (IP_3R 1,2,3 типов). Установлено, что в левом желудочке сердца возрастных крыс-самцов возрастает экспрессия генов *Itrp1*, *Itrp2*, *Itrp3* трех типов IP_3R ; в левом предсердии – только IP_3R1 , в правом предсердии – IP_3R3 рецепторов (рис. 4, а/а). В отличие от самцов, в стареющем сердце самок в левом желудочке наблюдается снижение содержания мРНК рецепторов IP_3R3 типа (рис. 4, б/б). В предсердиях возрастных самок выявлен высокий уровень экспрессии IP_3R3 , а в правом предсердии – еще и IP_3R1 (рис. 4, б/б), что свидетельствует о локальной гетерогенности экспрессии изоформ IP_3R в стареющих сердцах [24].

SERCA2 и *Plamb*. У возрастных крыс самцов в левых отделах сердца был зафиксирован повышенный уровень экспрессии генов *ATP2A2* и *PLN*, ответственных за синтез SERCA2a и *Plamb* (рис. 5, а/а). В правом предсердии возрастных самцов содержание мРНК для SERCA2a и *Plamb* оставалось неизменным. В отличие от самцов, в левом предсердии самок наблюдается значительное снижение экспрессии генов *ATP2A2* и *PLN* (рис. 5, б/б).

CaM и *Eras2*. В процессе старения в левом желудочке и предсердиях крыс обоего пола значительно возрастает экспрессия гена *Calml1*, ответственного за синтез CaM. Содержание мРНК для CaM в сердце возрастных крыс увеличивается в среднем в 1,5–2 раза по сравнению

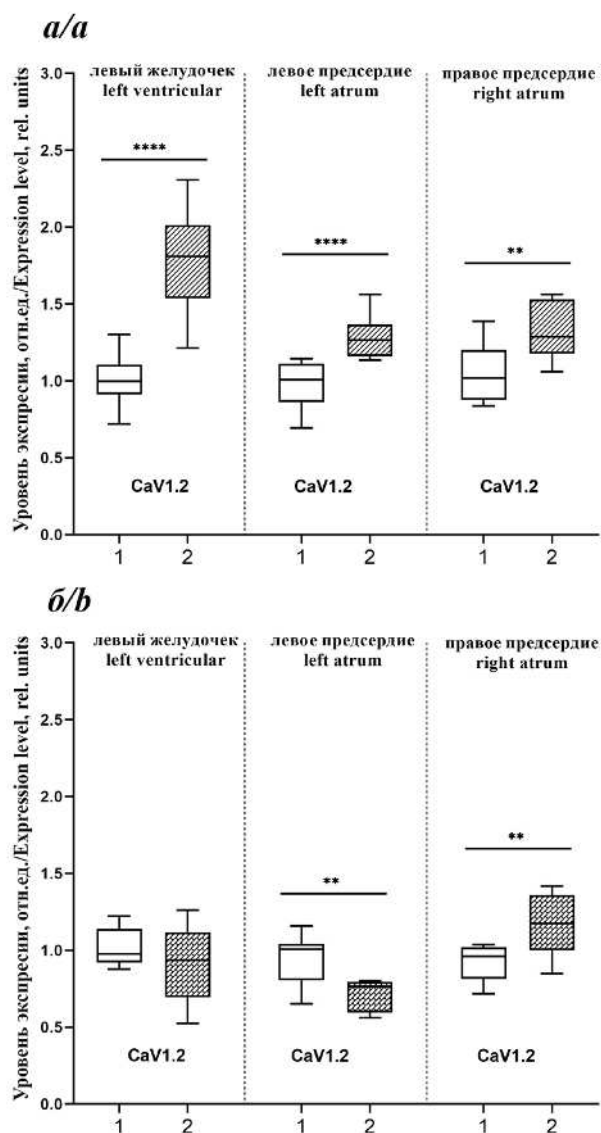


Рис. 2. Возрастные изменения уровня мРНК потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа ($Ca_v1.2$) в левом желудочке, левом и правом предсердиях сердца крыс самцов (а) и самок (б). По оси абсцисс цифрой 1 обозначена группа крыс в возрасте 4 мес, цифрой 2 – в возрасте 18 мес. Содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в долях от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс самцов или самок, принятого за 1. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (крысы 4 мес.).

Fig. 2. Age-related changes in mRNA levels of voltage-gated L-type calcium channels ($Ca_v1.2$) in the left ventricle, left atrium, and right atrium of male (a) and female (b) rat hearts. On the x-axis, group 1 represents rats aged 4 months, and group 2 represents rats aged 18 months. The mRNA content of each target protein is expressed as a fraction of the average level in young male or female rats, set as 1. ** $p < 0.01$; **** $p < 0.0001$ compared to controls (4-month-old rats).

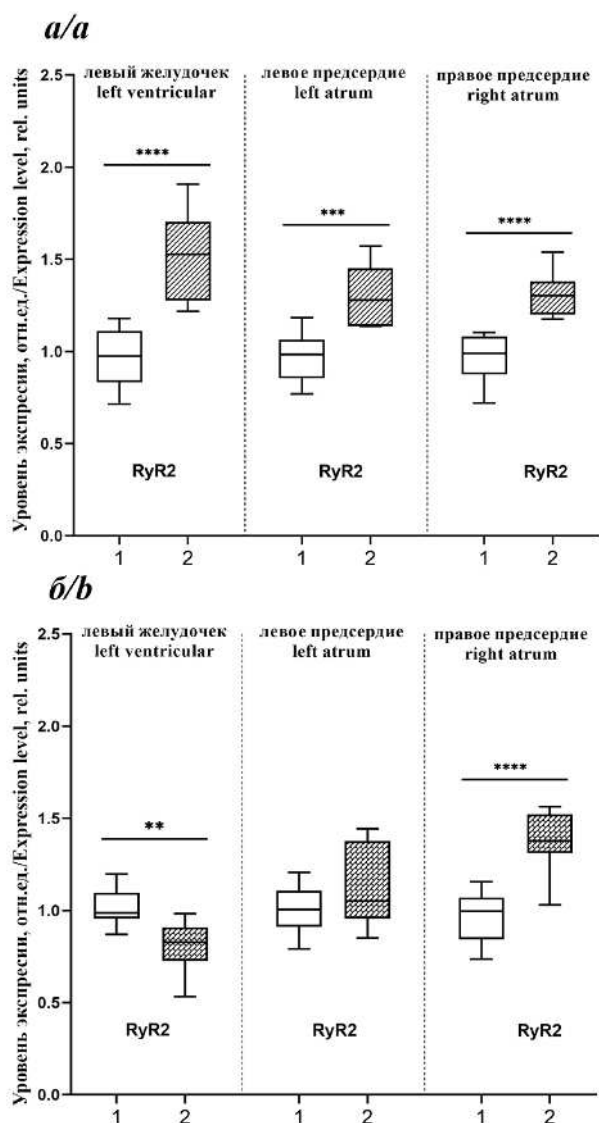


Рис. 3. Возрастные изменения уровня мРНК рианодиновых рецепторов 2 типа (Ryr2) в левом желудочке, левом и правом предсердиях сердца крыс самцов (а) и самок (б). По оси абсцисс цифрой 1 обозначена группа крыс в возрасте 4 мес., цифрой 2 – в возрасте 18 мес. Содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в долях от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс-самцов или самок, принятого за 1. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (крысы 4 мес.).

Fig. 3. Age-related changes in mRNA levels of ryanodine receptors type 2 (Ryr2) in the left ventricle, left atrium, and right atrium of male (a) and female (b) rat hearts. On the x-axis, group 1 represents rats aged 4 months, and group 2 represents rats aged 18 months. The mRNA content of each target protein is expressed as a fraction of the average level in young male or female rats, set as 1. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$ compared to controls (4-month-old rats).

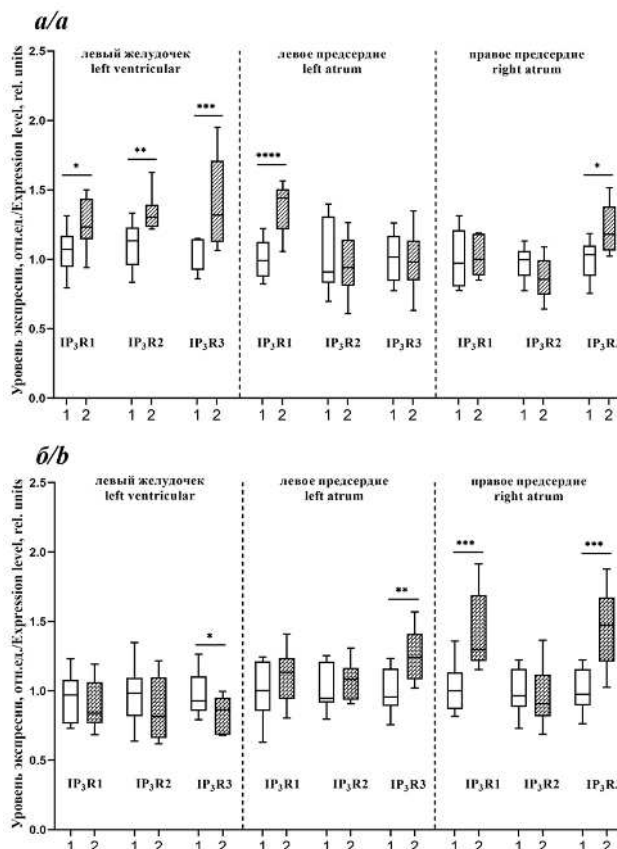


Рис. 4. Возрастные изменения уровня мРНК инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов (IP3R1,2,3) в левом желудочке, левом и правом предсердиях сердца крыс-самцов (а) и самок (б). По оси абсцисс цифрой 1 обозначена группа крыс в возрасте 4 мес., цифрой 2 – в возрасте 18 мес. Содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в долях от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс-самцов или самок, принятого за 1. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (крысы 4 мес.).

Fig. 4. Age-related changes in mRNA levels of inositol-1,4,5-trisphosphate receptors (IP3R1,2,3) in the left ventricle, left atrium, and right atrium of male (a) and female (b) rat hearts. On the x-axis, group 1 represents rats aged 4 months, and group 2 represents rats aged 18 months. The mRNA content of each target protein is expressed as a fraction of the average level in young male or female rats, set as 1. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$ compared to controls (4-month-old rats).

с контролем (рис. 6). У возрастных самцов во всех отделах сердца выявлен высокий уровень экспрессии гена *Rargef4*, о чем свидетельствует более чем двукратное увеличение содержания мРНК для белка *Erac2* (рис. 6, а/а). У возрастных крыс-самок в сердце так же, как и у самцов, выявлен высокий уровень экспрессии белка *Erac2* (рис. 6, б/б).

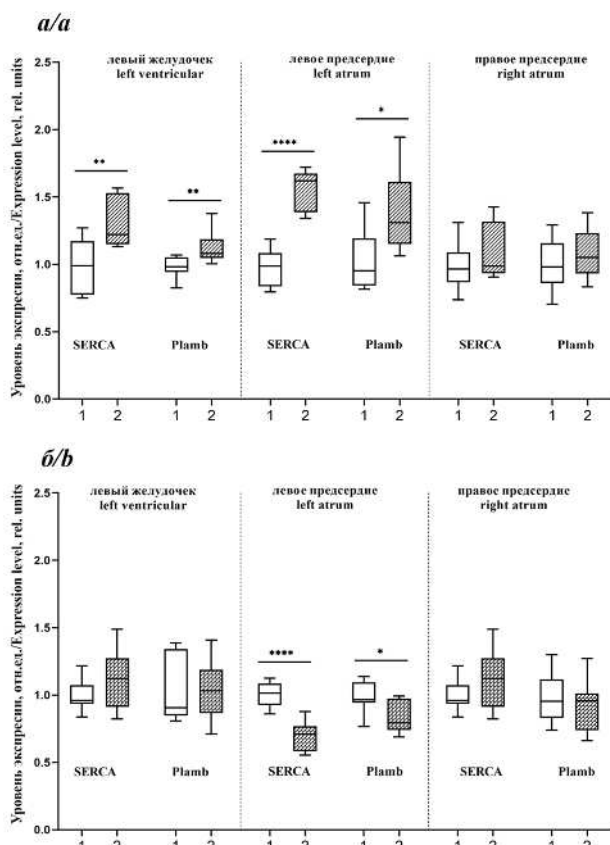


Рис. 5. Возрастные изменения уровня мРНК белков SERCA2 и фосфоламбана (Plamb) в левом желудочке, левом и правом предсердиях сердца крыс-самцов (а) и самок (б). По оси абсцисс цифрой 1 обозначена группа крыс в возрасте 4 мес., цифрой 2 – в возрасте 18 мес. Содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в долях от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс-самцов или самок, принятого за 1. **p* < 0,05; ***p* < 0,01; *****p* < 0,0001 по сравнению с контролем (крысы 4 мес.).

Fig. 5. Age-related changes in mRNA levels of SERCA2 and phospholamban (Plamb) proteins in the left ventricle, left atrium, and right atrium of male (a) and female (b) rat hearts. On the x-axis, group 1 represents rats aged 4 months, and group 2 represents rats aged 18 months. The mRNA content of each target protein is expressed as a fraction of the average level in young male or female rats, set as 1. **p* < 0.05; ***p* < 0.01; *****p* < 0.0001 compared to controls (4-month-old rats).

Обсуждение

Старение – естественный процесс увядания функциональной активности организма на уровне всех систем и органов, что приводит к перепрограммированию профиля экспрессии генов, направленных в первую очередь на поддержание жизнедеятельности в условиях меняющихся потребностей организма, т.е. носящих адаптивный

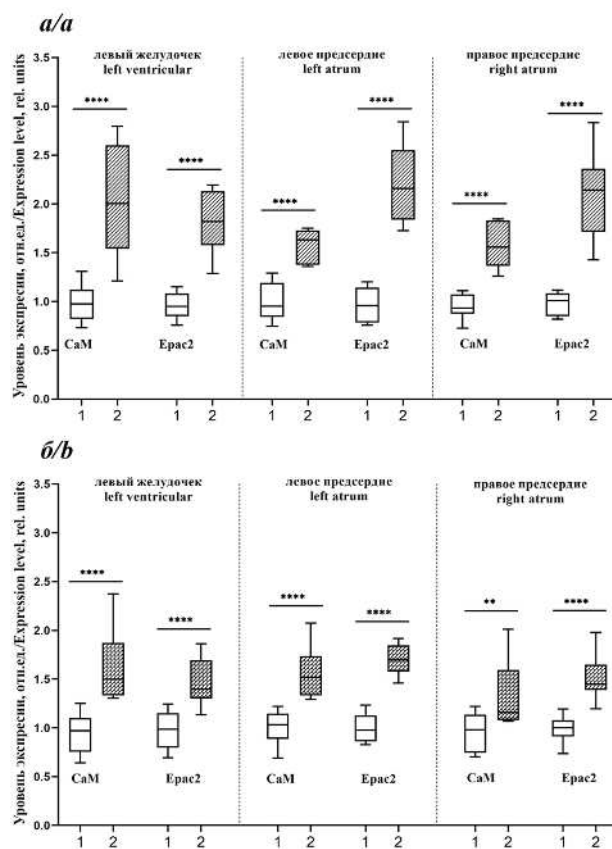


Рис. 6. Возрастные изменения уровня мРНК белков кальмодулина (CaM) и Epac2 в левом желудочке, левом и правом предсердиях сердца крыс-самцов (а) и самок (б). По оси абсцисс цифрой 1 обозначена группа крыс в возрасте 4 мес., цифрой 2 – в возрасте 18 мес. Содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в долях от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс самцов или самок, принятого за 1. ***p* < 0,01; *****p* < 0,0001 по сравнению с контролем (крысы 4 мес.).

Fig. 6. Age-related changes in mRNA levels of calmodulin (CaM) and Epac2 proteins in the left ventricle, left atrium, and right atrium of male (a) and female (b) rat hearts. On the x-axis, group 1 represents rats aged 4 months, and group 2 represents rats aged 18 months. The mRNA content of each target protein is expressed as a fraction of the average level in young male or female rats, set as 1. ***p* < 0.01; *****p* < 0.0001 compared to controls (4-month-old rats).

характер. Важнейшую роль в этих процессах играет цитозольный и ядерный Ca²⁺ сигналинг. Электрическую нестабильность и сократительную дисфункцию стареющего миокарда связывают с измененной функцией ионных каналов и нарушением кальциевого гомеостаза. Калиевые каналы K_v1 играют ключевую роль в поддержании нормальной сердечной функции, участвуя в процессах, связанных с реполяризацией кардиомиоцитов, что критически важно для

поддержания стабильного сердечного ритма и предотвращения развития аритмий [25, 26]. В обеспечение реполяризации мембран важнейший вклад вносят $K_v1.6$ каналы, ответственные за выход K^+ из клетки. Активация каналов $K_v1.6$ способствует быстрому выходу калия, что сокращает продолжительность потенциала действия и уменьшает вероятность возникновения аритмий [27]. Выявленный крайне низкий уровень экспрессии гена *Kcna6* (каналов $K_v1.6$) во всех отделах стареющего сердца крыс обоего пола может свидетельствовать о высокой предрасположенности к электрической нестабильности кардиомиоцитов. На фоне многократного снижения экспрессии $K_v1.6$ увеличение уровня мРНК для каналов $K_v1.1$ типа (рис. 1), по-видимому, является проявлением компенсаторного механизма. Несмотря на то, что каналы $K_v1.1$ типа присутствуют в малых количествах в клетках синоатриального узла и генерируют лишь небольшие токи, они оказывают значительное влияние на сердечный ритм. Показано, что $K_v1.1$ контролируют реполяризацию не только в предсердиях, но и в желудочках сердца [25, 28].

В кардиомиоцитах $Ca_v1.2$ каналы являются основным источником входа Ca^{2+} при деполяризации во время потенциала действия. Непосредственная близость $Ca_v1.2$ каналов с RyR2 рецепторами является морфологическим условием эффективного Ca^{2+} -индуцированного высвобождения кальция из SR, возникновения искр Ca^{2+} и сокращения сердечной мышцы [18, 29]. Выявленные в ходе исследования возрастные изменения экспрессии гена *SACNA1C* каналов $Ca_v1.2$ зависели от пола крыс: наблюдалось значительное увеличение содержания мРНК $Ca_v1.2$ каналов во всех отделах сердца у самцов, у стареющих самок – только в правом предсердии (рис. 2). Предполагается, что повышение экспрессии $Ca_v1.2$ каналов в сердце возрастных крыс может приводить к увеличению частоты возникновения искр Ca^{2+} , нарушению сердечного ритма (в большей степени у самцов) и быть предиктором развития возрастной сердечной патологии.

Ключевыми внутриклеточными структурами, реализующими воздействие симпатической нервной системы на миокард, являются RyR2- рецепторы. Нами выявлен высокий уровень экспрессии гена *RyR2* в левом желудочке и предсердиях возрастных крыс-самцов, в то время как в сердце самок – только в правом предсердии. Установлено, что чрезмерное повышение активности RyR2 приводит к серьезным нарушениям кальциевого обмена в кардиомиоцитах, способствуя развитию сердечной недостаточности и желудочковых аритмий [30].

В сердцах стареющих крыс обоего пола продемонстрирована гиперэкспрессия генов белков CaM и *Eras2* – модуляторов активности RyR2. В кардиомиоцитах CaM ре-

гулирует активность RyR2 путем прямого взаимодействия с ними и через CaMKII [31]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* продемонстрирована ключевая роль CaM в механизмах развития гипертрофии сердца. Подавление экспрессии гена CaM с помощью микроРНК оказывает выраженное антигипертрофическое действие [32]. Точечные мутации в CaM-связывающем домене RyR2 (*W3587A / L3591D / F3603A*) у мышей приводят к тяжелой гипертрофии сердца, резкому снижению инотропной функции левого желудочка и ранней смерти животных [33]. Ранее мы показали, что гиперэкспрессия CaM и *Eras2* может выступать в качестве триггера аритмогенеза при алкогольной кардиомиопатии [34]. Установлено, что активация *Eras2* и PKA в равной степени способствует возникновению β AR-индуцированных аритмий в результате повышенной (патологической) утечки Ca^{2+} из SR в диастолу [35]. Полученные нами данные о половых различиях экспрессии генов RyR2, CaM и *Eras2* в сердцах возрастных животных позволяют предположить, что у самцов вероятность развития гипертрофии миокарда и возникновения желудочковых и предсердных аритмий значительно выше, чем у самок (рис. 3, 6/б).

Если роль RyR2 в реализации электромеханического сопряжения кардиомиоцитов очевидна, то до настоящего времени нет четкого представления о вкладе IP_3Rs в этот процесс. В предсердиях экспрессируется значительно больше IP_3Rs , чем в желудочках. В физиологических условиях доля IP_3R -индуцированного высвобождения Ca^{2+} из SR незначительна, что делает их вклад в увеличение $[Ca^{2+}]_{цит}$ и регуляцию процесса электромеханического сопряжения кардиомиоцитов минимальным [24]. Более очевидна роль IP_3Rs в формировании патофизиологических процессов – аритмогенеза и гипертрофии миокарда. В сердце IP_3R1 локализуется преимущественно в проводящих, а IP_3R2 – в сократительных кардиомиоцитах. Рецепторы IP_3R1 и IP_3R2 в SR находятся в непосредственной близости от сарколеммы и в тесной связи с RyRs [36–38]. IP_3Rs могут влиять на процесс электромеханического сопряжения в результате возникновения локальных Ca^{2+} спарков, которые могут передаваться на расположенные рядом RyR2 и усиливать ответ CICR (calcium induced calcium release) [39].

В настоящем исследовании выявлены половые различия возрастных изменений уровня экспрессии генов *Itp1*, *Itp2*, *Itp3* типов IP_3Rs . У возрастных самцов в левом желудочке возрастает уровень экспрессии IP_3R1 , IP_3R2 и IP_3R3 , а в желудочке самок, напротив, выявлено снижение содержания мРНК IP_3R3 . Зафиксирован рост экспрессии в левом предсердии самцов IP_3R1 , самок – IP_3R3 ; в правом предсердии самцов – IP_3R3 , самок – IP_3R1 и IP_3R3 . Это свидетельствует о локальной гетерогенности экспрессии изоформ

IP₃Rs в стареющем сердце, что, по-видимому, обусловлено различиями в их физиологических функциях [12, 14, 24]. Полагают, что IP₃R-вызванная активация RyR2, Ca_v1.2 каналов и Na⁺/Ca²⁺ обменника может приводить к фибрилляции предсердий [38]. Полученные результаты о гиперэкспрессии генов IP₃R, RyR2, Ca_v1.2 каналов в сердце возрастных крыс – самцов подтверждают вышеизложенное предположение о более высоком риске развития аритмий у стареющих особей мужского пола.

Имеются убедительные данные о причастности IP₃R2 к развитию гипертрофии миокарда в условиях повышенной экспрессии этих рецепторов и/или их чрезмерной активации в результате агонист-индуцированного сигналинга от GPCR. Этот механизм реализуется на уровне ядерных мембран (nuclear envelope, NE) [40, 41]. В кардиомиоцитах желудочков IP₃R2 сконцентрированы в NE и ассоциированы с CaM, CaMKII [42]. Считается, что центральную роль в регуляции экспрессии генов в кардиомиоцитах играет локальный прирост [Ca²⁺]_{нук.} [40, 43]. Наличие локальных Ca²⁺-зависимых механизмов IP₃R2-опосредованной регуляции проницаемости ядерных пор для трафика транскрипционных факторов в кардиомиоцитах предполагает вовлеченность IP₃R2 в развитие патологической гипертрофии левого желудочка у возрастных крыс-самцов. В пользу данного предположения свидетельствует высокий уровень экспрессии IP₃R2, а также CaM в кардиомиоцитах левого желудочка.

Судя по результатам исследования, в отличие от самцов, у самок на ранних этапах старения риск развития желудочковых аритмий, как и гипертрофии миокарда, минимален. Вместе с тем, у возрастных самок не исключена вероятность развития фибрилляции предсердий, на что косвенно указывает высокий уровень экспрессии IP₃R1 и IP₃R3 в правом предсердии. Повышение уровня IP₃Rs было отмечено в кардиомиоцитах предсердий у пациентов с хронической фибрилляцией предсердий [44, 45]. Роль IP₃R3-изоформы рецепторов в регуляции сердечной деятельности в норме и при патологии менее изучена. В экспериментах на клетках HeLa и COS-7 продемонстрировано их модулирующее действие на генерацию Ca²⁺-осцилляций. IP₃R1 и IP₃R3 играют противоположные роли в генерации колебаний Ca²⁺. Авторы предполагают, что IP₃R3 функционирует как анти-Ca²⁺-осциллятор [46]. Возможно, выявленное повышение экспрессии гена рецепторов IP₃R3 в сердце возрастных крыс является проявлением компенсаторной реакции в ответ на значительный рост экспрессии IP₃R1 типа.

Если вышеописанные ионные каналы, RyR, IP₃R и Ca²⁺-связывающие белки участвуют в обеспечении притока Ca²⁺ в цитозоль, то вход Ca²⁺ в SR в кардиомиоцитах осуществляется с помощью АТФазного кальциевого насоса SERCA2, работающего за счёт гидролиза

АТФ. SERCA2 переносит Ca²⁺ в просвет SR против градиента концентрации Ca²⁺, и этот процесс энергоемкий, требующий приблизительно 15% от общего потребления энергии сердцем [47, 48]. Сродство SERCA2 к Ca²⁺ и, следовательно, его насосная активность отрицательно регулируется ингибирующим белком Plamb. В нефосфорилированном состоянии Plamb ингибирует SERCA2, тогда как его фосфорилирование снижает это ингибирование [49, 50]. Имеющиеся сведения о возрастных изменениях содержания мРНК и белка SERCA2 и Plamb противоречивы [51]. Снижение активности SERCA2 связывают с возраст-ассоциированным увеличением экспрессии гена Pamb [52]. При сердечной недостаточности дефицит поглощения Ca²⁺ SR в кардиомиоцитах также связывают со снижением экспрессии и активности SERCA2 [53]. Полагают, что для правильной работы сердца человека необходим баланс между отсутствием и избыточным Pamb-зависимым ингибированием SERCA2 [54]. В экспериментах на трансгенных мышцах было показано, что сверхэкспрессия гена *PLN* приводит к снижению сократительных параметров сердца в результате уменьшения сродства SERCA2 к Ca²⁺ [55]. Выявленные нами изменения уровня экспрессии генов Pamb и SERCA2 зависели от пола животного: в левых отделах сердца возрастных самцов значительно возрастает экспрессия SERCA2 и Pamb, в то время как в левом предсердии самок выявлено значительное снижение экспрессии данных генов (рис. 5). По-видимому, на ранних этапах старения в сердце крыс сохраняется баланс в системе Pamb-SERCA2, что существенно не оказывает негативного влияния на сродство SERCA2 к Ca²⁺.

Заключение

Таким образом, триггерным механизмом возникновения ранних возрастных нарушений сердечного ритма и сократимости миокарда являются изменения транскрипционной активности генов, участвующих в регуляции кальциевого гомеостаза и электрической активности миокарда. Наиболее выраженные отклонения от показателей молодых животных обнаружены в левом желудочке и левом предсердии у возрастных крыс-самцов, о чем свидетельствует высокий уровень экспрессии исследуемых генов (рис. 7). Изменения в левых отделах сердца возрастных самок были незначительными, а динамика экспрессии генов Ca_v1.2, RyR2, IP₃R3, SERCA2 и Plamb противоположным образом отличалась от динамики в сердце самцов (рис. 7). Предположено, что вероятность раннего возникновения желудочковых и предсердных аритмий и развития гипертрофии миокарда у возрастных самцов обусловлена более выраженными изменениями Ca²⁺-зависимых механизмов по сравнению

с самками. У самок основные изменения транскрипционной активности исследуемых генов касались предсердий, в большей мере правого, где гиперэкспрессия потенциал-зависимых Ca_v1.2, K_v1.1 каналов, рецепторов IP₃R, RyR2 и их модуляторов CaM и Epac2 указывает на предрасположен-

ность к развитию фибрилляции предсердий. Полученные данные свидетельствуют о необходимости при разработке схем ранней профилактики и лечения возрастной сердечно-сосудистой патологии учитывать половые особенности механизмов старения сердца и сосудов.

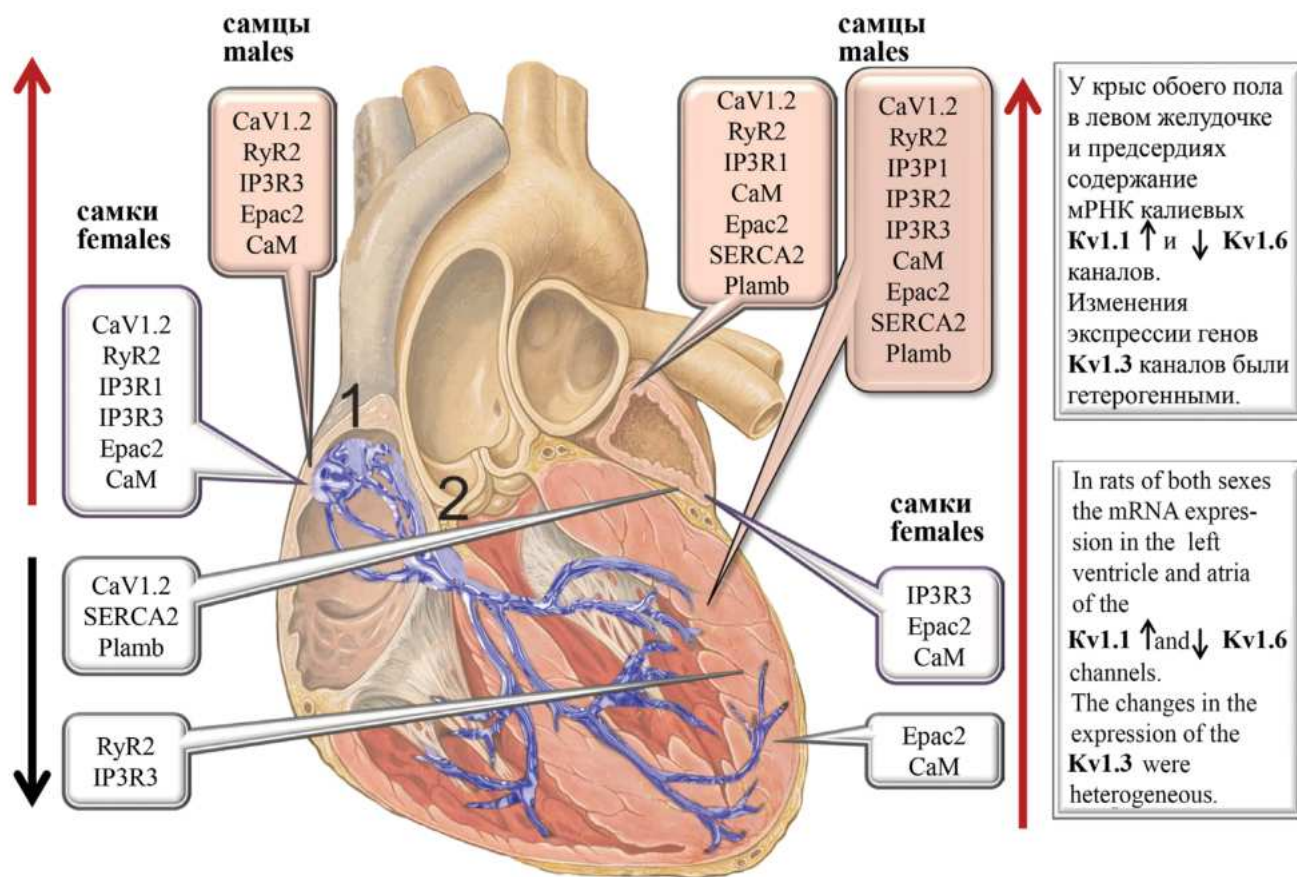


Рис. 7. Влияние пола и возраста на уровень экспрессии генов белков, участвующих в регуляции кальциевого гомеостаза в сердце крыс. Красной стрелкой обозначено увеличение уровня мРНК, черной – уменьшение по сравнению с контролем. Схематическое изображение сердца сделано на основе рисунка Джея Хойзера, Патрика Дж. Линча. (<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1686121>). Проводящая система сердца выделена синим цветом: (1) синусо-предсердный узел, (2) предсердно-желудочковый узел.

Fig. 7. Effect of sex and age on the expression levels of genes encoding proteins involved in calcium homeostasis regulation in rat hearts. Red arrows indicate increased mRNA levels, black arrows indicate decreased levels compared to controls. The schematic heart illustration was adapted from an image by Jay Heiser and Patrick J. Lynch (<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1686121>). Cardiac conduction system is highlighted in blue: (1) Sinoatrial node, (2) Atrioventricular node.

Литература/References

- Lakatta E.G. So! What's aging? Is cardiovascular aging a disease? *J. Mol. Cell Cardiol.* 2015; 83: 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.04.005>
- Chen M.S., Lee R.T., Garbern J.C. Senescence mechanisms and targets in the heart. *Cardiovasc. Res.* 2022; 118(5): 1173–87. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab161>
- Maldonado E., Morales-Pison S., Urbina F., Solari A. Aging Hallmarks and the Role of Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel)* 2023; 12(3): 651. <https://doi.org/10.3390/antiox12030651>
- Vijayakumar A., Wang M., Kailasam S. The Senescent Heart — “Age Doth Wither Its Infinite Variety”. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(7): 3581. <https://doi.org/10.3390/ijms25073581>

5. Prajapati C., Koivumäki J., Pekkanen-Mattila M., Aalto-Setälä K. Sex differences in heart: from basics to clinics. *Eur. J. Med. Res.* 2022; 27(1): 241. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00880-z>
6. Cannatà A., Fabris E., Merlo M., Artico J., Gentile P., Pio Loco C., Ballaben A., Ramani F., Barbati G., Sinagra G. Sex Differences in the Long-term Prognosis of Dilated Cardiomyopathy. *Can. J. Cardiol.* 2020; 36(1): 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2019.05.031>
7. Kavousi M. Differences in Epidemiology and Risk Factors for Atrial Fibrillation Between Women and Men. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020; 7: 3. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00003>
8. Qian N., Jin J., Gao Y., Liu J., Wang Y. Sex Differences in Atrial Fibrillation: Evidence from Circulating Metabolites. *Metabolites* 2025; 15(3): 170. <https://doi.org/10.3390/metabo15030170>
9. Karamnov S., Sarkisian N., Wollborn J., Justice S., Fields K., Kovacheva V.P., et al. Sex, Atrial Fibrillation, and Long-Term Mortality After Cardiac Surgery. *JAMA Netw. Open* 2024; 7(8): e2426865. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2024.26865>
10. Tsuneda T., Yamashita T., Kato T., Sekiguchi A., Sagara K., Sawada H., et al. Deficiency of testosterone associates with the substrate of atrial fibrillation in the rat model. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2009; 20(9): 1055–60. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8167.2009.01474.x>
11. Tykocki N.R., Boerman E.M., Jackson W.F. Smooth Muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles. *Compr. Physiol.* 2017; 7(2): 485–581. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160011>
12. Garcia M.I., Karlstaedt A., Chen J.J., Amione-Guerra J., Youker K.A., Taegtmeier H., et al. Functionally redundant control of cardiac hypertrophic signaling by inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2017; 112: 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2017.09.006>
13. Dulhunty A.F., Beard N.A., Casarotto M.G. Recent advances in understanding the ryanodine receptor calcium release channels and their role in calcium signalling. *F1000Res.* 2018; 7: F1000 Faculty Rev-1851. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16434.1>
14. Mangla A., Guerra M.T., Nathanson M.H. Type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor: A calcium channel for all seasons. *Cell Calcium* 2020; 85: 102132. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.102132>
15. Demydenko K., Ekhteraei-Tousi S., Roderick H.L. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in cardiomyocyte physiology and disease. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2022; 377(1864): 20210319. <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0319>
16. Chen M.S., Lee R.T., Garbern J.C. Senescence mechanisms and targets in the heart. *Cardiovasc. Res.* 2022; 118(5): 1173–87. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab161>
17. Seo M.D., Enomoto M., Ishiyama N., Stathopoulos P.B., Ikura M. Structural insights into endoplasmic reticulum stored calcium regulation by inositol 1,4,5-trisphosphate and ryanodine receptors. *Biochim. Biophys. Acta* 2015; 1853(9): 1980–91. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.11.023>
18. Dixon R.E. Nanoscale Organization, Regulation, and Dynamic Reorganization of Cardiac Calcium Channels. *Front. Physiol.* 2022; 12: 810408. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.810408>
19. Lee L.C., Maurice D.H., Baillie G.S. Targeting protein-protein interactions within the cyclic AMP signaling system as a therapeutic strategy for cardiovascular disease. *Future Med. Chem.* 2013; 5(4): 451–64. <https://doi.org/10.4155/fmc.12.216>
20. de Lucia C., Eguchi A., Koch W.J. New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 904. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00904>
21. Hamilton S., Terentyev D. Altered Intracellular Calcium Homeostasis and Arrhythmogenesis in the Aged Heart. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(10): 2386. <https://doi.org/10.3390/ijms20102386>
22. Federico M., Valverde C.A., Mattiazzi A., Palomeque J. Unbalance Between Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} Uptake and Release: A First Step Toward Ca^{2+} Triggered Arrhythmias and Cardiac Damage. *Front. Physiol.* 2020; 10: 1630. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01630>
23. Herold K.G., Hussey J.W., Dick I.E. *CACNA1C*-Related Channelopathies. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2023; 279: 159–81. https://doi.org/10.1007/164_2022_624
24. Woodcock E.A., Matkovich S.J. Ins(1,4,5)P₃ receptors and inositol phosphates in the heart — evolutionary artefacts or active signal transducers? *Pharmacol. Ther.* 2005; 107(2): 240–51. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.04.002>
25. Trosclair K., Si M., Watts M., Gautier N.M., Voigt N., Traylor J., et al. Kv1.1 potassium channel subunit deficiency alters ventricular arrhythmia susceptibility, contractility, and repolarization. *Physiol. Rep.* 2021; 9(1): e14702. <https://doi.org/10.14814/phy2.14702>
26. Dwenger M.M., Raph S.M., Baba S.P., Moore J.B. 4th, Nystoriak M.A. Diversification of Potassium Currents in Excitable Cells via Kv β Proteins. *Cells.* 2022; 11(14): 2230. <https://doi.org/10.3390/cells11142230>
27. Bähring R., Vardanyan V., Pongs O. Differential modulation of Kv1 channel-mediated currents by co-expression of Kv β 3 subunit in a mammalian cell-line. *Mol. Membr. Biol.* 2004; 21(1): 19–25. <https://doi.org/10.1080/09687680310001597749>
28. Si M., Darvish A., Paulhus K., Kumar P., Hamilton K.A., Glasscock E. Epilepsy-associated Kv1.1 channel subunits regulate intrinsic cardiac pacemaking in mice. *J. Gen. Physiol.* 2024; 156(9): e202413578. <https://doi.org/10.1085/jgp.202413578>
29. Weisleder N., Ma J. Altered Ca^{2+} sparks in aging skeletal and cardiac muscle. *Ageing Res. Rev.* 2008; 7(3): 177–88. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.12.003>
30. Marx S.O., Marks A.R. Dysfunctional ryanodine receptors in the heart: new insights into complex cardiovascular diseases. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2013; 58: 225–31. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.03.005>
31. Urrutia J., Aguado A., Muguruza-Montero A., Núñez E., Malo C., Casis O., Villarroel A. The Crossroad of Ion Channels and Calmodulin in Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(2): 400. <https://doi.org/10.3390/ijms20020400>
32. Zhou X., Sun F., Luo S., Zhao W., Yang T., Zhang G., et al. Let-7a Is an Antihypertrophic Regulator in the Heart via Targeting Calmodulin. *Int. J. Biol. Sci.* 2017; 13(1): 22–31. <https://doi.org/10.7150/ijbs.16298>
33. Arnáiz-Cot J.J., Damon B.J., Zhang X.H., Cleemann L., Yamaguchi N., Meissner G., et al. Cardiac calcium signalling pathologies associated with defective calmodulin regulation of type 2 ryanodine receptor. *J. Physiol.* 2013; 591(17): 4287–99. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.256123>
34. Kozhevnikova L.M., Tsorin I.B., Stolyaruk V.N., Sukhanova I.F., Vititnova M.B., Nikiforova T.D., et al. Epac Proteins and Calmodulin as Possible Arrhythmogenesis Trigger in Alcoholic Cardiomyopathy. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018; 165(5): 613–6. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4225-4>

35. Ruiz-Hurtado G., Morel E., Domínguez-Rodríguez A., Llach A., Lezoualc'h F., Benitah J.P., Gomez A.M. Epac in cardiac calcium signaling. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2013; 58: 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.11.021>
36. Lipp P., Laine M., Tovey S.C., Burrell K.M., Berridge M.J., Li W., et al. Functional InsP3 receptors that may modulate excitation-contraction coupling in the heart. *Curr. Biol.* 2000; 10(15): 939–42. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00624-2](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00624-2)
37. Kocksämper J., Zima A.V., Roderick H.L., Pieske B., Blatter L.A., Bootman M.D. Emerging roles of inositol 1,4,5-trisphosphate signaling in cardiac myocytes. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2008; 45(2): 128–47. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.05.014>
38. Kim J.C., Son M.J., Subedi K.P., Li Y., Ahn J.R., Woo S.H. Atrial local Ca²⁺ signaling and inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2010; 103(1): 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2010.02.002>
39. Ju Y.K., Woodcock E.A., Allen D.G., Cannell M.B. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors and pacemaker rhythms. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2012; 53(3): 375–81. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.06.004>
40. Wu X., Zhang T., Bossuyt J., Li X., McKinsey T.A., Dedman J.R., et al. Local InsP3-dependent perinuclear Ca²⁺ signaling in cardiac myocyte excitation-transcription coupling. *J. Clin. Invest.* 2006; 116(3): 675–82. <https://doi.org/10.1172/JCI27374>
41. Ljubojevic S., Bers D.M. Nuclear calcium in cardiac myocytes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2015; 65(3): 211–7. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000174>
42. Zima A.V., Bare D.J., Mignery G.A., Blatter L.A. IP3-dependent nuclear Ca²⁺ signalling in the mammalian heart. *J. Physiol.* 2007; 584(Pt 2): 601–11. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.140731>
43. Kocksämper J., Seidlmayer L., Walther S., Hellenkamp K., Maier L.S., Pieske B. Endothelin-1 enhances nuclear Ca²⁺ transients in atrial myocytes through Ins(1,4,5)P3-dependent Ca²⁺ release from perinuclear Ca²⁺ stores. *J. Cell Sci.* 2008; 121(Pt 2): 186–95. <https://doi.org/10.1242/jcs.021386>
44. Yamda J., Ohkusa T., Nao T., Ueyama T., Yano M., Kobayashi S., Hamano K., Esato K., Matsuzaki M. Up-regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor expression in atrial tissue in patients with chronic atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 37(4): 1111–9. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(01\)01144-5](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(01)01144-5)
45. Liang X., Xie H., Zhu P.H., Hu J., Zhao Q., Wang C.S., et al. Enhanced activity of inositol-1,4,5-trisphosphate receptors in atrial myocytes of atrial fibrillation patients. *Cardiology* 2009; 114(3): 180–91. <https://doi.org/10.1159/000228584>
46. Hattori M., Suzuki A.Z., Higo T., Miyauchi H., Michikawa T., Nakamura T., et al. Distinct roles of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor types 1 and 3 in Ca²⁺ signaling. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(12): 11967–75. <https://doi.org/10.1074/jbc.m311456200>
47. Belke D.D., Swanson E., Suarez J., Scott B.T., Stenbit A.E., Dillmann W.H. Increased expression of SERCA in the hearts of transgenic mice results in increased oxidation of glucose. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007; 292(4): H1755–H1763. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00884.2006>
48. Gambardella J., Trimarco B., Iaccarino G., Santulli G. New Insights in Cardiac Calcium Handling and Excitation-Contraction Coupling. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018; 1067: 373–85. https://doi.org/10.1007/5584_2017_106
49. Gonnot F., Boulogne L., Brun C., Dia M., Gouriou Y., Bidaux G., et al. SERCA2 phosphorylation at serine 663 is a key regulator of Ca²⁺ homeostasis in heart diseases. *Nat. Commun.* 2023; 14(1): 3346. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39027-x>
50. Liu Y.B., Wang Q., Song Y.L., Song X.M., Fan Y.C., Kong L., et al. Abnormal phosphorylation/dephosphorylation and Ca²⁺ dysfunction in heart failure. *Heart Fail. Rev.* 2024; 29(4): 751–68. <https://doi.org/10.1007/s10741-024-10395-w>
51. Bencurova M., Lysikova T., Leskova Majdova K., Kaplan P., Racay P., Lehotsky J., Tatarkova Z. Age-Dependent Changes in Calcium Regulation after Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Biomedicines* 2023; 11(4): 1193. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041193>
52. Hamilton S., Terentyev D. Altered Intracellular Calcium Homeostasis and Arrhythmogenesis in the Aged Heart. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(10): 2386. <https://doi.org/10.3390/ijms20102386>
53. Del Monte F., Hajjar R.J. Intracellular devastation in heart failure. *Heart Fail. Rev.* 2008; 13(2): 151–62. <https://doi.org/10.1007/s10741-007-9071-9>
54. MacLennan D.H., Kranias E.G. Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003; 4(7): 566–77. <https://doi.org/10.1038/nrm1151>
55. Ragone I., Barallobre-Barreiro J., Takov K., Theofilatos K., Yin X., Schmidt L.E., et al. SERCA2a Protein Levels Are Unaltered in Human Heart Failure. *Circulation* 2023; 148(7): 613–6. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.064513>

Сведения об авторах:

Кожевникова Любовь Михайловна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «НИИОПП», e-mail: lubovmih@yandex.ru

Суханова Ирина Федоровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «НИИОПП».

© Коллектив авторов, 2025
УДК 615.015

Рощевская И.М.^{1,2}, Смирнова С.Л.², Симоненко С.А.¹, Барчуков В.В.¹, Цорин И.Б.¹, Вититнова М.Б.¹, Крыжановский С.А.¹

Электрическая активность сердца и микроциркуляция крови в миокарде крыс в условиях острой алкогольной интоксикации

¹ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, 123315, Россия, ул. Балтийская, д. 8;

²ФГБУН «ФИЦ Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар, 167982, Россия, ул. Коммунистическая, д. 24

Цель исследования: изучение электрической активности сердца и микроциркуляции крови в миокарде крыс в условиях острой алкогольной интоксикации (ОАИ).

Методика. Исследования проведены на белых беспородных крысах – самцах. Моделирование ОАИ проводили путем внутрибрюшинной инъекции 25% раствора этанола (5 г/кг). Измерение микроциркуляции проводили с помощью компьютеризированного лазерного анализатора «ЛАЗМА-ОП2» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 3.0.2.395. Для оценки электрической активности сердца во II биполярном отведении от конечностей анализировали длительности (в мс): R-R интервала; зубца P; сегмента и интервала PQ; комплекса QRS; интервала R-J; интервалов J-T_{pic} и T_{pic}-T_{end}; интервала QT. Рассчитывали длительность скорректированного интервала QT по формуле Базетта. Измеряли амплитуду зубцов P, R и S, T-волны (в мВ). Измерения проводили в исходном состоянии, через два дня при острой алкогольной интоксикации (ОАИ) и через сутки после отмены этилового спирта.

Результаты. При ОАИ выявлено значительное уменьшение длительности P-волны, QRS комплекса (за счет входящей части R-волны), интервала J-T_{pic}, интервала QT и QT_c. Через сутки после отмены этанола длительности P-волны и QRS комплекса восстанавливаются до исходных значений, длительность интервалов J-T_{pic} и T_{pic}-T_{end}, QT и QT_c увеличивается существенно больше, чем в исходном состоянии. В отличие от электрической активности сердца, микроциркуляция крови в миокарде крыс на фоне ОАИ не изменялась.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о наличии высокого риска возникновения нарушений сердечного ритма в условиях ОАИ. Нарушения электрической стабильности миокарда при ОАИ, по всей видимости, связаны с прямым токсическим действием этанола на сердечную мышцу.

Ключевые слова: острая алкогольная интоксикация; электрическая активность сердца; микроциркуляция крови; аритмия

Для цитирования: Рощевская И.М., Смирнова С.Л., Симоненко С.А., Барчуков В.В., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А. Электрическая активность сердца и микроциркуляция крови в миокарде крыс в условиях острой алкогольной интоксикации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 17–27.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.17-27

Для корреспонденции: Крыжановский Сергей Александрович, e-mail: kryzhanovskii_sa@academpharm.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Рощевская И.М., Крыжановский С.А.; сбор и обработка материала – Рощевская И.М., Смирнова С.Л., Симоненко С.А., Барчуков В.В.; подготовка иллюстративного материала – Смирнова С.Л., Симоненко С.А.; статистическая обработка материала – Цорин И.Б.; написание статьи – Рощевская И.М., Крыжановский С.А., Вититнова М.Б.; редактирование – Вититнова М.Б. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № FGFG-2025-0011.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Roshchevskaya I.M.^{1,2}, Smirnova S.L.², Simonenko S.A.¹, Barchukov V.V.¹, Tsorin I.B.¹, Vititnova M.B.¹, Kryzhanovskii S.A.¹

Electrical activity of the heart, and blood microcirculation in the myocardium of rats under conditions of acute alcohol intoxication

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

²Federal Research Center Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 24 Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, 167982, Russian Federation

Purpose of the study. Study of the heart electrical activity and the blood microcirculation in the myocardium of rats under conditions of acute alcohol intoxication (AAI).

Materials and methods. The studies were conducted on white outbred male rats. Modeling of AAI was carried out with intraperitoneal injection of 25% ethanol solution (5 g/kg). The measurement of microcirculation was carried out using a computerized laser analyzer "Lazma-OP2" (production of SPF Lazma, Russia) using the LDF 3.0.2.395 program. To evaluate the EAH in the II bipolar lead from the limbs, the duration (in ms) was analyzed: R–R interval; P spike; segment and interval PQ; complex QRS; interval from the peak R to point j; intervals J–T_{pic} and T_{pic}–T_{end}; Qt interval. The duration of the corrugated QT interval according to the Basette and heart rate was calculated. The amplitude of the P, R and S, T-waves (in mV) was measured. The measurements were carried out in the initial state, two days later at the AAI, a day after the abolition of ethyl alcohol.

Results. In the AAI, a significant reduction in the duration of the P-wave, QRS complex due to the ascending part of the R-wave, the J–T_{pic} interval, the QT interval and QT_c were revealed. A day after the ethanol deprivation the duration of the P-wave, the QRS complex is restored to the initial value, the intervals of J–T_{pic} and T_{pic}–T_{end}, QT and QT_c are increasing significantly more than the initial state. Unlike heart electrical activity, the blood microcirculation in the myocardium of rats against the background of the AAI did not change.

Conclusion. The results indicate a high risk of heart rhythm disturbances in an AAI. Violations of the myocardium electrical stability in the AAI, apparently, are associated with the direct toxic effect of ethanol on the heart muscle.

Keywords: acute alcohol intoxication; electrical activity of the heart; blood microcirculation; arrhythmia

For citation: Roshchevskaya I.M., Smirnova S.L., Simonenko S.A., Barchukov V.V., Tsorin I.B., Vititnova M.B., Kryzhanovskii S.A. Electrical activity of the heart, and blood microcirculation in the myocardium of rats under conditions of acute alcohol intoxication. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 17–27. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.17-27

For correspondence: Kryzhanovskii Sergey Alexandrovich, e-mail: kryzhanovskii_sa@academpharm.ru

Autor's contribution: concept and design of the study – Roshchevskaya I.M., Kryzhanovskii S.A.; collection and processing of material – Roshchevskaya I.M., Smirnova S.L., Simonenko S.A., Barchukov V.V.; preparation of illustrative material for publication – Smirnova S.L., Simonenko S.A.; statistical processing – Tsorin I.B.; text writing – Roshchevskaya I.M., Kryzhanovskii S.A., Vititnova M.B.; editing the text – Vititnova M.B. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Information about authors:

Roshchevskaya I.M., <https://orcid.org/0000-0002-6108-1444>

Smirnova S.L., <https://orcid.org/0000-0003-4292-2444>

Barchukov V.V., <https://orcid.org/0000-0003-4229-3107>

Tsorin I.B., <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>

Vititnova M.B., <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>

Kryzhanovskii S.A., <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>

Financing. The study was carried out as part of a state assignment № FGFG-2025-0011.

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

Received 24.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Злоупотребление алкогольными напитками приводит к значительному росту смертности населения. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), за 2018 год во всём мире расстройства, связанные с употреблением алкоголя, ежегодно приводят к более чем 3 млн смертей, составляя 7% преждевременных смертей (в возрасте ≤ 65 лет) и 132,6 млн потерянных лет жизни с поправкой на инвалидность. В целом летальность от злоупотребления алкоголем превышает смертность от других распространённых причин, в том числе таких как диабет, ВИЧ и туберкулёз [1]. Статистические данные ВОЗ, опубликованные в 2024 году, свидетельствуют о том, что алкоголь-обусловленная летальность в 2019 году составила 4,7% от общего числа случаев смерти за год, при этом наибольшая (13%) летальность пришлась на молодых людей в возрасте 20–39 лет [2].

Острая алкогольная интоксикация (ОАИ) является наиболее распространённой интоксикацией во всем мире [3] и сопровождается высокой летальностью. В 2015 году в РФ из 58688 человек, умерших от злоупотребления алкоголем, 31,9% скончались от ОАИ [4]. По данным токсикологических центров России, пациенты с ОАИ составили в среднем 39,1 % от всех госпитализированных в эти подразделения, при этом удельный вес летальных исходов от ОАИ в общей смертности от острых химических интоксикаций достигает 50–60% [5].

Показано, что ОАИ возникает при концентрации этанола в плазме крови более 3 г/л. Смерть при ОАИ в основном наступает при превышении концентрации этанола в плазме крови 5 г/л, однако летальная доза алкоголя подвержена индивидуальным колебаниям [6].

Для ОАИ характерно поражение различных органов и систем организма. Клиническая картина ОАИ прежде всего проявляется центральной патологией (энцефалопатией смешанного /токсического и гипоксического/ генеза, проявляющейся комой и неврологическими расстройствами, угнетением сосудодвигательного и дыхательного центров продолговатого мозга и др.), протекающей на фоне тяжелых метаболических нарушений: гипогликемии, ацидоза, гипокалиемии, гипомагниемии, гипокальциемии, гипоальбуминемии и гипофосфатемии [7]. Параллельно с этим развиваются нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы (ССС): тахикардия, периферическая вазодилатация и гиповолемия, возможна гипотермия и гипотензия [8]. Помимо системных нарушений деятельности ССС, при ОАИ наблюдается и патология микроциркуляторного русла. Так, например, в опытах на крысах установлено, что в условиях ОАИ увеличива-

ется проницаемость стенок мезентериальных микрососудов для белков плазмы крови, нарушается сократительная активность лимфатических сосудов [9, 10]. Вместе с тем особенности микроциркуляции крови в сердце в условиях ОАИ остаются неизученными.

Исход алкогольной интоксикации во многом определяют кардиальные расстройства [11, 12]. При злоупотреблении алкоголем значительно возрастает риск развития внезапной сердечной смерти (ВСС), поскольку, как известно, этанол является триггером развития фатальных нарушений ритма сердца [13]. Наиболее вероятным непосредственным механизмом ВСС в подобных случаях является жизнеугрожающая желудочковая тахикардия типа «пируэт» (*torsade de pointes*), развивающаяся на фоне удлинения интервала QT, что весьма часто регистрируется у лиц, злоупотребляющих алкоголем [14]. Однако системные исследования по изучению ОАИ-опосредованных изменений ЭКГ не проводились [15]. Показано, что ВСС чрезвычайно часто диагностируется у пациентов с ОАИ [16], но до сих пор не ясно – является ли ОАИ непосредственной причиной смерти, либо же провоцирующим фактором.

Результаты исследований влияния ОАИ на электрическую активность сердца противоречивы и не позволяют сделать однозначные выводы о механизмах изменения электрической активности сердца при употреблении алкоголя. Патогенез алкоголь-обусловленного электрического ремоделирования миокарда до настоящего времени, несмотря на рост алкоголь-обусловленной аритмогенной смертности, остается малоизученным, а представления о нём фрагментарны.

Цель исследования: изучение изменения электрической активности сердца и микроциркуляции крови в миокарде крыс в условиях ОАИ.

Методика

Опыты проведены на белых беспородных крысах – самцах, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая», имеющих ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья и прошедших 15-суточный карантин в виварии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Животных содержали в стандартных пластиковых клетках по 8–10 голов, с предоставлением брикетированного корма *ad libitum* при регулируемом 12/12 световом режиме (свет выключался в 08:00). Условия содержания животных соответствовали ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила обору-

дования помещений и организации процедур» (Переиздание) и ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (Переиздание). Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC)) и «Правилами работы с животными», утвержденными биоэтической комиссией ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Животные получали стандартный брикетированный корм ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», РФ).

Моделирование острой алкогольной интоксикации. Для воспроизведения ОАИ крысам внутривенно вводили 25% раствор этанола из расчета 5 г/кг. Объем вводимого раствора рассчитывали по формуле:

$$V = D \cdot \frac{M}{250},$$

где V – объем вводимого раствора (мл), D – доза этанола (г/кг), M – масса тела животного (г). [17].

В этих условиях у животных через 5–10 минут развивался наркотический сон.

Метод измерения микроциркуляции

Измерение микроциркуляции проводили у животных массой 250–300 г. Животных рандомизировали на 3 группы: 1-я ($n = 10$) – крысы в состоянии ОАИ; 2-я ($n = 9$) – крысы, повторно введенные в состояние ОАИ (второй раз – через 24 ч); 3-я ($n = 6$) – контрольные животные, находящиеся под наркозом, вызванным уретаном (1300 мг/кг в/б).

Оценку микроциркуляции крови проводили методом лазерной доплеровской флоуметрии с помощью компьютеризированного лазерного анализатора «ЛАЗ-МА-ОП2» (НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 3.0.2.395. Регистрировали показатели микроциркуляции крови в сердце у наркотизированных крыс, фиксированных на подогреваемом лабораторном столике ($t 38^\circ\text{C}$, Surgi Suite, Kent Scientific Corporation, США). Температуру в лабораторной комнате поддерживали в пределах $24\text{--}25^\circ\text{C}$. Измерения в микроциркуляции крови в левом желудочке сердца проводили в условиях открытой грудной клетки и искусственного дыхания с помощью аппарата искусственной вентиляции

легких для грызунов (Ugo Basile, Италия). Световодный зонд фиксировали на поверхности органа. Длительность записи показателей микроциркуляции в каждой точке составляла 8 минут. Измерения проводили через 10, 20 и 30 минут от начала ОАИ. При оценке микроциркуляции рассчитывали показатель микроциркуляции в перфузионных единицах (перф. ед.).

Метод регистрации электрической активности сердца

Электрическую активность сердца измеряли методом электрокардиографии в биполярных отведениях от конечностей у 10 крыс массой тела 180–200 г, в исходном состоянии (под наркозом золетилом, 1,25 мг на 100 г, в/м), через два дня при ОАИ (через 30 минут после в/б введения этилового спирта), через сутки после ОАИ (под наркозом золетилом, 1,25 мг на 100 г в/м).

По ЭКГ во втором биполярном отведении от конечностей анализировали длительности (в мс): R-R интервала, зубца P, сегмента и интервала PQ, комплекса начальной желудочковой активности QRS, интервала от пика R до точки J, интервалов J-T_{пик} и T_{пик}-T_{энд}, интервала QT. Рассчитывали длительность скорректированного интервала QT по формуле Базетта. Измеряли амплитуду зубцов P, R и S, T-волны (в мВ).

Для регистрации электрической активности сердца использовали электрокардиотопографическую систему.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США).

Нормальность распределения результатов измерений проверяли по критерию Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – по Левену. Так как распределение полученных данных было близко к нормальному, а дисперсии были гомогенными, то для определения значимости различий величины микроциркуляции использовали однофакторный дисперсионный анализ. Обработку результатов электрофизиологических измерений проводили с помощью дисперсионного анализа вторичных измерений. В обоих случаях для дальнейшего анализа использовали метод множественных сравнений по Дункану.

Полученные результаты представляли в виде средних арифметических и стандартных отклонений. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Препараты: спирт этиловый 96%, разведенный дистиллированной водой до 25% (ООО «Главспирт», Россия), уретан (субстанция, Sigma-Aldrich, США), золетил (Virbac, Франция).

Результаты

Микроциркуляция

В миокарде левого желудочка сердца микроциркуляция крови не изменяется ни при первичной, ни при повторной ОАИ (табл. 1).

Электрическая активность сердца. При ОАИ у крыс относительно исходного состояния существенно уменьшается (табл. 2) длительность интервала RR ($p = 0,0001$) и, соответственно, увеличивается ЧСС ($p = 0,0001$). Через сутки после отмены приема алкоголя длительность R-R интервала значительно увеличивается и становится больше, чем при ОАИ, а ЧСС уменьшается относительно ОАИ и исходного состояния ($p \leq 0,0001$). Длительность деполяризации предсердий (P_{II}-волны) значительно ($p < 0,0001$) уменьшается при ОАИ по сравнению с исходным состоянием, но через сутки после отмены алкоголя практически возвращается к исходной. Амплитудные характеристики P_{II}-волны изменяются значительно: при ОАИ они имеют существенно меньшие значения ($p < 0,05$), чем в исходном состоянии. После отмены алкоголя амплитуда P_{II}-волны значительно ($p < 0,05$) увеличивается относительно ОАИ, но не достигает исходных величин.

При ОАИ значительно ($p < 0,005$) уменьшается длительность интервала P-Q_{II}, но продолжительность сегмента PQ_{II} остается практически неизменной. Следовательно уменьшение длительности интервала P-Q_{II} происходит за счет статистически достоверного уменьшения длитель-

ности возбуждения предсердий (длительности P_{II}-волны). Через сутки после приема алкоголя длительность интервала P-Q_{II} возвращается к исходному значению, а длительность сегмента PQ_{II} не зависит от приема этанола или его отмены. Длительность начальной желудочковой активности (начального желудочкового комплекса QRS_{II}) уменьшается при ОАИ статистически достоверно ($p = 0,0004$), через сутки после отмены возвращается к исходной. Длительность интервала R-J_{II} при ОАИ и после отмены этанола остается практически неизменной. Следовательно, значительное укорочение периода деполяризации желудочков происходит за счет уменьшения длительности восходящей части R_{II} зубца и начальных фаз деполяризации желудочков сердца. При ОАИ амплитуда зубца R_{II} снижается существенно ($p = 0,0001$), через сутки после отмены алкоголя увеличивается значительно ($p \leq 0,0001$) по сравнению с ОАИ и остается значительно больше, чем в исходном состоянии.

Длительность начальной желудочковой активности (начального желудочкового комплекса QRS_{II}) уменьшается при ОАИ статистически достоверно ($p = 0,0004$), через сутки после отмены возвращается к исходной. Длительность интервала R-J_{II} при ОАИ и после отмены этанола остается практически неизменной, следовательно, значительное укорочение периода деполяризации желудочков происходит за счет уменьшения длительности восходящей части R_{II} зубца, начальных фаз деполяризации желудочков сердца. При ОАИ амплитуда зубца R_{II} снижается существенно ($p = 0,0001$), через сутки после отмены ал-

Таблица 1/ Table 1

Влияние ОАИ на микроциркуляцию крови в левом желудочке сердца у крыс

The effect of acute alcohol intoxication (AAI) on blood microcirculation in the heart left ventricle in rats

Группа Group	n	Микроциркуляция крови (перф. ед.) Blood microcirculation (perf. units)		
		Время интоксикации, мин Intoxication time, min		
		10	20	30
Контроль Control	6	24,91 ± 0,88	23,73 ± 0,65	23,75 ± 0,38
Первичная ОАИ Primary AAI	10	26,64 ± 0,89 $p = 0,24$	25,18 ± 0,87 $p = 0,27$	25,53 ± 1,19 $p = 0,23$
Повторная ОАИ Repeated AAI	9	22,60 ± 1,09 $p = 0,12$	22,17 ± 0,91 $p = 0,23$	21,95 ± 0,85 $p = 0,23$

Примечание. Результаты представлены в виде средних арифметических и их стандартных ошибок; p указано по отношению к контролю.

Note. Arithmetic means and their standard errors are shown; p is indicated in relation to the control.

Таблица 2 / Table 2

Параметры ЭКГ во втором отведении от конечностей крыс (n = 10) в исходных условиях, при острой алкогольной интоксикации и через сутки после отмены этанола

ECG parameters in the second limb lead of rats (n = 10) under initial conditions, during acute alcohol intoxication and one day after ethanol withdrawal

Показатель Index	Исходное состояние Initial conditions	ОАИ AAI	Через сутки после ОАИ A day after the AAI
ЧСС, уд/мин Heart rate, beats/min	478,6 ± 4,8	524,1 ± 5,5 <i>p</i> = 0,0001	443,8 ± 5,7 <i>p</i> = 0,0001; <i>p</i> ₁ < 0,0001
Интервал RR, мс RR interval, ms	125,7 ± 1,3	114,9 ± 1,2 <i>p</i> = 0,0001	135,8 ± 1,7 <i>p</i> = 0,0001; <i>p</i> ₁ < 0,0001
Длительность зубца Р, мс P wave duration, ms	16,9 ± 0,6	14,4 ± 0,4 <i>p</i> < 0,0001	16,3 ± 0,5 <i>P</i> = 0,16; <i>p</i> ₁ = 0,0002
Амплитуда зубца Р, мВ P-wave amplitude, mV	0,157 ± 0,006	0,127 ± 0,005 <i>p</i> = 0,002	0,143 ± 0,008 <i>p</i> = 0,048; <i>p</i> ₁ = 0,030
Интервал P-Q, мс P-Q interval, ms	48,4 ± 0,5	46,3 ± 0,5 <i>p</i> = 0,0035	48,5 ± 0,7 <i>p</i> = 0,88; <i>p</i> ₁ = 0,0031
Сегмент PQ, мс PQ segment, ms	31,5 ± 0,6	31,5 ± 0,6	32,2 ± 0,5 <i>p</i> = 0,27; <i>p</i> ₁ = 0,55
Длительность QRS, мс QRS duration, ms	16,6 ± 0,6	14,7 ± 0,2 <i>p</i> = 0,0004	15,9 ± 0,2 <i>p</i> = 0,18; <i>p</i> ₁ = 0,0147
Амплитуда зубца R, мВ R-wave amplitude, mV	0,671 ± 0,043	0,507 ± 0,034 <i>p</i> = 0,0001	0,842 ± 0,050 <i>p</i> = 0,0001; <i>p</i> ₁ < 0,0001
Амплитуда зубца S, мВ S-wave amplitude, mV	- 0,319 ± 0,049	- 0,385 ± 0,034 <i>p</i> = 0,0993	- 0,459 ± 0,036 <i>p</i> = 0,0012; <i>p</i> ₁ = 0,070
Интервал R-J, мс R-J interval, ms	8,6 ± 0,3	8,6 ± 0,2 <i>p</i> = 1	8,8 ± 0,2 <i>p</i> = 0,43; <i>p</i> ₁ = 0,40
Интервал J-T _{пик} , мс J-T _{пик} interval, ms	23,5 ± 0,6	20,7 ± 1,1 <i>p</i> = 0,0015	27,2 ± 0,8 <i>p</i> = 0,0002; <i>p</i> ₁ < 0,0001
Интервал T _{пик} -T _{энд} , мс T _{пик} -T _{энд} interval, ms	31,2 ± 0,7	30,1 ± 1,2 <i>p</i> = 0,47	35,3 ± 1,1 <i>p</i> = 0,0067; <i>p</i> ₁ = 0,0011
Амплитуда зубца T, мВ T-wave amplitude, mV	0,212 ± 0,009	0,225 ± 0,016 <i>p</i> = 0,45	0,265 ± 0,020 <i>p</i> = 0,004; <i>p</i> ₁ = 0,0222
Интервал QT, мс QT interval, ms	71,3 ± 1,0	65,5 ± 0,6 <i>p</i> = 0,0002	78,4 ± 1,4 <i>p</i> = 0,0001; <i>p</i> ₁ < 0,0001
Интервал QT _c , мс QT _c interval, ms	201,1 ± 2,4	193,5 ± 2,0 <i>p</i> = 0,0384	212,7 ± 3,2 <i>p</i> = 0,0022; <i>p</i> ₁ < 0,0001

Примечания. Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; *p* – указано по отношению к исходному уровню, *p*₁ – по отношению к ОАИ.

Notes. Arithmetic means and their standard errors are shown; *p* is indicated in relation to the control; *p*₁ is indicated in relation to the acute alcohol intoxication.

коголя увеличивается значительно ($p \leq 0,0001$) по сравнению с ОАИ и остается значительно больше, чем в исходном состоянии.

Амплитуда зубца S_{II} мало изменяется при ОАИ, но увеличивается при отмене алкоголя и становится значительно больше, чем в исходном состоянии ($p \leq 0,001$). Амплитуда T_{II} -волны при ОАИ не изменяется значительно, а при отмене алкоголя увеличивается существенно по сравнению с ОАИ и исходным состоянием ($p < 0,05$).

Длительность конечной желудочковой активности – реполяризации желудочков – при ОАИ и после отмены этанола изменяется неравномерно. Выявлено существенное ($p < 0,005$) укорочение ранней реполяризации желудочков сердца у крыс при ОАИ – интервала $J-T_{\text{pikII}}$ – при практически неизменной длительности заключительного периода реполяризации желудочков – интервала $T_{\text{pik}}-T_{\text{endII}}$. Однако через сутки после отмены алкоголя длительность интервалов ранней и поздней реполяризации желудочков увеличивается значительно по сравнению с ОАИ ($p < 0,005$), и они становятся более длительными по сравнению с исходным состоянием ($p < 0,005$).

При ОАИ у животных значительно уменьшается длительность интервалов QT ($p = 0,0002$) и QT_c ($p < 0,05$) за счет укорочения периода начальной фазы деполяризации желудочков (до пика R_{II} зубца) и ранней реполяризации (интервала $J-T_{\text{pikII}}$) желудочков. После отмены этилового спирта длительность интервала QT существенно увеличивается относительно измеренного при ОАИ ($p = 0,0001$) и становится больше, чем в исходном состоянии ($p < 0,0001$) за счет значительного увеличения длительности ранней и поздней (интервалов $J-T_{\text{pikII}}$ и $T_{\text{pik}}-T_{\text{endII}}$) реполяризации желудочков. Длительность скорректированного интервала QT_c после отмены этилового спирта существенно увеличивается относительно ОАИ ($p = 0,002$) и становится значительно больше, чем в исходном состоянии ($p < 0,0001$).

При ОАИ изменения деполяризации предсердий выражаются в уменьшении длительности и амплитуды P_{II} -волны. При отмене приема этилового спирта происходит увеличение длительности и амплитуды P_{II} -волны, однако они не достигают исходных величин.

Изменения деполяризации желудочков при ОАИ заключаются в уменьшении длительности начальных фаз возбуждения и уменьшении амплитуды R_{II} -зубца. Через сутки после отмены этанола происходит существенное увеличение амплитуды R_{II} -зубца выше исходного уровня без изменения длительности начальной желудочковой активности.

Изменения восстановления возбудимости желудочков при ОАИ заключаются в укорочении длительности только начальной фазы реполяризации (интервала $J-T_{\text{pikII}}$). Более существенные изменения реполяризации желудочков у животных наблюдаются через сутки после отмены этанола – значительное увеличение амплитуд зубцов S_{II} и T_{II} , увеличение длительности периодов ранней и поздней реполяризации по сравнению с исходными значениями.

Выявлено достоверное изменение длительности начальной и конечной желудочковой активности (интервалов QT и QT_c) при ОАИ.

Обсуждение

Нашими исследованиями показана существенная разница в электрической активности сердца непосредственно после введения этилового спирта и через сутки после его отмены. При ОАИ в малые временные промежутки после введения этанола происходят изменения начальной предсердной и желудочковой активности, ранней реполяризации желудочков – укорочение интервала QT происходит за счет сокращения времени начальной предсердной активности, начальных фаз деполяризации желудочков и ранней реполяризации желудочков сердца. Через сутки после отмены этанола длительность периодов начальной предсердной и начальной желудочковой активности восстанавливается до исходных значений. Наиболее существенные изменения затрагивают реполяризацию желудочков сердца – значительное увеличение интервалов QT и QT_c, увеличение длительности ранней и поздней реполяризации желудочков является фактором риска возникновения жизнеугрожающих аритмий.

Сопутствующие ОАИ изменения электрофизиологических характеристик желудочков, такие как укорочение интервала $J-T_{\text{pik}}$, свидетельствуют об укорочении фазы ранней реполяризации и позволяют говорить о нарушении физиологической активности (активации) встроенных в клеточную мембрану кардиомиоцитов трансмембранных Ca^{2+} и трансмембранных потенциал-зависимых медленных кальциевых каналов L типа, что, по всей видимости, лежит в основе достаточно существенного (\approx на 10%) укорочения интервала QT, электрической систолы желудочков. Известно, что укорочение интервалов QT и QT_c свидетельствует о возрастании риска внезапной сердечной смерти [18].

Не менее существенные изменения электрофизиологических характеристик желудочков выявлены и через сутки после ОАИ, которые выражаются в значимом увеличении интервалов $J-T_{\text{pikII}}$ и $T_{\text{pik}}-T_{\text{endII}}$, что позволяет говорить о возрастании продолжительности фаз ранней и поздней реполяризации желудочков, т.е. о замедлении

трансмембранного входящего тока ионов Ca^{2+} и выходящих токов ионов K^+ , протекающих через соответствующие потенциал-зависимые ионные каналы. Такого рода изменения приводят к удлинению электрической систолы желудочков, что на ЭКГ (табл. 2) проявляется удлинением интервалов QT (\approx на 7 мс) и QTc, что прямо свидетельствует о возрастании риска развития злокачественных нарушений сердечного ритма.

Через сутки после ОАИ значимо увеличивается амплитуда зубца S_{II} и волны T_{II} , что не исключает риска развития ишемии миокарда.

Исследователи, изучавшие ОАИ на животных, приходят к неоднозначным выводам. При введении этилового спирта в левую коронарную артерию или внутривенно анестезированным интактным собакам было показано удлинение атриовентрикулярного проведения и времени внутрижелудочковой проводимости примерно на 5–15% [19]. Более поздние исследования частично противостоят предыдущим и показывают, что у собак без заболеваний сердца этанол не изменяет внутрисердечную проводимость [20], что позволило предположить, что ОАИ не оказывает прямого действия на миокард, приводящее к развитию предсердных аритмий [21].

В экспериментах, выполненных на изолированных сердечных волокнах Пуркинье собак, показано, что перфузия этанолом привела к зависимому от концентрации сокращению продолжительности потенциала действия [22]. На основании полученных данных авторы этого исследования приходят к заключению, что этанол в концентрациях, присутствующих в плазме во время его потребления, оказывает прямое обратимое воздействие на сердечные волокна Пуркинье, что делает сердце восприимчивым к реципрокным аритмиям. В экспериментах на кардиомиоцитах морских свинок выявлено, что высокие концентрации этанола ингибируют входящий ток ионов Na^+ (I_{Na}) и входящий ток ионов Ca^{2+} (I_{Ca}) [23]. Авторы этого исследования полагают, что этанол в клинически значимых концентрациях за счет ингибирования I_{Ca} может способствовать отрицательному инотропному эффекту, укорочению потенциала действия и развитию аритмий, в то время как патофизиологическое значение ингибирования I_{Na} этанолом представляется менее важным. Klein G. с соавторами сообщают, что острое ингибирующее действие этанола на трансмембранные быстрые потенциал-зависимые Na^+ каналы, встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов, вероятно, ответственны за инициацию наджелудочковых и желудочковых аритмий [24]. Опосредованная острым воздействием этанола фибрилляция предсердий связана со способностью этанола увеличивать активируемый ацетилхолином входящий калиевый ток задержанного выпрямле-

ния ($I_{\text{K,ACH}}$), протекающий через встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов предсердий K^+ каналы, активируемые ацетилхолином (K_{ChAP}). [25]. Острое аритмогенное действие этанола во многом может быть связано с его способностью активировать в кардиомиоцитах Ca^{2+} /кальмодулин-зависимую протеинкиназу II (CaMKII) и, как следствие, этого вызвать утечку ионов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулула [26].

При анализе изменений ЭКГ у пациентов, поступивших в клинику с диагнозом ОАИ, опубликованы очень противоречивые данные. Вероятно, это связано с тем, что исследования ЭКГ у пациентов с ОАИ проводятся в разные периоды времени после употребления этилового спирта. Одни исследователи не наблюдали изменений в длительности QRS комплекса у людей, употребивших алкоголь [27], другие выявляли удлинение QRS комплекса, которое при укорочении длительности интервала JT приводило к неизменности длительности QT интервала [28]. Согласно другим исследованиям, при высоком уровне этанола в крови у пациентов (при поступлении) длительности зубцов P и QRS, интервалов PR и QTc были больше, чем при выписке из больницы [15, 29]. Удлинение интервала QTc у пациентов с ОАИ или абстиненцией может способствовать аритмиям и трехкратно увеличивать вероятность ВСС [30].

При исследовании на здоровых людях, которым вводили этиловый спирт внутривенно, одни исследователи не выявили различий в длительности P, PR, QRS или интервала QTc между группами острого употребления алкоголя и плацебо, однако показали статистически значимое относительное укорочение интервала JT, отражающее укорочение реполяризации желудочков сердца [31]. Другие исследователи в аналогичном обследовании у человека на фоне максимальной концентрации этанола в крови обнаружили значительное увеличение длительности комплекса QRS и QTc, интервал PQ не изменился [31]. При небольшой дозе принятого алкоголя у 15 добровольцев наблюдалось удлинение интервала PR, у 13 – комплекса QRS, у 9 – интервала QT и у 13 – интервала QT [32].

Большинство случаев внезапной смерти, связанных с алкоголем, происходят на поздней стадии опьянения [33] или в период отмены потребления этилового спирта [34]. У пациентов в период абстиненции часто встречается удлинение интервала QT (в 40–65% случаев), что связано с высоким риском желудочковых аритмий [35].

В результате исследования впервые показана существенная разница в электрической активности сердца непосредственно после введения этилового спирта и через сутки после его отмены. При ОАИ происходят измене-

ния деполяризации предсердий (уменьшение длительности P-волны) и желудочков (уменьшение длительности QRS-комплекса), ранней реполяризации желудочков (интервала JT_{pic}). Существенное укорочение интервала QT происходит за счет уменьшения длительности начальных фаз деполяризации желудочков (восходящей R-волны) и ранней реполяризации желудочков сердца (интервала JT_{pic}). Через сутки после отмены этанола длительности P-волны и QRS-комплекса восстанавливаются до исходных уровней, наиболее существенные изменения происходят в период реполяризации желудочков сердца – значительное увеличение интервала QT и QTc, увеличение длительности ранней и поздней реполяризации желудочков (интервалов JT_{pic} и $T_{pic}-T_{end}$), что является риском возникновения жизнеугрожающих аритмий.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что острая алкогольная интоксикация вызывает существенные изменения электрической активности предсердий и желудочков, увеличивая риск возникновения нарушений сердечного ритма, в том числе злокачественных желудочковых аритмий. Негативные изменения электрической активности сердца потенциально могут провоцировать возникновение внезапной сердечной смерти в период отмены потребления этилового спирта. Выявленные изменения электрической активности сердца, по-видимому, вызваны прямым токсическим действием этанола на сердечную мышцу, поскольку даже повторная острая алкогольная интоксикация не вызвала каких-либо значимых нарушений микроциркуляции крови в миокарде левого желудочка сердца.

Литература

(п. 1–3, 6, 8–12, 14, 15, 19–35 см. References)

- Национальный научный центр наркологии – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России. Справочно-аналитические материалы по алкогольной смертности. Доступно на: <https://nncn.serbsky.ru/2017/02/02/spravochno-analiticheskie-materialy-po-alkogolnoj-smertnosti>
- Токсическое действие алкоголя. Клинические рекомендации РФ 2018–20 (Россия). Доступно на: <https://diseases.medelement.com/disease/токсическое-действие-алкоголя-кр-рф-2018/17201?ysclid=m8pxdjvial762006290>
- Акалаев Р.Н., Стопницкий А.А., Хожиев Х.Ш. Острые отравления алкоголем. Эпидемиология, диагностика, лечение и анализ нерешенных проблем. *Вестник экстренной медицины*. 2017; 1: 104–11.
- Богза М.В., Конев В.П. Современные аспекты судебно-медицинской диагностики внезапной сердечной смерти у лиц, злоупотребляющих алкоголем и наркотиками. *Вятский медицинский вестник*. 2021; 69(1):102–8.
- Линчак Р.М., Недбайкин А.М., Семенцова Е.В., Юсова И.А., Струкова В.В., Кузовлев А.Н. Роль алкоголя в развитии внезапной сердечной смерти по данным регистра ГЕРМИНА (регистр внезапной сердечной смерти трудоспособного населения Брянской области). *Российский кардиологический журнал*. 2017; (6): 108–12. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-108-112>
- Анохина И.П., Колик Л.Г. Методические рекомендации по изучению лекарственных средств для лечения алкоголизма. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. М. 2013; 310–33.
- Бокерия Л.А., Проничева И.В., Сергуладзе С.Ю. Синдром короткого интервала QT и внезапная сердечная смерть: Последние клинические и генетические достижения. *Анналы аритмологии*. 2022; 19(3): 196–206.

References

- World Health Organization. Global Status Report on Alcohol and Health 2018. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2018. Available at: <https://www.who.int/publications/item/9789241565639>
- Global status report on alcohol and health and treatment of substance use disorders. Geneva: World Health Organization; 2024. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240096745>
- Aasebø W. ECG-voltage in alcoholics and non-alcoholics with acute alcohol intoxication. *Forensic Leg Med*. 2009; 16(7): 381–4. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2009.01.016>
- National Scientific Center for Narcology – filial of Federal State Budgetary Institution «V.Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology» of the Ministry of Health of the Russian Federation. Reference and analytical materials on alcohol mortality. Available at: <https://nncn.serbsky.ru/2017/02/02/spravochno-analiticheskie-materialy-po-alkogolnoj-smertnosti> (in Russian)
- Toxic effects of the alcohol. Clinical guidelines of the Russian Federation 2018–20 (Russia) Available at: <https://diseases.medelement.com/disease/токсическое-действие-алкоголя-кр-рф-2018/17201?ysclid=m8pxdjvial762006290> (in Russian)
- Vonghia L., Leggio L., Ferruli A., Bertini M., Gasbarrini G., Addolorato G. Acute alcohol intoxication. *Eur. J. Internal Medicine*. 2008; 19: 561–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2007.06.033>
- Акалаев Р.Н., Стопницкий А.А., Хожиев Х.Ш. The Acute alcohol intoxication. The epidemiology, diagnostics, treatment and analysis of unsolved problems. *Vestnik ekstrenej mediciny* 2017; 1: 104–11. (In Russian)
- Ettinger P.O. Acute intoxication. *Emerg. Clin. North. Am*. 1990; 8: 731–48.
- Doggett T.M., Breslin J.W. Acute alcohol intoxication-induced microvascular leakage. *Alcohol Clin. Exp. Res*. 2014; 38(9): 2414–26. <https://doi.org/10.1111/acer.12525>

10. Souza-Smith F.M., Molina P.E., Breselin J.W. Reduced RhoA activity mediates acute alcohol intoxication-induced inhibition of lymphatic myogenic constriction despite increased cytosolic $[Ca^{2+}]$. *Microcirculation*. 2013; 20(5): 377–84. <https://doi.org/10.1111/micc.12032>
11. Litwiejko-Pietryńczak E., Szkudlarek M., Niemcunowicz-Janica A., Namiot A., Klim B., Łaskowski P., Dzięcioł J. Histological assessment of myocardium in lethal ethanol intoxication. *Kardiologia Pol.* 2015; 73(8): 644–9.
12. van Stigt A.H., Overduin R.J., Staats L.C., Loen V., van der Heyden M.A. A heart too drunk to drive; AV Block following acute alcohol intoxication. *Chin J Physiol*. 2016; 59(1):1–8. <https://doi.org/10.4077/CJP.2016.BAE364>
13. Bogza M.V., Konev V.P. Modern aspects of the sudden cardiac death forensic diagnosis in alcohol and drug abusers. *Vyatskij medicinskij vestnik*, 2021; № 69 (1):102–8. (in Russian)
14. Moulin S.R., Mill J.G., Rosa W.C., Hermisdorf S.R., Caldeira Lda C., Zago-Gomes E.M. QT interval prolongation associated with low magnesium in chronic alcoholics. *Drug Alcohol Depend.* 2015; 155: 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.07.019>
15. Aasebø W., Erikssen J., Jonsbu J., Stavem K. ECG changes in patients with acute ethanol intoxication. *Scand. Cardiovasc. J.* 2007; 41(2):79–84. <https://doi.org/10.1080/14017430601091698>
16. Linchak R.M., Nedbaykin A.M., Sementsova E.V., Yusova I.A., Strukova V.V., Kuzovlev A.N. Impact of alcohol consumption on sudden cardiac death occurrence by the registry germina (registry of sudden cardiac death of economically active inhabitants in bryansk region) *Russ. J. Cardiol.* 2017, 6 (146): 108–12. (In Russian) <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-108-112> (in Russian)
17. Anohina I.P., Kolik L.G. Guidelines for the study of drugs for the treatment of alcoholism. *Inc: Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Part I.M.* 2013; 310–33 (In Russian)
18. Bokeriya L.A., Pronicheva I.V., Serguladze S.YU. Short QT syndrome and sudden cardiac death: Recent clinical and genetic advances. *Annaly aritmologii*. 2022; 19(3): 196–206. (in Russian)
19. Goodkind M.J., Gerber N.H., Mellen J.R., Kostis J.B. Altered intracardiac conduction after acute administration of ethanol in the dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1975; 194(3): 633–8.
20. Fenelon G., Balbão C.E., Fernandes R., Arfelli E., Landim P., Ayres O., de Paola A.A.V. Characterization of the acute cardiac electrophysiological effects of ethanol in dogs. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2007; 31(9):1574–80. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00451.x>
21. Balbão C.E., de Paola A.A., Fenelon G. Effects of alcohol on atrial fibrillation: myths and truths. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* 2009; 3(1): 53–63. <https://doi.org/10.1177/1753944708096380>
22. Williams E.S., Mirro M.J., Bailey J.C. Electrophysiological effects of ethanol, acetaldehyde, and acetate on cardiac tissues from dog and guinea pig. *Circ. Res.* 1980; 47(3): 473–8. <https://doi.org/10.1161/01.res.47.3.473>
23. Habuchi Y., Furukawa T., Tanaka H., Lu L.L., Morikawa J., Yoshimura M. Ethanol inhibition of Ca^{2+} and Na^{+} currents in the guinea-pig heart. *Eur. J. Pharmacol.* 1995; 292(2): 143–9. [https://doi.org/10.1016/0926-6917\(95\)90006-3](https://doi.org/10.1016/0926-6917(95)90006-3)
24. Klein G., Gardiwal A., Schaefer A., Panning B., Breitmeier D. Effect of ethanol on cardiac single sodium channel gating. *Forscisc Sci. Int.* 2007; 171(2–3): 131–5. <https://doi.org/10.1016/j.forsciscint.2006.10.012>
25. Hu H., Zhou J., Sun Q., Yu X-J., Zhang H-L., Ma X. et al. Effects of ethanol on action potential of rat myocardium and human Kv1.5 channel. *Sheng. Li. Xue. Bao.* 2011; 25;63(3):219–24. [Chinese]
26. Mustroph J., Wagemann O., Lebek S., Tarnowski D., Ackermann J., Drzymalski M. et al. Ca^{2+} -leak and disordered excitation-contraction coupling as the basis for arrhythmogenic and negative inotropic effects of acute ethanol exposure. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2018; 116: 81–90.
27. Brunner S., Winter R., Werzer C., Stülpnagel L., Clasen I., Hameder A. et al. Impact of acute ethanol intake on cardiac autonomic regulation. *Sci Rep.* 2021; 24;11(1):13255. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92767-y>
28. Otaki I., Kataoka N., Imamura T., Kinugawa K. Potential impact of alcohol consumption on ventricular repolarization. *J. Electrocardiol.* 2024; 83: 117. <https://doi.org/10.1016/j.jelectrocard.2024.02.004>
29. İzci F., Ünübol B., İzci S. Electrocardiographic changes during and after alcohol withdrawal. *Psychiatry Clin. Psychopharmacol.* 2023; 33(4): 280–6. <https://doi.org/10.5152/pcp.2023.22537>
30. Chu T., Azevedo K., Ernst A.A., Sarangarm D., Weiss S.J. A comparison of QTc intervals in alcohol withdrawal patients versus acute coronary syndrome patients. *South Med. J.* 2017;110(7):475–9. <https://doi.org/10.14423/SMJ.0000000000000674>
31. Ciuffo L., Tung M., Dukes J.W., Vittinghoff E., Moss J.D., Lee R.J. et al. Acute alcohol exposure and electrocardiographic changes: finding from the HOLIDAY trial. *J. Electrocardiol.* 2024; 83:26–9. <https://doi.org/10.1016/j.jelectrocard.2024.01.003>
32. Lorscheid A., de Lange D.W., Hijmering M.L., Cramer M.J., van de Wiel A. PR and QTc interval prolongation on the electrocardiogram after binge drinking in healthy individuals. *Neth. J. Med.* 2005; 63(2):59–63.
33. Holmström L., Kauppila J., Vähätalo J., Pakanen L., Perkiömäki J., Hui-kuri H. et al. Sudden cardiac death after alcohol intake: classification and autopsy findings. *Sci. Rep.* 2022;12(1):16771. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20250-3>
34. Hémerly Y., Broustet H., Guiraudet O., Schiano P., Godreuil C., Plotton C. et al. Alcohol and rhythm disorders. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2000; 49(8):473–9 [in French]
35. Cuculi F., Kobza R., Ehmann T., Erne P. ECG changes amongst patients with alcohol withdrawal seizures and delirium tremens. *Swiss Med. Wkly.* 2006; 136(13–14):223–7. <https://doi.org/10.4414/swm.2006.11319>

Сведения об авторах:

Роцевская Ирина Михайловна, доктор биол. наук, чл.-корр. РАН, гл. науч. сотр., лаб. фармакологии кровообращения ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий; гл. науч. сотр. отдела сравнительной кардиологии ФИЦ, Коми научный центр Уральского отделения РАН;

Смирнова Светлана Леонидовна, канд. биол. наук, и.о. зав. отделом сравнительной кардиологии ФИЦ, Коми научный центр Уральского отделения РАН;

Симоненко Софья Алексеевна, мл. науч. сотр., лаб. фармакологии кровообращения ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий;

Барчуков Владимир Валерьевич, канд. мед. наук, науч. сотр., лаб. фармакологии кровообращения ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий;

Цорин Иосиф Борисович, доктор мед. наук, вед. науч. сотр., лаб. фармакологии кровообращения ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий;

Вититнова Марина Борисовна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. фармакологии кровообращения ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий;

Крыжановский Сергей Александрович, доктор мед. наук, зав. лаб. фармакологии кровообращения ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий.

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092

Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Давыдова Т.В.

Антитела к глутамату восстанавливают баланс ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах головного мозга у стареющих мышей C57BL/6 при нарушениях памяти, индуцированных нейротоксическим фрагментом $A\beta_{25-35}$

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

Введение. Ранее на экспериментальной модели болезни Альцгеймера (БА) и у стареющих животных были показаны антиамнестические свойства поликлональных моноспецифических антител к глутамату. В настоящее время общепризнано, что нейровоспаление играет важную роль в прогрессировании нейропатологических изменений, наблюдаемых при БА, отличительным признаком которого является активация глиальных клеток (астроцитов, микроглии), сопровождающаяся повышенным синтезом и выделением провоспалительных цитокинов. Особый интерес представляют провоспалительный интерлейкин ИЛ-6, который рассматривается как один из основных маркеров клеточного старения и хронического воспаления, и противовоспалительный ИЛ-10, оказывающий главным образом противовоспалительное действие. **Целью** данного исследования являлось изучение влияния антител к глутамату на содержание ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах головного мозга (префронтальная кора и гиппокамп) стареющих мышей с индуцированными нарушениями памяти, вызванными интраназальным введением нейротоксического фрагмента β -амилоидного белка $A\beta_{25-35}$.

Методика. Исследование выполнено на 12-месячных мышах линии C57BL/6. Для воспроизведения когнитивных нарушений, характерных для БА, использовали метод интраназального введения нейротоксического фрагмента β -амилоидного белка ($A\beta_{25-35}$). Животные были разделены на 4 группы: 1-я контрольная группа получала интраназально физиологический раствор в объеме 4 мкл; 2-я опытная группа – и/н 4 мкл раствора $A\beta_{25-35}$ в дозе 60 мкг/кг; 3-я – одновременное интраназальное введение $A\beta_{25-35}$ в той же дозе и антител к глутамату (ГЛУ-АТ) в дозе 250 мкг/кг в объеме 4 мкл; 4-я группа – интраназально ГЛУ-АТ в дозе 250 мкг/кг в объеме 4 мкл. Интраназальное введение растворов проводили ежедневно в течение 14 суток. Через 24 ч после последнего введения препаратов проводили оценку нарушения памяти, основного показателя развития когнитивных дисфункций, вызванных интраназальным введением $A\beta_{25-35}$, в тесте условного рефлекса пассивного избегания по стандартной методике. По окончании эксперимента животных декапитировали и выделяли префронтальную кору и гиппокамп; материал сохраняли при $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах мозга определяли методом ИФА (тест-система Cloud-Clone Corp.) с использованием считывающего устройства ИФА-ридера ImmunoChem-2100 при длине волны 450 нм. Концентрацию интерлейкинов нормировали на 1 мг ткани мозга.

Результаты. Интраназальное введение $A\beta_{25-35}$ мышам в течение 14 суток приводило к существенному нарушению процессов запоминания, увеличению содержания провоспалительного ИЛ-6 в префронтальной коре и значительному снижению уровня ИЛ-10 в префронтальной коре и гиппокампе. Одновременное введение $A\beta_{25-35}$ и ГЛУ-АТ привело к заметному снижению концентрации ИЛ-6 как в префронтальной коре, так и в гиппокампе, и повышению содержания ИЛ-10 в анализируемых структурах мозга до контрольного уровня.

Заключение. Интраназальное курсовое 14 суточное введение антител к глутамату совместно с нейротоксическим фрагментом $A\beta_{25-35}$ оказывало протективный эффект: увеличение мнестической функции мозга до уровня в группе контроля, снижение содержания ИЛ-6 и повышение уровня ИЛ-10 в префронтальной коре и гиппокампе до контрольных значений. Полученные данные свидетельствуют о восстановлении антителами к глутамату баланса про- и противовоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-6 и ИЛ-10.

Ключевые слова: нейротоксический бета-амилоидный белок; антитела к глутамату; интерлейкин 6; интерлейкин 10

Для цитирования: Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Давыдова Т.В. Антитела к глутамату восстанавливают баланс ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах головного мозга у стареющих мышей C57BL/6 при нарушениях памяти, индуцированных нейротоксическим фрагментом $A\beta_{25-35}$. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 28–35

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.28-35

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А.; сбор и обработка материала – Ветрилэ Л.А., Захарова И.А.; статистическая обработка результатов – Ветрилэ Л.А., Давыдова Т.В.; написание статьи – Ветрилэ Л.А.; редактирование – Давыдова Т.В. Утверждение окончательного варианта, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Давыдова Татьяна Викторовна, e-mail: dav-ta@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания: «Молекулярно-клеточные и системные механизмы нарушений функций головного мозга при нейродегенеративных заболеваниях и его старении: развитие технологий диагностики лечения и профилактики» (FGFU-2025-0004).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.09.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Vetrile L.A., Zakharova I.A., Davydova T.V.

Glutamate antibodies restore the balance of IL-6 and IL-10 in brain structures in aging C57BL/6 mice with memory impairment induced by the neurotoxic fragment A β ₂₅₋₃₅

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

Introduction. The anti-amnesic properties of polyclonal monospecific glutamate antibodies have previously been demonstrated in experimental models of Alzheimer's disease and in aging animals. It is now generally recognized that neuroinflammation plays an important role in the progression of neuropathological changes observed in AD, a distinctive feature of which is the activation of glial cells (astrocytes, microglia), accompanied by increased synthesis and release of proinflammatory cytokines. Of particular interest are the proinflammatory interleukin IL-6, which is considered a key marker of cellular aging and chronic inflammation, and the anti-inflammatory IL-10, which primarily exerts anti-inflammatory effects. **The aim** of this study was to investigate the effect of glutamate antibodies on the content in IL-6 and IL-10 in the brain structures (prefrontal cortex and hippocampus) of aging mice with induced memory impairment caused by intranasal administration of a fragment of the β -amyloid protein A β ₂₅₋₃₅.

Methods. The study was performed on 12-month-old C57BL/6 mice. To reproduce the cognitive impairment characteristic of AD, intranasal administration of the neurotoxic β -amyloid protein (A β), fragment 25-35, was used. The animals were divided into 4 groups: the 1st control group received intranasal (i/n) saline in a volume of 4 μ l, the 2nd experimental group – i/n solution of 4 μ l of A β ₂₅₋₃₅ solution at a dose of 60 μ g/kg, the 3rd – simultaneously i/n A β ₂₅₋₃₅ at the same dose and glutamate antibodies (GLU-AT) at a dose of 250 μ g/kg in a volume of 4 μ l and the 4th group – i/n GLU-AT at a dose of 250 μ g/kg in a volume of 4 μ l. Intranasal administration of solutions was carried out daily for 14 days. Twenty-four hours after the last administration of the solutions, memory impairment, the main indicator of cognitive dysfunction development caused by i/n administration of A β ₂₅₋₃₅, was assessed in the passive avoidance reflex conditioned reflex test using a standard method. At the end of the experiment, the animals were decapitated, and the prefrontal cortex and hippocampus were isolated; the material was stored at -85°C. The IL-6 and IL-10 content in the brain structures was determined by ELISA (Cloud-Clone Corp. test system) using an ImmunoChem-2100 ELISA reader at a wavelength of 450 nm. Interleukin concentrations were normalized per 1 mg of brain tissue.

Results. Intranasal administration of A β ₂₅₋₃₅ to mice for 14 days resulted in significant impairment of memory processes, an increase in proinflammatory IL-6 levels in the prefrontal cortex, and a significant decrease in IL-10 levels in the prefrontal cortex and hippocampus. Co-administration of A β ₂₅₋₃₅ and GLU-AT resulted in a significant decrease in IL-6 levels in both the prefrontal cortex and hippocampus and an increase in IL-10 levels in these brain structures.

Conclusion. Conclusion. Intranasal 14-day administration of glutamate antibodies together with the neurotoxic fragment A β ₂₅₋₃₅ had a protective effect: an increase in mnemonic function of the brain to the level in the control group, a decrease in IL-6 content, and an increase in IL-10 levels in the prefrontal cortex and hippocampus to control values. The obtained data indicate that antibodies to glutamate restore the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines, in particular IL-6 and IL-10.

Keywords: neurotoxic beta amyloid protein; antibodies to glutamate; interleukin 6; interleukin 10

For citation: Vetrile L.A., Zakharova I.A., Davydova T.V. Glutamate antibodies restore the balance of IL-6 and IL-10 in brain structures of aging C57BL/6 mice with memory impairment induced by the neurotoxic fragment A β ₂₅₋₃₅. *Patologicheskaya Fiziologiya I Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 28–35. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.28-35

Author's contributions: concept and design of the study – Davydova T.V., Vetrile L.A.; material collection and processing – Vetrile L.A., Zakharova I.A.; statistical data processing – Vetrile L.A., Davydova T.V.; writing of the text – Vetrile L.A.; editing of the text – Davydova T.V., Vetrile L.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Davydova Tatyana Viktorovna*, e-mail: dav-ta@yandex.ru

Information about the authors:

Vetrile L.A., <https://orcid.org/0000-0001-9783-4711>

Zakharova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-4214>

Davydova T.V., <https://orcid.org/0000-0002-3176-1035>

Financing. This study was carried out at the expense of the State Assignment "Molecular cellular and systemic mechanisms of brain dysfunction in neurodegenerative diseases and aging: Development of diagnostic treatment and prevention technologies." (FGFU-2025-0004).

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

Received 25.09.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Наличие когнитивных расстройств в пожилом и старческом возрасте становится одной из глобальных проблем в развитых странах мира в связи с увеличением продолжительности жизни. Болезнь Альцгеймера (БА) – распространенное нейродегенеративное заболевание головного мозга, которое проявляется снижением когнитивных способностей и памяти, приводящих к инвалидности. В настоящее время общепризнано, что нейровоспаление играет важную роль в прогрессировании нейропатологических изменений, наблюдаемых при БА [1, 2, 3]. Отличительным признаком нейровоспаления является активация глиальных клеток (астроцитов, микроглии), что сопровождается повышенным синтезом и выделением провоспалительных цитокинов и других токсических веществ (активные формы кислорода, оксид азота) [1, 2, 3, 4].

Цитокины – эндогенные иммуномодуляторы, секретируемые в основном иммунными клетками. В то же время многие цитокины, такие как интерлейкин (ИЛ)-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 синтезируются и в ЦНС, главным образом астроцитами и микроглией, и участвуют в выживании клеток, пролиферации, дифференцировке и росте аксонов, в синаптогенезе и являются посредниками нейроиммунных взаимодействий [4, 5, 6, 7]. Провоспалительные цитокины ИЛ-1 β , ИЛ-6, фактор некроза опухоли (ФНО- α) являются важнейшими медиаторами нейровоспаления и нейродегенерации, а также играют важную роль в патогенезе БА [2, 3].

Особый интерес представляют провоспалительный ИЛ-6, который рассматривается как один из основных маркеров клеточного старения и хронического воспаления [2, 3], и противовоспалительный – ИЛ-10, оказыва-

ющий главным образом противовоспалительное и антицитокиновое действие [8, 9].

ИЛ-6, многофункциональный цитокин, играет важную регуляторную роль в ЦНС, вырабатывается активированными астроцитами, микроглией, а также нейронами и, в зависимости от концентрации, оказывает про- или противовоспалительное действие [1, 10, 11]. При нормальных физиологических условиях отмечаются низкие уровни ИЛ-6 в структурах мозга и в крови, но по мере старения его концентрация возрастает [11]. Существенное увеличение экспрессии и секреции ИЛ-6 наблюдается при разных неврологических расстройствах (БА, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз, ишемия мозга) [11, 12, 13]. Повышенные уровни ИЛ-6 зарегистрированы в структурах мозга и крови мышей с моделью БА, а также в мозге и в плазме крови пациентов с БА, которые положительно коррелировали с нарушениями когнитивных функций [10, 12]. Установлено, что бета-амилоид (А β) стимулирует синтез и высвобождение ИЛ-6 глиальными клетками [1]. В то же время *in vitro* показано, что ИЛ-6 стимулирует синтез белка – предшественника бета-амилоидного белка [10]. Гиперфункция ИЛ-6 влияет на концентрацию мозгового нейротрофического фактора, активно участвующего в нейрогенезе. Снижение уровня мозгового нейротрофического фактора под влиянием ИЛ-6 приводит к уменьшению экспрессии глиальных транспортных систем глутамата с последующим избыточным его накоплением в синапсах и увеличением эксайтотоксичности [13, 14]. В опытах на мышах было показано, что увеличение экспрессии ИЛ-6 вызывает нарушение памяти [3].

ИЛ-10, противовоспалительный цитокин с множественными иммунорегуляторными эффектами, считается важным противовоспалительным модулятором глиальной

активации, способен ингибировать выработку провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и интерферон- γ , микроглией [1, 8]. В опытах на трансгенных мышцах с БА было показано, что ИЛ-10 усиливает нейрогенез и улучшает когнитивные функции, снижает глутаматергическую передачу и повышает ГАМКергическую активность [15, 16]. Эффекты ИЛ-10 связывают со снижением глутаматергической передачи, в частности, с модуляцией потенциалзависимых ионных каналов и ионотропных AMPA и NMDA рецепторов и, соответственно, с повышением ГАМКергической активности [7, 15, 16].

Ранее проведенными исследованиями на разных экспериментальных моделях (крысы, мыши) были продемонстрированы протективные эффекты антител к глутамату при их внутрибрюшинном и интраназальном введении. В частности, в опытах на стареющих мышцах C57Bl/6 было показано антиамнестическое и анксиолитическое действие моноспецифических антител к глутамату при их интраназальном введении [17, 18].

Целью исследования являлось изучение влияния антител к глутамату на содержание ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах головного мозга (префронтальная кора и гиппокамп) стареющих мышей с индуцированными нарушениями памяти, вызванными интраназальным введением нейротоксического фрагмента β -амилоидного белка ($A\beta_{25-35}$).

Методика

Исследование выполнено на мышцах линии C57Bl/6 ($n = 43$, масса $30,2 \pm 1,5$, возраст 12 мес.). Животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом при свободном доступе к воде и пище.

Исследование выполнено с соблюдением Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС о защите животных, используемых в научных целях и одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии (протокол № 1 от 21.01.2025 г. и протокол № 2 от 15.04.2025 г.). Опыты проводили с соблюдением ГОСТ 33215-2014 (Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур) и ГОСТ 33216-2014 (Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами).

Для воспроизведения когнитивных нарушений, характерных для БА, использовали метод интраназального (и/н) введения нейротоксического фрагмента β -амилоидного белка ($A\beta_{25-35}$) [19].

Поликлональные моноспецифические антитела к глутамату (ГЛУ-АТ) получали путем гипериммунизации кро-

ликов породы шиншилла конъюгатом глутамат-бичий сывороточный альбумин (БСА) по описанному ранее протоколу [18]. Выделенные из сывороток крови антитела в виде гамма-глобулиновой фракции очищали от примесей антител к БСА методом аффинной хроматографии с использованием в качестве сорбента BgCN-активированной сефарозы 4В (Sigma) и иммобилизованного на ней БСА по стандартной методике. Полученные антитела лиофилизировали и хранили при 40 °С.

Мыши были разделены на 4 группы: 1-я группа (контроль $n = 11$) получала интраназально физиологический раствор в объеме 4 мкл; 2-я ($n = 10$) – интраназально раствор $A\beta_{25-35}$ в дозе 60 мкг/кг в объеме 4 мкл; 3-я ($n = 13$) – одновременно интраназально в разные ноздри $A\beta_{25-35}$ в дозе 60 мкг/кг в объеме 4 мкл и антитела к глутамату в дозе 250 мкг/кг в объеме 4 мкл, 4-я группа ($n = 9$) – антитела к глутамату в дозе 250 мкг/кг в объеме 4 мкл. Интраназальное введение растворов проводили ежедневно в течение 14 суток.

Оценку нарушения памяти, основного показателя развития когнитивных дисфункций, вызванных интраназальным введением $A\beta_{25-35}$, проводили в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) по стандартной ранее описанной методике [17]. УРПИ вырабатывали через 24 часа после последнего введения препаратов: регистрировали время перехода мышей в темный отсек при выработке УРПИ (ЛП-1, с) с проверкой сохранения на 2-е сутки (ЛП-2, с). Период наблюдения за каждым животным составлял 300 с. Степень запоминания определяли по разности ЛП перехода в темный отсек при выработке УРПИ и через 24 ч (Δ ЛП = ЛП1-ЛП2).

Через 24 часа после тестирования поведенческих реакций мышей декапитировали и при 4 °С извлекали структуры мозга (префронтальная кора и гиппокамп), которые хранили в дальнейшем при -85 °С.

Структуры головного мозга мышей на холоду при 40С, гомогенизировали в охлажденном буфере рН 8,0 (150 мМ NaCl, 1% тритон X-100 0, 0,5% дезоксихолат натрия, 50 мМ Tris, 5мМ DTT, 2мМ ЭДТА) на гомогенизаторе Heidolph Diax 100 при 5000 об/мин в течение 15 с. Гомогенат центрифугировали при 10000g в течение 15 мин на центрифуге Sorval5B (Du Pont).

Содержание ИЛ-6 и ИЛ-10 в супернатанте определяли методом ИФА (тест-система Cloud-Clone Corp.) с использованием считывающего устройства ИФА-ридера ImmunoChem-2100 при длине волны 450 нм. Концентрацию интерлейкинов нормировали на 1 мг ткани мозга.

Статистическую обработку результатов проводили с применением компьютерной программы Statistica 7 (StatSoft, Inc) с использованием однофакторно-

го непараметрического дисперсионного анализа (Н-критерий Kruskal – Wallis ANOVA) с последующим post-hoc анализом (по U-критерию Mann – Whitney). Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0,05. Данные представлены в виде медианы, квартилей (Q1, Q3) минимального и максимального значений.

Результаты

Интраназальное введение фрагмента Аβ₂₅₋₃₅ мышам в течение 14 сут. приводило к существенному нарушению процессов запоминания. Дисперсионный анализ показал значимые межгрупповые различия между контрольной и опытными группами мышей: ЛП1 Н (3, N = 43) = 6,692093 *p* = 0,0824, ЛП2 Н (3, N = 43) = 10,93265, *p* = 0,0121, ΔЛП Н (3, N = 43) = 19,07974, *p* = 0,0003. ΔЛП в группе мышей, получавших и/н Аβ₂₅₋₃₅ снизился на 50,7% по сравнению с группой контроля (табл.). При совместном введении Аβ₂₅₋₃₅ с ГЛУ-АТ наблюдали восстановление степени запоминания выше контрольного уровня

на 37,8%. При курсовом 14-суточном введении мышам только ГЛУ-АТ также отметили увеличение степени запоминания на 67,8% по сравнению с контролем, что подтверждает полученные нами ранее данные [17].

В нейрохимических исследованиях уровень провоспалительного ИЛ-6 в структурах мозга опытных и контрольных мышей выявлялся в следующих диапазонах: в префронтальной коре 25,74–48,07 пг/мг ткани, в гиппокампе 21,35–37,99 пг/мг ткани. По результатам дисперсионного анализа выявлены существенные различия в содержании ИЛ-6 в структурах мозга контрольной и опытных групп мышей: в префронтальной коре – Н (3, N = 43) = 22,77251, *p* = 0,0000; в гиппокампе Н (3, N = 43) = 27,49749, *p* = 0,0000. Результаты определения концентрации ИЛ-6 в префронтальной коре и гиппокампе мышей представлены на рис.1 (А, Б), приведена медиана в % по отношению к среднему значению в группе контроля. Как видно из данных рисунка, в группе мышей, получавших и/н в течение 14 суток нейротоксический фрагмент Аβ₂₅₋₃₅, наблюдалось увеличение содержания провоспалительного ИЛ-6 в префронтальной коре

Таблица / Table

Изменение показателей УРПИ при интраназальном введении нейротоксического фрагмента Аβ₂₅₋₃₅ и ГЛУ-АТ мышам C57BL/6. (Ме Q1; Q3)

Changes in CPAR indices following intranasal administration of the neurotoxic fragment Аβ₂₅₋₃₅ and Glu-AT to C57BL/6 mice. (Me Q1; Q3)

Группа мышей / Mice group	Латентный период 1, с / Latent period 1, s	Латентный период 2, с / Latent period 2, s	Δ Латентного периода, с / Δ Latent period, s
Контроль /Control <i>n</i> = 11	61,72 (30,00-110,00)	270,00 (69,00 300,00)	140,00 (30,00-240,00)
Аβ ₂₅₋₃₅ <i>n</i> = 10	118 (67,00-140,00)	163,00 (130,00-260,00)	* 69,00 (15-107)
Аβ ₂₅₋₃₅ + ГЛУ-АТ / Аβ ₂₅₋₃₅ + GLU-Ab <i>n</i> = 13	75,00 (36,00-91,00)	++ 295,00 (240,00-300,00)	++ 193,00 (148,00-264,00)
ГЛУ АТ / GLU-Ab <i>n</i> = 9	31,50 (22,00-68,00)	++ 290,00 (270,00-300,00)	*+++ 235,00 (230,00-267,00)

Примечание: * *p* < 0,05 сравнение с группой контроля; ++ *p* < 0,001 сравнение с группой Аβ₂₅₋₃₅.

Note: * *p* < 0,05 compared to the control group; ++ *p* < 0,001 compared to the group Аβ₂₅₋₃₅.

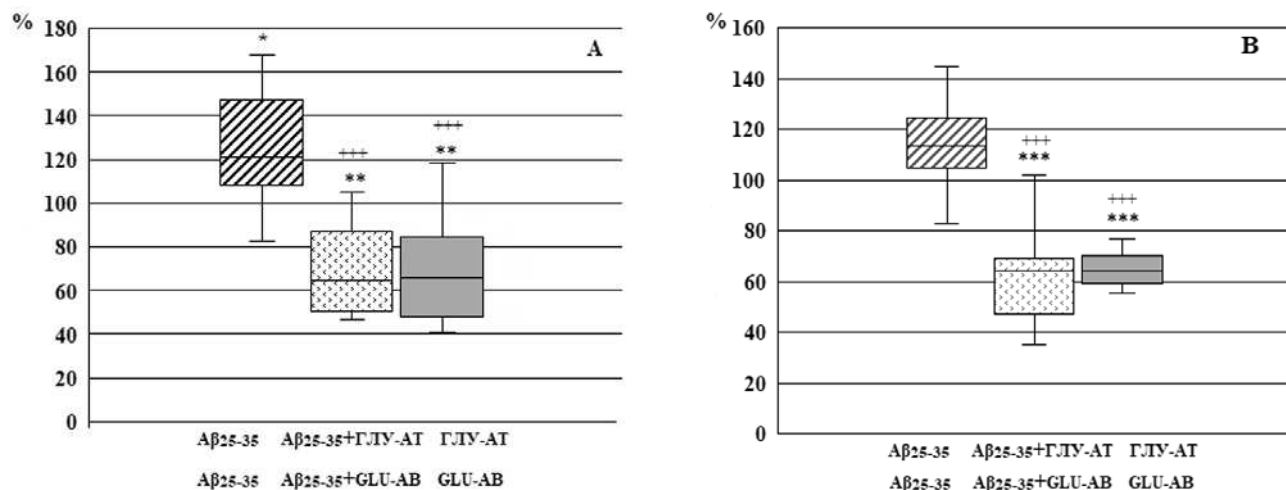


Рис. 1. Влияние антител к глутамату на содержание ИЛ-6 в префронтальной коре (А) и гиппокампе (В) мозга мышей C57BL/6 при индуцированном нарушении памяти нейротоксическим фрагментом Aβ₂₅₋₃₅.

По вертикали: содержание ИЛ-6 в % к контролю; здесь и на **рис. 2:** косая штриховка – интраназальное введение фрагмента Aβ₂₅₋₃₅; точечная штриховка – совместное интраназальное введение фрагмент Aβ₂₅₋₃₅ и антител к глутамату; темный столбик – интраназальное введение антител к глутамату.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

+++ $p < 0,001$ при сравнении с интраназальным введением нейротоксического фрагмента Aβ₂₅₋₃₅.

Fig. 1. Effect of glutamate antibodies on IL-6 levels in the prefrontal cortex (A) and hippocampus (B) of C57BL/6 mice with memory impairment induced by the neurotoxic fragment Aβ₂₅₋₃₅.

Vertical axis: IL-6 levels as a percentage of control; **Here and in Fig. 2:** oblique shading – intranasal administration of the Aβ₂₅₋₃₅ fragment; dotted shading – combined intranasal administration of the Aβ₂₅₋₃₅ fragment and antibodies to glutamate; dark column – intranasal administration of antibodies to glutamate.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ when compared with control;

+++ $p < 0.001$ when compared with intranasal administration of the neurotoxic fragment Aβ₂₅₋₃₅.

на 24,81% ($p < 0,05$) при сравнении с контролем, уровень ИЛ-6 в гиппокампе не отличался от контроля. Одновременное введение Aβ₂₅₋₃₅ и ГЛУ-АТ привело к заметному снижению концентрации ИЛ-6 как в префронтальной коре (на 35,20%, $p < 0,01$), так и в гиппокампе (на 35,85% $p < 0,001$) при сравнении с группой контроля. Снижение содержания ИЛ-6 в префронтальной коре (на 32,15%, $p < 0,01$) и в гиппокампе (на 36,1%, $p < 0,001$) наблюдали и в группе стареющих мышей, получавших интраназально только ГЛУ-АТ.

Содержание ИЛ-10 в префронтальной коре и гиппокампе контрольной и опытных групп мышей колебалось в пределах 0,044–0,094 и 0,025–0,041 пг/мг ткани соответственно. Данные дисперсионного анализа содержания ИЛ-10 в структурах мозга мышей показали значимые межгрупповые различия: в префронтальной коре $H(3, N = 43) = 11,59230, p = 0,0089$; в гиппокампе: $H(3, N = 43) = 20,28481, p = 0,0001$. Полученные данные (медиана в % по отношению к контролю) представлены на **рис. 2 (А, Б)**. Установлено, что и/н введение Aβ₂₅₋₃₅ мышам в течение 14 дней привело к значимому снижению

уровня ИЛ-10 в коре на 22,81% ($p < 0,001$) и на 34,21% ($p < 0,0001$) в гиппокампе. Антитела к глутамату, введенные и/н одновременно с Aβ₂₅₋₃₅, оказали протективный эффект, содержание ИЛ-10 в анализируемых структурах мозга мышей увеличился до уровня в группе контроля. У животных, получавших и/н только ГЛУ-АТ, также наблюдали увеличение содержания ИЛ-10 в гиппокампе ($p < 0,05$).

Заключение

Интраназальное введение стареющим мышам нейротоксического фрагмента Aβ₂₅₋₃₅ в течение 14 дней приводило к заметным нарушениям памяти, характерным для БА. Степень запоминания в тесте условного рефлекса пассивного избегания у опытных мышей снизилась на 50,7% по сравнению с группой контроля. Полученные результаты продемонстрировали также значимое увеличение содержания провоспалительного ИЛ-6 в префронтальной коре и снижение ИЛ-10 в префронтальной коре и гиппокампе при интраназальном введении нейротоксического фрагмента Aβ₂₅₋₃₅.

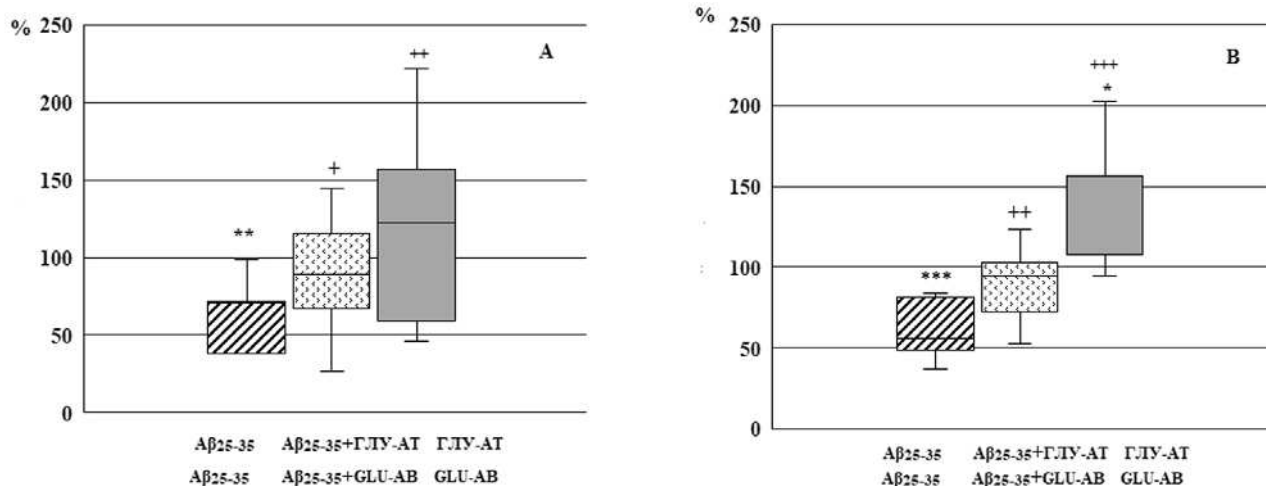


Рис. 2. Влияние антител к глутамату на содержание ИЛ-10 в префронтальной коре (А) и гиппокампе (В) мозга мышей C57BL/6 при индуцированном нарушении памяти нейротоксическим фрагментом Aβ₂₅₋₃₅.

По вертикали: содержание ИЛ-10 в % к контролю;

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

+++ $p < 0,001$ при сравнении с интраназальным введением нейротоксического фрагмента Aβ₂₅₋₃₅.

Fig. 2. Effect of glutamate antibodies on IL-10 levels in the prefrontal cortex (A) and hippocampus (B) of C57BL/6 mice with memory impairment induced by the neurotoxic fragment Aβ₂₅₋₃₅.

Vertical axis: IL-10 levels as a percentage of control;

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ when compared with control;

+++ $p < 0.001$ when compared with intranasal administration of the neurotoxic fragment Aβ₂₅₋₃₅.

Курсовое 14-суточное введение антител к глутамату совместно с нейротоксическим фрагментом Aβ₂₅₋₃₅ оказывало протективный эффект на когнитивные функции животных, увеличивая степень запоминания в тесте УРПИ выше контрольного значения. При этом улучшение памяти наблюдали и у стареющих мышей, получавших интраназально только антитела к глутамату, что подтверждает полученные нами ранее данные [17].

Совместное введение антител к глутамату с фрагментом Aβ₂₅₋₃₅ оказывало положительное влияние на уровень ИЛ-6 и ИЛ-10 в структурах мозга мышей. Содержание ИЛ-6 в префронтальной коре и гиппокампе опытных

групп мышей снизилось в среднем на 35%. Результаты данного исследования подтвердили полученные ранее данные о снижении уровня ИЛ-6 в префронтальной коре и гиппокампе у стареющих мышей при интраназальном введении антител к глутамату [17]. Наблюдаемое снижение провоспалительного ИЛ-6, возможно, связано с подавлением ГЛУ-АТ активности глутаматергической системы. Показано, что ИЛ-6 уменьшает экспрессию транспортных систем глутамата глиальными клетками, увеличивая его концентрацию в синапсах [13]. Содержание ИЛ-10 в префронтальной коре и гиппокампе

Литература

(п.п. 1-4; 6; 8-11;14-16; 19 см References)

- Малашенкова И.К., Крынский С.К., Хайлов Н.А., Казанова Г.В., Величковский Б.Б., Дидковский Н.А. Роль цитокинов в консолидации памяти. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(5): 419–36. ISSN 0042-1324
- Левин С.Г., Годухин О.В. Модулирующее действие цитокинов на механизмы синаптической пластичности в мозге. *Ж. Биохимия*. 2017; 82(3): 397–409. Российская академия наук. <https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/2017/82-03-0397>
- Тополянская С.В. Роль интерлейкина 6 при старении и возрастассоциированных заболеваниях. *Клиницист*. 2020; 14 (3-4): 10–17. <https://doi.org/10.17650/1818-8338-2020-14-3-4-K633>
- Лисицина Т.А., Вельтищев Д.Ю., Лиля А.М., Насонов Е.Л. Интерлейкин 6 как патогенетический фактор, опосредующий формирование клинических проявлений, и мишень для терапии ревматических заболеваний и депрессивных расстройств. *Научно-*

- практическая ревматология*. 2019; 57(3): 318–27. <https://rsp.mediar-press.net/rsp/article/view/2733>
17. Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А., Захарова И.А. Влияние F(ab)2-фрагментов антител к глутамату на изменения памяти у возрастных мышечной линии C57BL/6. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023; 175 (6): 715–8. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2023-175-6-715-718>
18. Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Лобанов А.В., Давыдова Т.В. Влияние антител к глутамату и F(ab)2-фрагментов антител к глутамату на уровень тревожности стареющих мышечной линии C57BL/6. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(3): 21–8. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.21-28>

References

- Kinney Jefferson W, Bemiller Shane M, Murtishaw Andrew S, Leisgang Amanda M, Salazar Arnold M, Lamb Bruce T. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (NY)*. 2018; 6(4): 575–90. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.06.014>
- Boraschi Diana, Italiani Paola, Migliorini Paola, Bossù Paola. Cause or consequence? The role of IL-1 family cytokines and receptors in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *Front Immunol*. 2023; 8 (14): 1128190. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1128190>
- Zilin Chen, Yekkuni L, Balachandran Wai Po Chong, Kannie W.Y. Chan. Roles of Cytokines in Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2024; 25(11): 5803. <https://doi.org/10.3390/ijms25115803>
- Mendiola Andrew S., Cardona Astrid E. The IL-1 β phenomena in neuroinflammatory diseases. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017; 125(5): 781–95. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1732-9>
- Malashenkova I.K., Krynskiy S.K., Hajlov N.A., Kazanova G.V., Velichkovskiy B.B., Didkovskiy N.A. Rol' citokinov v konsolidacii pamjati. *Uspehi sovremennoj biologii*. 2015; 135(5): 419–36. ISSN 0042-1324. (in Russian)
- Morimoto Keiko, Nakajima Kazunori. Role of the Immune System in the Development of the Central Nervous System. *Front. Neurosci Sec. Neurogenesis*. 2019; 13: 916. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00916>
- Levin S.G., Goduhin O.V. Modulirujushhee dejstvie citokinov na mehanizmy sinapticheskoj plastichnosti v mozge. *Zh. Biohimiya*. 2017; 82(3): 397–409. ISSN: 0320-9725. (in Russian)
- Lobo-Silva Diogo, Carriche G.M, Castro A Gil, Roque Susana, Saraiva Margarida. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J. Neuroinflammation*. 2016; 24: 13: 297. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0763-8>
- Porro Chiara, Cianciulli Antonia, Panaro Maria Antonietta. The Regulatory Role of IL-10 in Neurodegenerative Diseases. *Biomolecules*. 2020; 9; 10(7): 1017. <https://doi.org/10.3390/biom10071017>
- Kummer Kai, Zeidler Maximilian, Kalpachidou Theodora, Kres Michaela. Role of IL-6 in the regulation of neuronal development, survival and function. *Cytokine*. 2021; 144: 155582. <https://doi.org/10.1016/j.cyt.2021.155582>
- Rothaug Michelle, Becker-Pauly Christoph, Rose-John Stefan. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2016; 1863 (6, Part A): 1218–27. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.03.018>
- Topoljanskaja S.V. Rol' interlejkina 6 pri starenii i vozrastassociirovannyh zabolevanijah. *Klinicist*. 2020;14 (3-4):10–7. <https://doi.org/10.17650/1818-8338-2020-14-3-4-K633> (in Russian)
- Lisicina T.A., Vel'tishhev D.Ju., Lila A.M., Nasonov E.L. Interlejkina 6 kak patogeneticheskij faktor, oposredujushhij formirovanie klinicheskikh projavlenij, i mishen' dlja terapii revmaticeskikh zabolevanij i depressivnyh rasstrojstv. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija*. 2019; 57(3): 318–27. <https://rsp.mediar-press.net/rsp/article/view/2733> (in Russian)
- Gimeno David, Kivimäki Mika, Brunner Eric J., Elovainio Marko, De Vogli Roberto et al. Associations of C-reactive protein and interleukin-6 with cognitive symptoms of depression: 12-year follow-up of the Whitehall II study. *Psychological Medicine* 2009; 39(3): 413–23. <https://doi.org/10.1017/S0033291708003723>
- Nenov Miroslav N., Konakov Maxim V., Teplov Ilia Y., Levin Sergey G. Interleukin-10 Facilitates Glutamatergic Synaptic Transmission and Homeostatic Plasticity in Cultured Hippocampal Neurons. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20(13): 3375 <https://doi.org/10.3390/ijms20133375>
- Gilio Luana, Fresegha Diego, Bassi Mario Stampanoni, Musella Alessandra, De Vito Francesca, Balletta Sara et al. Interleukin-10 contrasts inflammatory synaptopathy and central neurodegenerative damage in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci*. 2024; 7(17): 1430080 <https://doi.org/10.3389/fnmol.2024.1430080>
- Davydova T.V., Vetrile L.A., Zaharova I.A. Vlijanie F(ab)2 -fragmentov antitel k glutamatu na izmenenija pamjati u vozrastnyh myshej linii C57BL/6. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2023; 2023; 175 (6): 715–8. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2023-175-6-715-718> (in Russian)
- Vetrile L.A., Zaharova I.A., Lobanov A.V., Davydova T.V. Vlijanie antitel k glutamatu i F(ab)2-fragmentov antitel k glutamatu na uroven' trevozhnosti starejushhij myshej C57BL/6. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2023; 67(3):21–8. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.21-28> (in Russian)
- Endres Kristina, Reinhard Sven, Geladari Anastasia, Knies Julia, Grimm Marcus, Hartmann. Transnasal delivery of human A-beta peptides elicits impaired learning and memory performance in wild type mice. *BMC Neurosci*. 2016; 4(17): 44. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0280-9>

Сведения об авторах:

Ветрилэ Лучия Александровна, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ «НИИОПП»;

Захарова Ирина Александровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ «НИИОПП»;

Давыдова Татьяна Викторовна, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ «НИИОПП».

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092:611.018.74

Мишина А.В.^{1,5}, Пасько А.Ю.¹, Астахова А.И.¹, Микрюкова А.А.¹, Зиганшина М.М.^{1,2}, Лискова Ю.В.³, Антошел Д.И.³, Коваленко Л.В.⁴, Московцев А.А.^{1,5,6}

Сборка стрессорных гранул персонифицированными эндотелиальными клетками HUVEC

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

²ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова», Россия, 117978, Москва, Академика Опарина ул., д. 4;

³ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117513, Россия, Москва, Островитянова ул., 1, стр. 6;

⁴БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», 628403, Россия, Сургут, Ленина пр., д. 1;

⁵ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 125993, Москва, Россия, Баррикадная ул., д. 2/1, стр. 1;

⁶ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Россия, Москва, Каширское ш., д. 24, корп. 2

Актуальность. Стрессорные гранулы (СГ) – внутриклеточные безмембранные органеллы, формируемые клеткой в ответ на неблагоприятные, нефизиологические воздействия. Они представляют собой временные рибонуклеопротеиновые частицы, включающие в свой состав нетранслируемые мРНК и тем самым способствующие сохранению этих мРНК на время клеточного стрессового ответа. Кроме функции депонирования, СГ могут быть важными интеграторами информации в клетке в стрессовых условиях и влиять на «клеточную судьбу». Большинство современных исследований СГ проводится с использованием иммортализованных клеточных линий и специфических индукторов, действию которых клетки в *in vivo* условиях при развитии патологического процесса обычно не подвергаются.

Цель работы. Работа направлена на оценку способности персонифицированных эндотелиальных клеток HUVEC собирать стрессорные гранулы при действии некоторых индукторов клеточного стресса, близких к действующим *in vivo* патологическим факторам.

Методика. Эндотелиальные клетки HUVEC выделяли из пупочных вен здоровых рожениц. В работе впервые были использованы персонифицированные культуры эндотелия, пулирование клеток от разных доноров не проводилось. К HUVEC применяли типичные условия сборки СГ, установленные другими исследовательскими группами для клеточных линий: окислительный и восстановительный стрессы. Также исследовались стрессоры, значимые для ассоциированных с дисфункцией эндотелия патологий: солевая нагрузка, вращательно-осциллирующий поток жидкости, а также холодовой шок. Для детектирования СГ использовалось иммунофлуоресцентное детектирование маркера СГ белка G3BP1, конфокальная микроскопия и микроскопия сверхвысокого разрешения STED.

Результаты. Показана сборка G3BP1-содержащих СГ клетками HUVEC в ответ на острый окислительный (0,5 mM NaAsO₂, 30 минут) и острый восстановительный стресс (3 mM DTT, 1,5 часа), что подтверждает возможность детектирования СГ в персонифицированных культурах HUVEC. Впервые была продемонстрирована способность эндотелия собирать СГ в ответ на повышенную концентрацию хлорида натрия и 200 mM маннит. Не было обнаружено стрессорных гранул при десятичасовом холодовом шоке в клетках ЭК, хотя ранее СГ были детектированы в других клеточных типах другими авторами в сходных условиях. Не было обнаружено также G3BP1-содержащих СГ при воздействии осциллирующего потока жидкости на HUVEC. Полученные результаты могут указывать на тканевую специфику клеточных стрессовых ответов в эндотелиальных клетках.

Ключевые слова: стрессорные гранулы (СГ); эндотелий; гипотермия; осмотический шок; механочувствительность

Для цитирования: Мишина А.В., Пасько А.Ю., Астахова А.И., Микрюкова А.А., Зиганшина М.М., Лискова Ю.В., Антошел Д.И., Коваленко Л.В., Московцев А.А. Сборка стрессорных гранул персонифицированными эндотелиальными клетками HUVEC. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 36–46.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.36-46

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Мишина А.В., Пасько А.Ю., Московцев А.А.; сбор и обработка материала – Мишина А.В., Пасько А.Ю., Микрюкова А.А., Астахова А.И.; подготовка иллюстративного материала – Миши-

на А.В., Пасько А.Ю., Астахова А.И.; написание текста – Мишина А.В., Московцев А.А.; редактирование – Московцев А.А., Зиганшина М.М., Лискова Ю.В., Коваленко Л.В., Антошел Д.И.

Утверждение окончательного варианта, ответственность целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Мишина Александра Владимировна, e-mail: aleksandramishin@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания FGFU-2025-0008 (125090910138-5).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.09.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

**Mishina A.V.^{1,5}, Pasko A.Y.¹, Astakhova A.I.¹, Mikryukova A.A.¹, Ziganshina M.M.^{1,2}, Liskova Y.V.³,
Antoshel D.I.³, Kovalenko L.V.⁴, Moskovtsev A.A.^{1,5,6}**

Stress granule assembly by HUVEC endothelial cells

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

²FSBI «National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology», 4 Akademika Oparina St., Moscow, 117978, Russian Federation;

³Pirogov Russian National Research Medical University, 1s6 Ostrovityanova St., Moscow 117513, Russian Federation;

⁴Surgut State University, 1 Lenina pr., Surgut 628403, Russian Federation;

⁵Federal State Budgetary Educational Institution "Russian Medical Academy of Continuing Professional Education" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2/1, s1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russian Federation;

⁶Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 24/2 Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation

Background. Stress granules (SGs) are intracellular membraneless organelles formed by cells in response to adverse non-physiological conditions. They are transient ribonucleoprotein particles that sequester untranslated mRNAs, thereby contributing to the preservation of these mRNAs during the cellular stress response. Beyond their role as storage depots, SGs may serve as crucial information integrators under stress, influencing cell fate decisions. Most current SGs research utilizes immortalized cell lines and specific inducers not typically encountered by cells *in vivo* during pathological processes.

Aim. This study aimed to assess the ability of personalized human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) to assemble stress granules in response to various cellular stress inducers.

Methods. HUVECs were isolated from the umbilical veins of healthy donors. Personalized endothelial cultures without pooling cells from different donors were used in this study. We applied typical SG assembly conditions established for cell lines – oxidative and reductive stresses. Additionally, we investigated stressors relevant to endothelial dysfunction-associated pathologies: high NaCl concentrations, oscillatory fluid flow, and cold shock. SGs were detected using immunofluorescence targeting the canonical SG marker protein G3BP1, combined with confocal and super-resolution STED microscopy.

Results. We demonstrated the assembly of G3BP1-positive SGs in HUVECs in response to acute oxidative stress (0.5 mM NaAsO₂, 30 min) and acute reductive stress (3 mM DTT, 1.5 hours), confirming the feasibility of SG detection in personalized HUVEC cultures. For the first time, we showed the ability of endothelial cells to assemble SGs in response to elevated sodium chloride concentrations and 200 mM mannitol. In contrast, no SGs were detected following a ten-hour cold shock, despite previous reports of SG formation in other cell types under similar conditions. Similarly, no G3BP1-containing SGs were observed in HUVECs subjected to oscillatory fluid flow. These findings suggest potential tissue-specific features of the cellular stress response in endothelial cells.

Keywords: stress granules (SGs); endothelial cells; hypothermia; osmotic shock; mechanosensing

For citation: Mishina A.V., Pasko A.Y., Astakhova A.I., Mikryukova A.A., Ziganshina M.M., Liskova Y.V., Antoshel D.I., Kovalenko L.V., Moskovtsev A.A. Stress granule assembly by HUVEC endothelial cells. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 36–46.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.36-46

Authors' contributions: study concept and design – Mishina A.V., Pasko A.Yu., Moskovtsev A.A.; data collection and processing – Mishina A.V., Pasko A.Yu., Mikryukova A.A., Astakhova A.I.; preparation of illustrative material – Mishina A.V., Pasko A.Yu., Astakhova A.I.; text writing – Mishina A.V., Moskovtsev A.A.; editing – Moskovtsev A.A., Ziganshina M.M., Liskova Yu.V., Kovalenko L.V., Antoshel D.I. Final approval and responsibility:

All authors have read and approved the final version of the manuscript and bear full responsibility for the integrity of all parts of the work.

For correspondence: *Mishina A.V.*, e-mail: aleksandramishin@gmail.com

Information about the authors:

Moskovtsev A.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-824X>

Financing. The reported study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation FGFU-2025-0008 (125090910138-5).

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Received 20.09.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Стрессорные гранулы (СГ) – это безмембранные оргanelлы, представляющие собой рибонуклеопротеиновые комплексы размером 0,1–2 мкм, формирующиеся в цитоплазме клеток путем конденсации жидкой фазы в ответ на различные неблагоприятные воздействия, такие как окислительный стресс, тепловой шок, ультрафиолетовое излучение, осмотический шок и т.д. СГ играют важную роль в регуляции реализации генетической информации при стрессе. При образовании они включают в себя компоненты транслатома (совокупности компонентов, участвующих в трансляции) и становятся временным хранилищем ряда транскриптов, в частности, по мнению ряда авторов, продуктов генов домашнего хозяйства [1]. Такое перераспределение, компартиментализация транскриптов позволяет снизить глобальную трансляцию, а с учетом того, что она является одним из наиболее энергоемких процессов, это способствует энергосбережению клетки в стрессовых условиях [1]. Включение транскриптов в СГ способствует их стабилизации, исключение – возвращению их к активной трансляции или деградации через Р-тельца [1]. Можно предположить, что сборка СГ – внутриклеточный защитный механизм, направленный на выживание клетки, в том числе посредством сохранения ряда белок-кодирующих транскриптов и перенаправления трансляционной машинерии на синтез стрессовых белков в неблагоприятных условиях в режиме жесткой экономии энергии. Стимулом к сборке СГ служит активация интегрального стрессового ответа (ISR), который зависит от одной или нескольких киназ: 1) киназы геморегулируемого фактора инициации 2 α (HRI), которая реагирует на окислительный стресс; 2) протеинкиназы, зависимой от двухцепочечной РНК (PKR), которая реагирует на вирусную инфекцию; 3) PKR-подобной киназы эндоплазматического ретикулума (PERK), которая реагирует на накопление неразвернутых белков; и 4) киназы GCN2, которая реагирует на дефицит аминокислот. Все они конвергируют на фосфорилирование фак-

тора инициации трансляции eIF2 α , что и вызывает блок инициации трансляции. Высвободившаяся из полисомы мРНК вместе с факторами инициации трансляции начинает конденсироваться в цитозоле в новую жидкую фазу, формируя стрессорные гранулы. В СГ детектируются трансляционные факторы eIF4E, eIF4G, eIF3, а также малые рибосомальные субъединицы и полиаденилированная мРНК. Недавние данные указывают на снижение активности провоспалительных сигнальных путей при формировании СГ [2]; кроме того, упаковка РНК в СГ, вероятно, будет также способствовать снижению активности путей врожденного иммунитета, их цитоплазматических РНК-сенсоров [3].

СГ являются динамическими как минимум в двух смыслах: во-первых, это временные образования, которые должны быть разобраны; во-вторых, СГ обмениваются компонентами с цитоплазмой. СГ претерпевают созревание, происходящее по механизму слияния наноразмерных зародышей в зрелую СГ [4] или путем нуклеации с формированием сравнительно стабильного ядра и внешней динамически обменивающейся оболочки, состоящей из РНК и белков [5]. По одной из моделей, оболочка может представлять собой длинные РНК, прикрепленные к ядру и выходящие за пределы белковой поверхности СГ [6]. По другим данным, состав РНК в ядре и оболочке примерно похож, однако это может быть как раз связано с соосаждением ядра и оболочки СГ по причине «прикрепления» РНК к ядру СГ в ходе транскриптомного анализа [7]. мРНК, высвободившаяся после разборки СГ при прекращении неблагоприятного воздействия или адаптации клетки, вновь может транслироваться.

На настоящий момент недостаточно ясны принципы, в соответствии с которыми транскрипты попадают в стрессорные гранулы и показывают предпочтительную локализацию в составе СГ. Khong et al. [7] изучили транскриптомный состав СГ и обнаружили, что более 78% транскриптов в стрессорных гранулах – это матричная РНК, составляющая в сумме 10–12% от общего внутриклеточного пула мРНК. По другим данным, бе-

локкодирующая РНК составляет в СГ 89,5%, длинная некодирующая РНК – 5,3% [1]. В СГ обычно попадают транскрипты с меньшей эффективностью трансляции (т.е. с меньшим количеством связанных рибосом) [7]. Наблюдается очень слабая (по сравнению с Р-тельцами) корреляция включения в СГ и обогащения АУ-элементами, так как последние более активно взаимодействуют с РНК-связывающими белками [1]. По другим данным, обогащенные в СГ мРНК имеют более короткое время жизни, невысокую копияность и меньший GC-состав [7]. Несколько источников обнаруживают перевес по включению в СГ более длинных РНК в связи с их большей способностью к межмолекулярным взаимодействиям [1, 7]. РНК-связывающие белки в СГ, взаимодействующие с депонированными РНК, обогащены по сравнению с общим пулом РНК-связывающих белков лишь умеренно [7], что может указывать на важную роль РНК-РНК-взаимодействий при сборке СГ. Вместе с тем недавняя работа предлагает альтернативное видение процесса сборки СГ: ему предшествует конденсация всего транскриптома, а не небольшого числа транскриптов, в так называемые конденсаты ингибированной трансляции (translation-initiation-inhibited condensates, ТИИС), которые являются продуктом динамического равновесия при конкуренции машинерии инициации трансляции и рекрутирования в ТИИС за свободный 5'-кеп мРНК; при этом ТИИС могут быть предшественниками СГ [8]. По данным этих авторов, обогащения СГ длинными РНК не наблюдается.

Высокоэкспрессируемые гены, обеспечивающие важные функции клетки, такие как гликолитический фермент GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) или актин, насыщения в стрессорных гранулах не показывают. Так, всего 4% от общего числа мРНК GAPDH консервируется в СГ при остром окислительном стрессе, на долю актина в составе СГ при этом приходится всего 0,5% консервируемых транскриптов [7]. Вместе с тем, указанные транскрипты относятся к продуктам так называемых генов домашнего хозяйства, т.е. постоянно транскрибируемых генов, что означает высокую готовность хроматина и транскрипционного аппарата к их синтезу и, возможно, низкую «ценность» этих транскриптов.

Протеом стрессорных гранул представлен более чем 200 различными белками, участвующими в посттранскрипционном созревании и трансляции мРНК, а также определяющими функциональные свойства самих СГ. Кроме того, протеом СГ изменяется в течение их существования в цитозоле клетки [9]. Белки поздней фазы СГ имеют малое содержание внутренне-неупорядоченных областей. Как известно, неупорядоченные белки имеют

количество партнеров в белок-белковых взаимодействиях, существенно превосходящее таковое у белков с определенной трехмерной конформацией. В связи с этим белки поздней фазы СГ меньше взаимодействуют друг с другом, хотя и ориентированы в значительной степени на процессинг законсервированных транскриптов. Белки ранней фазы, также называемые «нуклеирующими белками», обладают противоположными свойствами. Они имеют более высокую изоэлектрическую точку и большее число прионоподобных элементов, индуцирующих жидкофазное разделение и, по мнению ряда авторов, играющих ключевую роль в формировании стрессорных гранул. 65% ранних белков являются РНК-связывающими белками, определяющими РНК-центричность ранней фазы СГ и значимость взаимодействий с РНК при образовании СГ, против 38%-содержания РНК-связывающих белков на поздней стадии СГ [9]. Белки ранней фазы составляют ядро – внутреннюю часть СГ. К их числу относят G3BP1, G3BP2, UBAP2L, TIA1, TTP, FMRP, и CAPRIN1 [5]. Именно их принято рассматривать в качестве маркеров СГ. Нахождение G3BP1 в составе цитоплазматических стрессорных гранул, индуцированных арсенидом натрия, и его колокализация в этих структурах с HuR и TIA-1 были впервые показаны в 2003 году (статья содержала неточности и была скорректирована в 2023 году) [10]. С тех пор детектирование СГ по G3BP1 используется повсеместно, в том числе и нами в настоящей статье. Однако получаемые результаты следует интерпретировать с осторожностью. При применении фьюжн-плазмид и гиперэкспрессии G3BP1, агрегация данного белка в цитозоле может оказаться термодинамически предпочтительной [11], или могут образовываться эктопические гранулы без стресс-воздействия [12].

Несмотря на рост числа сведений и публикаций за последние годы по безмембранным органеллам в целом и по стрессорным гранулам в частности, многие аспекты СГ остаются малоизученными. Так, в качестве модели для изучения фундаментальных свойств СГ зачастую используют клеточную линию остеосаркомы человека – U2OS. Это крупные плоские клетки, имеющие сравнительно большую площадь и высокую эффективность трансфекции, что делает их удобными для проведения исследований. Однако важно учитывать, что это раковая линия, адаптированная к условиям культивирования. Динамика и особенности СГ у нормальных клеток *in vivo* в силу большого числа межклеточных взаимодействий, получаемых сигналов и наличия у клеток предела Хейфлика, могут существенно отличаться. Не исключено, что состав и динамика СГ могут быть тканеспецифичными.

Сборка СГ в экспериментах инициируется специфическими индукторами: чаще всего используют арсенит натрия, индуцирующий острый окислительный стресс, но могут использоваться и другие химические стрессоры, например, дитиотрейтол, восстанавливающий дисульфидные связи белков, что запускает в клетке ответ на несвернутые белки, известный как UPR (англ. Unfolded Protein Response), элементом которого является ингибирование кеп-зависимой трансляции [13]. Применяемые воздействия – 0,5 мМ арсенита натрия или 3 мМ дитиотрейтола – носят искусственный характер, и какие патофизиологические факторы, действующие при развитии заболеваний, будут инициировать сборку СГ, – вопрос по-прежнему плохо изученный.

Особое внимание СГ заслуживают при старении. На модельном организме *C. elegans* показана взаимосвязь между продолжительностью жизни и накоплением стрессорных гранул (в качестве маркеров были использованы белки PAB-1 и TIAR-2). У долгоживущих особей гранулы не были детектированы, а у особей с меньшей продолжительностью жизни и уменьшенным размером организма были РНК-гранулы, утратившие динамичность по мере старения [14].

С другой стороны, Ivanov et al. демонстрируют, что при хроническом стрессе, в частности окислительном, который также ассоциирован с ингибированием трансляции в клетке, клетки утрачивают способность формировать СГ в ответ на острое неблагоприятное воздействие. Предположительно, хронический стресс, в отличие от однократного острого, ингибирует трансляцию не только на этапе инициации (фосфорилирование eIF2 α), но и на этапе элонгации (фосфорилирование eEF2), что приводит к «застреванию» на мРНК 80S рибосом. Наличие таковых на мРНК препятствует их переходу в СГ [15].

Для лучшего понимания роли стрессорных гранул в организменных процессах достаточно важным является их изучение на первичных культурах нормальных, нетрансформированных клеток, которые подвержены процессам стресса и старения в большей степени, чем трансформированные клеточные линии. В данной работе мы изучили сборку СГ на персонифицированных культурах нетрансформированных клеток эндотелия (ЭК) пупочной вены HUVEC. Их переход из физиологических условий в условия культивирования сопровождается депривацией сигналов и воздействием стрессовых факторов, среди которых высокий уровень кислорода, действие трипсина и метаболический стресс, вызванный отсутствием перфузии при статических условиях культивирования.

Мы исследовали действие ряда неблагоприятных факторов, действие которых эндотелиоциты могут подвергаться *in vivo*. К их числу относятся солевая нагрузка, гипотермия и осциллирующий поток жидкости.

Методика

Эндотелиальные клетки HUVEC – получение и культивирование

Пуповины были получены в ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» от здоровых рожениц в соответствии с разрешением комиссии № 11 по этике от 19.12.2024.

Индивидуальные донорские эндотелиальные клетки (HUVEC) выделяли из пуповины человека по методу, основанному на методиках Яффе [16] и Щегловитовой [17] с модификациями.

Свежие пупочные вены канюлировали и заполняли раствором диспазы (2 мг/мл) (Worthington Biochemical Corp., США) и инкубировали при 37 °C в течение 30 минут. Затем вены перфузировали PBS. Клетки собирали из перфузата центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин, ресуспендировали в среде M199 с солями Эрла (ПанЭко, Россия), 20% FBS (HighClone, Logan, UT, США), 2 мМ L-глутамин, 1 мМ пирувата натрия, 50 мкг/мл гентамицина (КРКА), 2 мкг/мл амфотерицина с добавлением 200 мкг/мл эндотелиального фактора роста (Sigma), 100 мкг/мл гепарина (Московский эндокринный завод, Москва, Россия) и высевали в культуральные флаконы площадью 25–75 см². Клетки культивировали во влажной атмосфере с 5% CO₂ при 37 °C. Конфлюэнтные первичные монослои промывали и субкультивировали в пределах 1–3 пассажей трипсином (0,05% трипсин +0,02% ЭДТА, Gibco). Культуры, полученные от доноров, вели раздельно и не пулировали. Эксперименты проводили на 1–3 пассажах. Жизнеспособность клеток оценивалась с помощью трипанового синего, в экспериментах использовались клетки с жизнеспособностью не менее 90%.

Индукция стрессорных гранул и иммунофлуоресценция

Образование стрессорных гранул оценивали после воздействия на эндотелиоциты арсенита натрия (0,5 мМ, 30 мин), дитиотрейтола (3 мМ, 1,5 ч), хлорида натрия (200 мМ добавочная, без учёта NaCl в M199, 1 ч), маннита (200 мМ, 1 ч), осциллирующего потока жидкости (1 ч на шейкере, помещенном в CO₂-инкубатор), гипотермии (10 °C, 10 ч). Клетки фиксировали 2% ПФА, пермеабелизировали 0,5% Тритоном X-100, блокирова-

ли в течение 1,5 ч в ФСБ, содержащем 4% БСА и 0,1 М глицина, инкубировали с первичными антителами против G3BP1 (1:500, ThermoFisher, США) в течение ночи и окрашивали вторичными антителами анти-кролик, меченными FITC (1:1000, Имтек, Россия), либо STAR RED (1:1000, Abberior, Германия). Изображения получали на конфокальном микроскопе Nikon Eclipse Ti2, оснащенном модулем суперразрешения STEDYCON.

Результаты

При действии на клетки культуры HUVEC 0,5 мМ арсенита натрия (30 минут) и 3 мМ дитиотрейтола (1,5 часа) визуализировались стрессорные гранулы (**рис. 1 В, С**). Распределение флуоресцентного сигнала (G3BP1) в контрольных клетках (лунках) осталось при этом диффузным (**рис. 1 А, Е**). Полученные данные совпадают с более ранними публикациями с использованием ЭК [18] и фибробластов [19]: клетки эндотелия HUVEC в ответ как на острый окислительный, так и на острый восстановительный стресс также формируют стрессорные гранулы с включением белка G3BP1. Этот результат в дальнейшем был использован нами в качестве положительного контроля.

При иммунофлуоресцентном окрашивании G3BP1 не было обнаружено стрессорных гранул в клетках, подвергавшихся вращательно-осциллирующему потоку питательной среды, создаваемому на шейкере в течение 90 минут (**Рис.1, D**). Данный вид воздействия был выбран, поскольку эндотелиальные клетки являются специализированными, механочувствительными и непрерывно испытывают влияние вынужденного конвективного массопереноса в организме: ток крови вызывает их сдвиговую деформацию и растяжение, а эти механические изменения кодируются в химические сигналы в ходе механотрансмиссии и механотрансдукции [20]. В норме в крупных сосудах преобладает устойчивый ламинарный поток, что обусловлено сравнительно низкой скоростью крови, а также высоким сопротивлением. Однако при некоторых патологиях ламинарность может быть нарушена. Так, например, при стенозе скорость кровотока возрастает, а после преодоления области сужения ламинарность потока нарушается, он становится турбулентным или осциллирующим. Это наблюдается, к примеру, при формировании в сосуде атеросклеротической бляшки. Снижение вязкости крови, обусловленное анемией, также может стимулировать переход к турбулентности. Исследование Мауга et al. демонстрирует существенную перестройку транскрипционного профиля эндотелиоцитов под действием осциллирующего потока [21]. Уже после 60 минут воздействия значительно снижается экспрессия генов, ас-

социированных с эндотелиальным фенотипом (KLF2, KLF4, NOS3 и т.д.), а экспрессия генов, ассоциированных с воспалением и иммунным ответом, напротив, возрастает. Такие данные позволили нам сделать предположение, что часть транскриптов может быть вследствие этого депонирована в ЭК в стрессорных гранулах. Кроме того, в начальной фазе действия потока на эндотелиальные клетки может происходить растяжение элементов цитоскелета (актиновых, промежуточных филаментов, микротрубочек) и их связей с внеклеточным матриксом (например, фокальных адгезий). Хотя энергия белок-белковых связей в комплексах, в том числе цитоскелетных белков, их адаптеров и внеклеточных белков (например, талин-винкулин, актин-миозин), в среднем примерно равна или даже несколько выше энергии нековалентных конформационных сил (водородных связей, гидрофобных взаимодействий), но она значительно ниже энергии дисульфидных ковалентных связей. Поэтому возможность разворачивания цитоскелетных белков при внешних механических воздействиях зависит от соотношения стабилизирующих конформационных сил и их динамики. В ранней фазе, когда действие внешних сил еще не успело уравновеситься адаптивными перестройками цитоскелета, в том числе в результате изменившейся генной экспрессии, вероятно, нельзя исключать частичное разворачивание белков. Так, физиологические силовые воздействия способны растягивать молекулы талина, которые в результате этого экспонируют ранее скрытые криптические связывающие сайты для винкулина [22]. Рентгеноструктурный анализ показал, что α -катенин, который связывает кадгерин с актомиозином, принимает стабильную аутоингибиторную конформацию, делающую сайт связывания винкулина недоступным [23]. При растяжении же отдельных молекул α -катенина с помощью магнитного пинцета было показано, что субдомены с М1 (винкулин-связывающий домен (VBD)) до М111 разворачиваются в три характерных этапа: обратимый этап при величине действующей силы ~ 5 пН и два неравновесных этапа при 10–15 пН, при этом усилие в 5 пН запускает связывание винкулина с доменом М1 в соотношении 1:1 с наномолярной аффинностью, предотвращая рефолдинг домена М1 после снятия силы [24]. В этой работе было показано, таким образом, что физиологически значимые силы обратимо разворачивают α -катенин, активируя связывание винкулина, которое затем стабилизирует α -катенин в его открытой конформации, преобразуя действующую силу в устойчивый биохимический сигнал.

С учетом частичного разворачивания цитоскелетных белков при действии механических сил на клет-

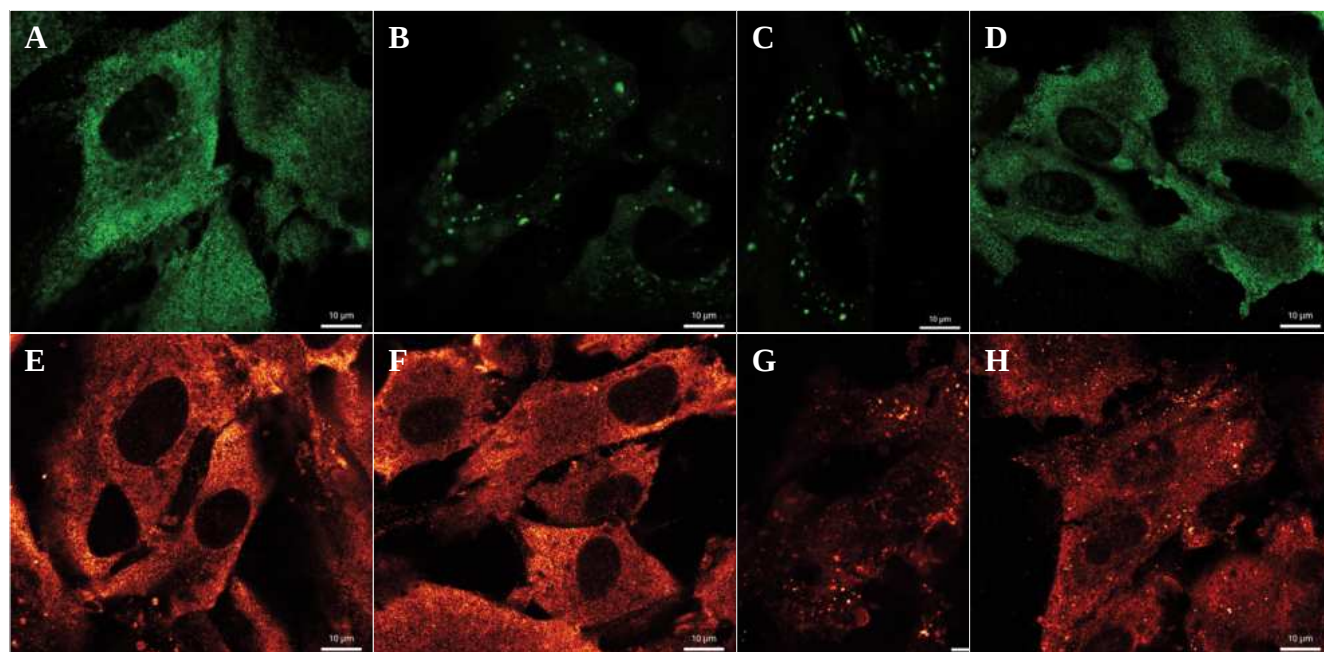


Рис. 1. Сборка стрессорных гранул клетками HUVEC в разных условиях, примеры микрофотографий. А,Е – необработанный клетки (контроль); В – 0,5 мМ NaAsO₂ 30 минут; С – 3 мМ DTT 1,5 часа; D – осциллирующий поток 1 час; F – гипотермия 10°C, 10 ч; G – NaCl 200 мМ, 1 ч; H – маннит 200 мМ, 1 ч. Клетки инкубировали в указанных G,условиях, после чего проводили процедуру иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием антител к G3BP1. Количество независимых экспериментов n=2.

Fig. 1. SGs assembly in HUVEC cells under various conditions. Microphotography examples. A, E – untreated cells (control), B – 0,5 mM NaAsO₂ 30 min; C – 3 mM DTT 1,5 h; D – oscillatory shear stress 1 h; F – hypothermia 10°C, 10 h; G – NaCl 200 mM, 1 h; H – mannitol 200 mM, 1 h. Cells were incubated in the given conditions with subsequent immunofluorescent staining. G3BP1 antibodies were used. The total number of independent experiments n=2.

ку, возникает вопрос, задействует ли клетка при этом какие-либо механизмы стрессового ответа. Хотя механические силы предположительно оказывают более ограниченное влияние на клеточный протеом по сравнению, например, с химическими индукторами разворачивания белков, вопрос образования стрессорных гранул при деформации клетки остаётся недостаточно изученным.

Важным аспектом является также взаимосвязь СГ и цитоскелета, который перестраивается при механических воздействиях. Участие актиновых филаментов в динамике СГ в настоящее время показано только в клетках растений и не обнаружено в клетках млекопитающих при остром окислительном стрессе. Замечена тенденция роста стрессорных гранул в областях клетки, богатых микротрубочками и бедных актином [1]. Показано, что моторный белок NM II участвует в формировании стрессорных гранул, стимулируя подвижность G3BP1-содержащих органелл и их слияние в более крупные гранулы. Кроме того, ингибирование NM II замедляет сборку СГ, а также приводит к уменьшению их количества [9]. Ранние исследования подчёр-

кивают роль [24] и необходимость [26] микротрубочек в формировании стрессорных гранул. С одной стороны, имеет место АТФ-зависимый транспорт рибонуклеопротеиновых частиц кинезином и динеином, а также скольжение рибонуклеопротеиновых частиц по микротрубочкам с последующим их слиянием в гранулы, но при перестраивании сети микротрубочек (например, при возникновении механического воздействия на клетку) может быть реализован и другой механизм, называемый «pushing or pulling», т.е. тяни-толкай. Имобилизованные на микротрубочках рибонуклеопротеиновые частицы начинают агрегировать и формировать более крупные по размеру гранулы вследствие динамической нестабильности микротрубочек [27]. В сравнительно недавней работе валидировали взаимодействие РНК-белкового конденсата *in vitro* и заключили, что субъединицы микротрубочек, обладающие слабым сродством к интерфейсам стрессовых гранул, полимеризуются, и межмолекулярное сродство микротрубочек к СГ возрастает, обеспечивая достаточную адгезию для деформации СГ, и сети микротрубочек значительно плотнее вокруг СГ [28].

Для проверки сборки СГ мы подвергали HUVEC интенсивному вращательно-осциллирующему потоку питательной среды, создаваемому на шейкере в течение 60 минут, при этом G3BP1-позитивные стрессорные гранулы детектированы не были обнаружены. Возможно, для их сборки требуется расширенный временной диапазон из-за особенностей механического воздействия. Однако на более длительном интервале будет происходить адаптация клеток с более активным вовлечением экспрессии генов. Кроме того, белок G3BP1 не является универсальным маркером СГ, в качестве альтернативного маркера используются также G3BP2 – паралог G3BP1, кодируемый геном, локализованным на хромосоме 4, в то время как G3BP1 локализован на хромосоме 5. Данные белки имеют порядка 60% совпадения аминокислотной последовательности, с наиболее высоким сходством в NTF2 – подобных доменов, что указывает на их способность одинаковым образом проходить через ядерные поры. РНК-связывающие домены RRM и RRG, а также богатые глицином участки у G3BP2 представлены более длинными аминокислотными последовательностями по сравнению с G3BP1 [29].

Li et al. показали повышение экспрессии G3BP2, но не G3BP1 в эндотелиальных клетках, подвергнутых осциллирующему потоку жидкости. Ими также была продемонстрирована сборка G3BP2-содержащих стрессорных гранул и колокализация G3BP2 с транскрипционным фактором YAP, являющимся частью каскада интегрин β 3-YAP и запускающим повышенную экспрессию генов, ассоциированных с воспалением эндотелия и сосудистой проницаемостью [30].

Интересно, что G3BP2, но не G3BP1 способен связывать IкВ α и комплекс IкВ α /NF-кВ. G3BP2-опосредованное удержание IкВ α в цитозоле клетки препятствует его транслокации в ядро и ингибированию ядерного NF-кВ, что стимулирует NF-кВ-индуцированное воспаление. А вот стабилизация G3BP2 в цитозоле комплекса IкВ α /NF-кВ, напротив, препятствует активации воспалительного каскада [29].

Была изучена возможность сборки СГ в ЭК при действии десятичасовой гипотермии 10°C. На уровне организма различают лёгкую (32–35°C), умеренную (28–32°C) и тяжёлую гипотермию (менее 28°C). Последняя характеризуется риском остановки сердца и летального исхода. Однако не системная, а локальная температура отдельных частей тела и органов, особенно в северных регионах, может опускаться ниже без существенных негативных последствий для здоровья человека. Например, онемение и потеря ловкости пальцев свидетельствуют о достижении температуры 10–15°C в микрососудах ко-

нечности. Наблюдаемые при этом функциональные нарушения не приводят к необратимому повреждению тканей. Не следует забывать, что температура 4°C используется как в клеточной биологии для консервации образцов и сохранения морфологических характеристик клеток на недлительный срок, так и в трансплантологии при хранении донорских органов и клеток.

Hofman et al. показали сборку стрессорных гранул клетками почки зелёной мартышки COS7, мышинными эмбриональными фибробластами MEF, а также линиями клеток человека Du145, HeLa и Huh7 в ответ на холодовой шок 10°C [31]. Уже через 4 часа при такой температуре 26% клеток COS7 содержали в цитозоле СГ, к 10 часам процент таких клеток увеличился до 93%, при этом процент рибосом, вовлечённых в трансляцию, снизился до 8%. Показано фосфорилирование eIF2 α , в том числе PERK-опосредованное, а также активация AMPK. После 10 часов холодового шока снизился митохондриальный потенциал, уровень внутриклеточного АТФ упал более чем на 60% по сравнению с исходным. Наблюдаемые в цитозоле гранулы содержали такие белки, ассоциированные с трансляцией, как eIF4G и eIF2 α , а также РНК-связывающие белки G3BP, PABP, HuR и TIA1.

После 10 часов при температуре 10°C мы не выявили цитоплазматических G3BP1-содержащих СГ в клетках эндотелия пупочной вены HUVEC (**рис.1 F**). С одной стороны, могут иметь место альтернативные механизмы тканеспецифической адаптации эндотелия к холодовому шоку, отличные от сборки стрессорных гранул. С другой стороны, может отличаться динамика их сборки и разборки. Hofman et al. утверждают, что СГ по возвращении клеток в условия оптимальной температуры разбираются через 2,5 минуты в клетках *S. Cerevisiae* (30°C) и в течение 5–10 минут в клетках млекопитающих (37°C). Мы прибегали к формальдегидной фиксации при комнатной температуре в течение нескольких минут после холодового шока и считаем маловероятной столь быструю диссоциацию стрессорных гранул у HUVEC. Следует отметить, что выбранная нами модель – HUVEC – адаптированные к культуре нетрансформированные клетки, которые уже не находились в стадии логарифмического роста и отличались от использованных Hofman et al. клеточных линий увеличенным временем удвоения. В отсутствие интенсивного роста в клетках трансляция происходит не так активно, и, возможно, образование стрессорных гранул является избыточным механизмом в условиях гипотермии.

Исследовали также способность клеток HUVEC формировать стрессорные гранулы в ответ как на по-

вышенное содержание хлорида натрия в питательной среде, так и на повышенную осмолярность питательной среды без изменения её ионного состава (рис.1, G, H). Известно, что повышенное потребление поваренной соли с пищей увеличивает риск развития сердечно-сосудистых и воспалительных заболеваний. Солезависимая артериальная гипертензия сопровождается нарушениями со стороны ЭК и повышенным периферическим сосудистым сопротивлением; распространенность солечувствительности среди гипертоников составляет порядка 50% [32]. Сообщается, что повышение концентрации Na^+ катионов в плазме приводит к реорганизации цитоскелета ЭК, снижению продукции оксида азота (NO), повышению выработки эндотелина-1, а также повреждению эндотелиального гликокаликса и выработке ЭК провоспалительных цитокинов, в том числе индуцирующих адгезию моноцитов, также может развиваться эндотелиальная дисфункция [33].

Burg et al. [34] рассмотрели эффект NaCl-индуцированной гиперосмолярности на различные клеточные типы. Они показали, что в течение 60 минут в гиперосмотической среде наблюдается снижение объёма клетки, вместе с тем ионная сила цитоплазмы и концентрация растворённых в ней компонентов возрастает. Клетка пытается компенсировать эти изменения с помощью механизма регуляторного увеличения объёма (RVI) в течение последующих 20 часов. RVI реализуется посредством как перестройки цитоскелета, так и активации транскрипционного фактора TonEBP/OREBP. Данный фактор индуцирует экспрессию генов, ответственных за синтез и транспорт внутриклеточных органических осмолитов, например бетаина или мио-инозитола. Эти осмолиты помогают стабилизировать внутриклеточные белки и восстановить клеточный объём. Однако, когда осмолярность среды слишком высока, данный компенсаторный механизм может быть недостаточным, что может привести к активации путей апоптоза.

Кроме того, среда с высоким содержанием NaCl в течение часа вызывает разрывы цепей ДНК. Причём, пока высокий уровень осмолярности сохраняется, система репарации ДНК подавлена, и повреждения исправлены не будут. Вместе с тем в клетке развивается окислительный стресс, повышается уровень АФК, что, в частности, приводит к окислению белков. Происходит ингибирование процессов транскрипции и трансляции, опосредованное фосфорилированием eIF2 α . Интересно, что синтез белков теплового шока в условиях гиперосмолярности, наоборот, усиливается, что указывает на развитие клеточного стрессового ответа.

В частности, TonEBP/OREBP стимулирует экспрессию шаперона HSP70 [34].

Важно отметить, что NaCl-опосредованная гиперосмолярность может иметь ряд специфических эффектов, обусловленных ионами. Так, например, повышенная концентрация Cl^- аниона специфически повышает экспрессию α -субъединицы натрий-калиевой – АТФазы. По этой причине мы альтернативно индуцировали осмотический шок ЭК маннитом, слабо метаболизирующимся шестиатомным спиртом.

Известно, что как маннит, так и NaCl повышают фосфорилирование тирозиновых остатков белков, ассоциированных с контактами фокальной адгезии, – паксиллина (PXN) и киназы FAK в эндотелиальных клетках. Помимо этого, гиперосмолярность, вызванная и маннитом, и хлоридом натрия, вызывает повышение активности c-Jun N-терминальной киназы (JNK). Интересно, что маннитол также повышает концентрацию внутриклеточного свободного Ca^{2+} дозозависимым образом [35].

Была зарегистрирована сборка цитоплазматических G3BP1-содержащих стрессорных гранул клетками эндотелия в ответ на повышение концентрации NaCl (рис.1 G). Это коррелирует с ранее полученными данными Salam et al., показавшими сборку Cl^- как плюрипотентными стволовыми клетками, так и клетками нейробластомы SH-SY5Y в ответ на повышенную концентрацию NaCl. Данная исследовательская группа также отмечает, что сборка Cl^- в гиперосмотических условиях может осуществляться как без фосфорилирования eIF2 α при концентрации NaCl 200 mM, так и опосредовано фосфорилированием eIF2 α при больших концентрациях хлорида натрия (400 mM) [36].

В нашем случае среднее число стрессорных гранул на клетку было выше после обработки ЭК хлоридом натрия, но не маннитом. Полученный результат может быть сопряжён со специфическими эффектами NaCl. Требуется проведение дополнительных исследований для установления возможных различий в индукции сборки Cl^- хлоридом натрия и маннитом.

Следует также отметить, что размеры Cl^- в случае осмотического шока были меньше по сравнению с гранулами, индуцированными арсенитом натрия или дитиотрейтолом. Это может, с одной стороны указывать на их более динамичную природу и на повышенную возможность адаптации клеток к осмотическому стрессу, но с другой стороны – на перестройки цитоскелета в условиях гиперосмолярности, влекущие за собой изменения в динамике рибонуклеопротеиновых частиц.

Литература

(п.п. 1–11, 14–16, 18–19 и 21–36 см. References)»

12. Пасько А.Ю., Микрюкова А.А., Зайченко Д.М., Московцев А.А., Кубатиев А.А. (2022). Динамика эктопических стрессорных гранул в клетках FRSN и EA.hy926. *Патогенез*. 2022; 20(4): 87-92. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2022.04.87-92>
13. Меситов М.В., Московцев А.А., Кубатиев А.А. Молекулярная логика сигнальных путей при стрессе эндоплазматического ретикулума: система UPR (Unfolded Protein Response). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2013; 57(4): 97–108.
17. Щегловитова О.Н., Романов Ю.А., Максянина Е.В., Свиницкая В.А., Пронин А.Г. Инфицированные вирусом простого герпеса 1 типа эндотелиальные клетки человека индуцируют продукцию противовирусных и провоспалительных факторов лейкоцитами периферической крови in vitro. *Российский иммунологический журнал*. 2002; 7(2): 115–22.
20. Московцев А. А., Колесов Д. В., Мильникова А. Н., Зайченко Д. М., Соколовская А. А., Кубатиев А. А. Ответы эндотелиальных клеток на деформацию сдвига: механотрансдукция, клеточный стресс и адаптация. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(4): 112–25. <https://doi.org/10.25557/IGPP.2017.4.8531>

References

1. Biancon G., Busarello E., Cheng M., Halene S. and Tebaldi T. Dissecting the stress granule RNA world: dynamics, strategies, and data. *RNA*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2025; 31, 743–55. <https://doi.org/10.1261/rna.080409.125>
2. Yang G., Wang Y., Guo J. and Rui T. Connecting the Dots: Stress Granule and Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2025; 18:4, Springer. 18, 738–48. <https://doi.org/10.1007/S12265-025-10619-W>
3. Paget M., Cadena C., Ahmad S., Wang H.T., Jordan T.X., Kim E. et al. Stress granules are shock absorbers that prevent excessive innate immune responses to dsRNA. *Molecular Cell*, Cell Press. 2023; 83, 1180. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2023.03.010>
4. Panas M.D., Ivanov P. and Anderson P. Mechanistic insights into mammalian stress granule dynamics. *The Journal of Cell Biology*, Rockefeller University Press. 2016; 215, 313. <https://doi.org/10.1083/JCB.201609081>
5. Hirose T., Ninomiya K., Nakagawa S. and Yamazaki, T. A guide to membraneless organelles and their various roles in gene regulation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2022 24:4, Nature Publishing Group. 2022; 24, 288–304. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00558-8>
6. Moon S.L., Morisaki T., Khong A., Lyon K., Parker R. and Stasevich T.J. Multicolor single-molecule tracking of mRNA interactions with RNP granules. *Nature Cell Biology*, Nature Publishing Group. 2019; 21, 162. <https://doi.org/10.1038/S41556-018-0263-4>
7. Khong A., Matheny T., Jain S., Mitchell S.F., Wheeler J.R. and Parker R. The Stress Granule Transcriptome Reveals Principles of mRNA Accumulation in Stress Granules. *Molecular Cell*, Cell Press. 2017; 68, 808–20. e5. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2017.10.015>
8. Glauninger H., Bard J.A.M., Wong Hickernell C.J., Velez K.M., Airolidi E.M., Li W. et al. Transcriptome-wide mRNP condensation precedes stress granule formation and excludes new mRNAs. *Molecular Cell*, Elsevier BV. 2025; 85, 4393. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2025.11.003>
9. Hu S., Zhang Y., Yi Q., Yang C., Liu Y. and Bai Y. Time-resolved proteomic profiling reveals compositional and functional transitions across the stress granule life cycle. *Nature Communications* 2023 14:1, Nature Publishing Group. 2023; 14, 7782-. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43470-1>
10. Tourrière H., Chebli K., Zekri L., Courselaud B., Blanchard J.M., Bertrand E. et al. The RasGAP-associated endoribonuclease G3BP mediates stress granule assembly. *Journal of Cell Biology*, Rockefeller University Press. 2023; 222. <https://doi.org/10.1083/jcb.200212128072023new>
11. Van Treeck B., Protter D.S.W., Matheny T., Khong A., Link C.D. and Parker R. RNA self-assembly contributes to stress granule formation and defining the stress granule transcriptome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Academy of Sciences. 2018; 115, 2734–9. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1800038115>
12. Pas'ko A.Y., Mikryukova A.A., Zaychenko D.M., Moskovtsev A.A., and Kubatiev A.A. Dynamics of ectopic stress granules in cells FRSN and EA.hy926. *Patogenez*, Cifra Ltd – Russian Agency for Digital Standardization (RADS). 2022; 87–92. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2022.04.87-92>
13. Mesitov M. V, Moskovtsev A.A. and Kubatiev A.A. Molecular logic of the endoplasmic reticulum stress signal pathways: the system of unfolded protein response. *Patologicheskaja Fiziologija i Eksperimental'naja Terapija*, 2013; 97–108.
14. Lechler M.C., Crawford E.D., Groh N., Widmaier K., Jung R., Kirstein J. et al. Reduced Insulin/IGF-1 Signaling Restores the Dynamic Properties of Key Stress Granule Proteins during Aging. *Cell Reports*, Cell Press. 2017; 18, 454–67. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2016.12.033>
15. Adachi Y., Williams A.M., Masuda M., Taketani Y., Anderson P.J. and Ivanov P. Chronic stress antagonizes formation of Stress Granules. *BioRxiv*, Cold Spring Harbor Laboratory. 2024.10.29.620814. <https://doi.org/10.1101/2024.10.29.620814>
16. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G. and Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *The Journal of Clinical Investigation*, J Clin Invest. 1973; 52, 2745–56. <https://doi.org/10.1172/JCI107470>
17. Scheglovitova O.N., Romanov Y.A., Maksianina E. V, Svintsitskaya V.A. and Pronin A.G. Herpes simplex type I virus infected human vascular endothelial cells induce the production of anti-viral and proinflammatory factors by peripheral blood leukocytes in vitro. *Russian Journal of Immunology: RJI: Official Journal of Russian Society of Immunology*. 2002; 7, 115–22.
18. El Bakkouri Y., Chidiac R., Delisle C., Corriveau J., Cagnone G., Gannonac'h-Lovejoy V. et al. ZO-1 interacts with YB-1 in endothelial cells to regulate stress granule formation during angiogenesis. *Nature Communications* 2024 15:1, Nature Publishing Group. 2024; 15, 4405. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48852-7>
19. Lo Bello M., Di Fini F., Notaro A., Spataro R., Conforti F.L. and La Bella V. ALS-Related Mutant FUS Protein Is Mislocalized to Cytoplasm and Is Recruited into Stress Granules of Fibroblasts from Asymptomatic

- FUS P525L Mutation Carriers. *Neurodegenerative Diseases*, S. Karger AG. 2017; 17, 292–303. <https://doi.org/10.1159/000480085>
20. Moskovtsev A.A., Kolesov D.V., Mylnikova A.N., Zaychenko D.M., Sokolovskaya A.A. and Kubatiev A.A. Endothelial shear stress responses: mechanotransduction, cell stress and adaptation. *Patologicheskaja Fiziologija i Eksperimental'naja Terapija*, 2017; 61(4): 112–25. <https://doi.org/10.25557/IGPP.2017.4.8531>
 21. Maurya M.R., Gupta S., Li J.Y.S., Ajami N.E., Chen Z.B., Shyy J.Y.J. et al. Longitudinal shear stress response in human endothelial cells to atheroprone and atheroprotective conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Academy of Sciences. 2021; 118, e2023236118. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2023236118>
 22. Del Rio A., Perez-Jimenez R., Liu R., Roca-Cusachs P., Fernandez J.M. and Sheetz M.P. Stretching single talin rod molecules activates vinculin binding. *Science*, American Association for the Advancement of Science. 2009; 323, 638–41. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1162912>
 23. Rangarajan E.S. and Izard T. The cytoskeletal protein α -catenin unfolds upon binding to vinculin. *Journal of Biological Chemistry*, J Biol Chem. 2012; 287, 18492–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.351023>
 24. Yao M., Qiu W., Liu R., Efremov A.K., Cong P., Seddiki R. et al. Force-dependent conformational switch of α -catenin controls vinculin binding. *Nature Communications* 2014 5:1, Nature Publishing Group. 2014; 5, 4525. <https://doi.org/10.1038/ncomms5525>
 25. Bartoli K.M., Bishop D.L. and Saunders W.S. The Role of Molecular Microtubule Motors and the Microtubule Cytoskeleton in Stress Granule Dynamics. *International Journal of Cell Biology*, John Wiley & Sons, Ltd. 2011, 939848. <https://doi.org/10.1155/2011/939848>
 26. Böddeker T.J., Rusch A., Leeners K., Murrell M.P. and Dufresne E.R. Actin and Microtubules Position Stress Granules. *PRX Life*, American Physical Society. 2023; 1, 023010. <https://doi.org/10.1103/PRXLife.1.023010>
 27. Chernov K.G., Barbet A., Hamon L., Ovchinnikov L.P., Curmi P.A. and Pastré D. Role of Microtubules in Stress Granule Assembly. *Journal of Biological Chemistry*, Elsevier. 2009; 284, 36569–80. <https://doi.org/10.1074/JBC.M109.042879>
 28. Böddeker T.J., Rosowski K.A., Berchtold D., Emmanouilidis L., Han Y., Allain F.H.T. et al. (2022) Non-specific adhesive forces between filaments and membraneless organelles. *Nature Physics* 2022 18:5, Nature Publishing Group. 18, 571–8. <https://doi.org/10.1038/s41567-022-01537-8>
 29. Sidibé H., Dubinski A. and Vande Velde C. The multi-functional RNA-binding protein G3BP1 and its potential implication in neurodegenerative disease. *Journal of Neurochemistry*, John Wiley & Sons, Ltd. 2021; 157, 944–62. <https://doi.org/10.1111/JNC.15280>
 30. Li T., Qiu J., Jia T., Liang Y., Zhang K., Yan W. et al. G3BP2 regulates oscillatory shear stress-induced endothelial dysfunction. *Genes & Diseases*, Elsevier. 2022; 9, 1701–15. <https://doi.org/10.1016/J.GENDIS.2021.11.003>
 31. Hofmann S., Cherkasova V., Bankhead P., Bukau B. and Stoeklin G. Translation suppression promotes stress granule formation and cell survival in response to cold shock. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-04-0296>, The American Society for Cell Biology. 2012; 23, 3786–800. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-04-0296>
 32. Bailey M.A. and Dhaun N. Salt Sensitivity: Causes, Consequences, and Recent Advances. *Hypertension*, Lippincott Williams and Wilkins. 2024; 81, 476–89. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.17959>
 33. Schierke F., Wyrwoll M.J., Wisdorf M., Niedzielski L., Maase M., Ruck T. et al. Nanomechanics of the endothelial glycocalyx contribute to Na⁺-induced vascular inflammation. *Scientific Reports* 2017 7:1, Nature Publishing Group. 2017; 7, 46476-. <https://doi.org/10.1038/srep46476>
 34. Burg M.B., Ferraris J.D. and Dmitrieva N.I. Cellular Response to Hyperosmotic Stresses. <https://doi.org/10.1152/Physrev000562006>, American Physiological Society. 2007; 87, 1441–74. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00056.2006>
 35. Malek A.M., Goss G.G., Jiang L., Izumo S. and Alper S.L. Mannitol at clinical concentrations activates multiple signaling pathways and induces apoptosis in endothelial cells. *Stroke*, Lippincott Williams and Wilkins. 1998; 29, 2631–40. <https://doi.org/10.1161/01.STR.29.12.2631>
 36. Salloum-Asfar S., Engelke R., Mousa H., Goswami N., Thompson I.R., Palangi F. et al. Hyperosmotic Stress Induces a Specific Pattern for Stress Granule Formation in Human-Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells International*, John Wiley & Sons, Ltd. 2021, 8274936. <https://doi.org/10.1155/2021/8274936>

Сведения об авторах:

Мишина Александра Владимировна, мл. науч. сотр. лаб. клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»; лаб.-иссл. лаб. Молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины;

Пасько Алексей Юрьевич, аспирант, мл. науч. сотр. лаб. клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»;

Астахова Анна Ивановна, канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотр. лаб. клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»;

Микрюкова Анна Алексеевна, младший научный сотрудник лаборатории клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»;

Зиганшина Марина Михайловна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НИИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России; вед. науч. сотр. лаб. клеточного стресса ФГБНУ «НИИОПП»;

Лискова Юлия Владимировна, доктор мед. наук, проф. каф. факультетской терапии института клинической медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

Антошел Диана Ивановна, без степени, ассистент каф. факультетской терапии института клинической медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

Коваленко Людмила Васильевна, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии и общей патологии Медицинского института Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет»;

Московцев Алексей Александрович, канд. мед. наук, зав. лаб. клеточного стресса, руководитель Центра коллективного пользования научным оборудованием ФГБНУ «НИИОПП», ведущий научный сотрудник лаб. Молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины, доцент кафедры общей патологии и патофизиологии РМАНПО.

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-008.9

Самойлова Ю.Г.^{1,2}, Матвеева М.В.^{1,3}, Кудлай Д.А.^{4,5,6}, Хорошунова Е.А.⁷

Биохимические маркеры в прогнозировании саркопении при сахарном диабете 2 типа

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, д.1;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050, Томск, Московский тракт, д. 2;

³ФГБУ ФНКЦ «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства», 127410, Москва, Алтуфьевское шоссе, дом 37 «А», стр. 1;

⁴ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) МЗ РФ, 119048, Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 2;

⁵Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119192, Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1

⁶ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24;

⁷ФГБОУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» эндокринологическое отделение, 636000, Северск, ул. Мира, д. 4

Цель исследования: анализ биохимических маркеров при сахарном диабете (СД) 2 типа для прогнозирования саркопении.

Методика. В исследование включены 46 больных СД 2 типа, разделенные на 4 группы: сравнения, пресаркопения (вероятная саркопения), саркопения, контрольная. Проведены исследования: оценка набора коротких тестов оценки физической работоспособности – Short Physical Performance Battery (SPPB); кистевая динамометрия; опросник SARC-F; биоимпедансометрия с определением показателей скелетной мышечной массы (СММ), индекса аппендикулярной массы (ASM/м²). Проанализированы биохимические показатели: креатинин, цистатин С, $\alpha 1$ -протеиназный ингибитор ($\alpha 1$ -ПИ), $\alpha 2$ -макроглобулин ($\alpha 2$ -МГ), эластазоподобные протеиназы (Эл), трипсиноподобные протеиназы (Тр).

Результаты. У пациентов с саркопенией наблюдалось снижение ASM/м². Содержание цистатина С увеличено во всех анализируемых группах. Вероятная саркопения характеризуется отрицательной корреляцией активности эластазо- и трипсиноподобных протеиназ с динамометрией и SPPB-тестом. У больных с саркопенией отмечается положительная корреляция эластазоподобных протеиназ и SPPB-теста. У лиц с СД 2 типа и вероятной саркопенией мышечная сила и работоспособность отрицательно зависят от активности $\alpha 1$ -ПИ и положительно – от активности $\alpha 2$ -МГ. При саркопении активность ингибиторов протеиназ отрицательно коррелировала с показателями работоспособности мышц. Определена для пресаркопении отрицательная корреляционная связь со стороны эластазоподобных протеиназ к параметрам кистевой динамометрии, SPPB-теста, скорости ходьбы, а для саркопении – положительная. Пресаркопении и саркопении свойственна отрицательная корреляция $\alpha 1$ -ПИ и Тр по отношению к вышеуказанным параметрам. Активность протеиназ увеличивается у больных с индексом массы тела (ИМТ) > 25 кг/м² и патологией щитовидной железы. У пациентов с артериальной гипертензией наблюдается значительный дисбаланс с высокой активностью эластазоподобных протеиназ на фоне снижения активности $\alpha 1$ -ПИ. Активность Эл и Тр ниже у пациентов с СД 2 типа, принимающих метформин.

Заключение. Дополнительно в рамках скрининга вероятной саркопении и саркопении у больных с СД 2 типа можно использовать определение лабораторных показателей (цистатина С, $\alpha 1$ -ПИ, $\alpha 2$ -МГ, Эл, Тр), а также стандартные методы – динамометрию, биоимпедансометрию, SPPB-тест. Для адекватной интерпретации биохимических показателей необходимо учитывать ИМТ, сопутствующие заболевания и особенности сахароснижающей терапии.

Ключевые слова: саркопения; сахарный диабет 2 типа; кистевая динамометрия; биоимпедансометрия; протеиназы; ингибиторы протеиназ; цистатин С

Для цитирования: Самойлова Ю.Г., Матвеева М.В., Кудлай Д.А., Хорошунова Е.А. Биохимические маркеры в прогнозировании саркопении при сахарном диабете 2 типа. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 47–56.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.47-56

Для корреспонденции: Хорошунова Екатерина Анатольевна, врач-эндокринолог эндокринологического отделения, e-mail: katty.xoroshunova.96@bk.ru

Участие авторов: Самойлова Ю.Г. – 25 % (анализ и интерпретация данных, анализ литературы по теме исследования, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи); Матвеева М.В. – 25 % (разработка концепции, анализ и интерпретация данных, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи); Кудлай Д.А. – 25 % (анализ и интерпретация данных, написание текста статьи, техническое редактирование, утверждение окончательного текста статьи); Хорошунова Е.А. – 25 % (анализ и интерпретация данных, техническое редактирование, утверждение окончательного текста статьи). Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Финансирование. Авторы заявляют, что при подготовке статьи не использовались вневедомственные источники финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Поступила 20.10.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Samoilova Iu.G.^{1,2}, Matveeva M.V.^{1,3}, Kudlay D.A.^{4,5,6}, Khoroshunova Ye.A.⁷

Biochemical markers in the prediction of sarcopenia in type 2 diabetes mellitus

¹Novosibirsk National Research State University, 630090, Novosibirsk, Pirogova str.1, Russian Federation;

²Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 6340502, Tomsk, Moskovsky trakt str.1, Russian Federation;

³The Federal Scientific and Clinical Center for Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical and Biological Agency, 127410, Moscow Altufyevskoye Shosse, Building 1 str. 37 Russian Federation;

⁴Sechenov First Moscow State Medical University, 119048, Moscow, 8 Trubetskaya Street, Building 2, Russian Federation

⁵Lomonosov Moscow State University, Russia 119192, Moscow, Leninskie Gory Str. 1, Russian Federation;

⁶The Federal Scientific "State Research Center Institute of Immunology" of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, 115522, Moscow, Kashirskoye Shosse, 24, Russian Federation;

⁷Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency, Endocrinology Department, 636000, Seversk, Mira Street, 4, Russian Federation

Purpose: analysis of biochemical markers in type 2 diabetes mellitus (DM) to predict sarcopenia.

Materials and methods: the study included 46 patients with type 2 diabetes, divided into 4 groups: comparison, presarcopenia (probable sarcopenia), sarcopenia, control. The following studies were carried out: evaluation of a set of short tests for assessing physical performance – Short Physical Performance Battery (SPPB); wrist dynamometry; SARC-F questionnaire; bioimpedansometry with determination of skeletal muscle mass (SMM), appendicular mass index (ASM/m²); biochemical parameters were analyzed: creatinine, cystatin C, α 1-proteinase inhibitor (α 1-PI); α 2-macroglobulin (α 2-MG); elastase-like proteinases (El); trypsin-like proteinases (Tr).

Results. Patients with sarcopenia showed a decrease in ASM/m². The content of cystatin C increased in all analyzed groups. Probable sarcopenia is characterized by a negative correlation between the activity of elastase and trypsin-like proteinases with dynamometry and the SPPB test. In patients with sarcopenia, there is a positive correlation between elastase-like proteinases and the SPPB test. In individuals with type 2 diabetes and probable sarcopenia, muscle strength and performance depend negatively on the activity of α 1-PI and positively on the activity of α 2-MG. In sarcopenia, proteinase inhibitor activity was negatively correlated with muscle performance. A negative correlation between elastase-like proteinases and the parameters of hand dynamometry, SPPB test, and walking speed was determined for presarcopenia, while for sarcopenia it was positive. Presarcopenia and sarcopenia are characterized by a negative correlation between α 1-PI and Tr in relation to the above parameters. The activity of proteinases increases in patients with a body mass index (BMI) > 25 kg/m² and thyroid pathology. In patients with arterial hypertension, there is a significant imbalance with high activity of elastase-like proteinases against the background of decreased activity of α 1-PI. The activity of El and Tr is lower in patients with type 2 diabetes taking metformin.

Conclusion. Additionally, as part of screening for probable sarcopenia and sarcopenia in patients with type 2 diabetes, one can use the determination of laboratory parameters (cystatin C, α 1-PI, α 2-MG, El, Tr), as well as standard ones – dynamometry, bioimpedansometry, SPPB test. To adequately interpret biochemical parameters, it is necessary to take into account BMI, concomitant diseases and the characteristics of glucose-lowering therapy.

Keywords: sarcopenia; type 2 diabetes mellitus; hand dynamometry; bioimpedometry; proteinases; proteinase inhibitors; cystatin C

For citation: Samoilova Iu.G., Matveeva M.V., Kudlay D.A., Khoroshunova Ye.A. Biochemical markers in the prediction of sarcopenia in type 2 diabetes mellitus. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 47–56.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.47-56.

For correspondence: *Khoroshunova Ye.A.*, e-mail: katya.xoroshunova.96@bk.ru

Authors' contribution: Samoilova Y.G. – 25% (data analysis and interpretation, literature analysis on the research topic, scientific editing approval of the final text of the article); Matveeva M.V. – 25% (concept development, analysis and interpretation of data scientific editing, approval of the final text of the article); Kudlay D.A. – 25% (data analysis and interpretation, writing the text of the article, technical editing, approval of the final text of the article); Khoroshunova Ye.A. – 25% (data analysis and interpretation, technical editing, approval of the final text of the article). All authors contributed significantly to the development of the concept, research, and article, and read and approved the final version before publication.

Information about the authors:

Samoilova Iu.G., <https://orcid.org/0000-0002-2667-4842>

Matveeva M.V., <https://orcid.org/0000-0001-9966-6686>

Kudlay D.A., <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>

Khoroshunova Ye.A., <https://orcid.org/0000-0002-3596-6732>

Financing: the authors declare that no extra-departmental funding sources were used in the preparation of the article.

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

Received 20.10.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Ежегодно сахарный диабет (СД) 2 типа входит в топ-10 болезней по заболеваемости и причинам смерти в мире. Россия не является исключением: по данным Федерального Регистра СД, общее число пациентов, состоящих на Д-учете на 01.01.2023 г. составило 4 962 762 (3,31% населения РФ), из них СД 2 типа – 92,33% (4,58 млн) [1]. В 2022 году средний возраст пациента с СД 2 типа – 75 лет, 98% пациентов находятся в возрастной группе ≥ 45 лет, а 79% больных – в возрасте ≥ 65 лет [2]. Помимо осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, пациенты с СД 2 типа старше 45 лет (особенно ≥ 60 лет) имеют более высокий уровень функциональной инвалидизации, сопутствующих заболеваний и некоторых распространенных гериатрических патологий. К ним относится и саркопения – заболевание, характеризующееся снижением силы, массы и/или функции скелетных мышц [3]. Снижение мышечной силы было описано еще Гиппократом около 24 веков назад, само же определение «саркопения» было впервые предложено профессором Ирвином Розенбергом в 1988 году и означало возрастное снижение массы и функции скелетных мышц [4]. Далее определение и диагностические критерии неоднократно подвергались пересмотрам, и последние рекомендации были приняты в 2019 году Европейской рабочей группой по саркопении у пожилых людей (EWGSOP2 2019). Так произошло согласование диагностических критериев саркопении, и было рекомендовано учитывать наличие как низкой мышечной массы, так

и низкой мышечной функции (силы или работоспособности) [5]. На данный момент имеют место некоторые проблемы выявления саркопении, что связано с комплексной оценкой вклада каждого параметра: мышечной силы, массы и работоспособности. Физиология возрастной потере мышечной массы заключается в проявлении в среднем после 40 лет, причем скорость снижения составляет около 8% каждые десять лет до 70 лет и 15–25% после этого возраста. Таким образом, процентное соотношение относительно общей численности населения в каждом десятилетии от 40 до 90 лет неравномерно и в среднем составляет от 11 до 50% [1]. Ожидается, что распространенность СД 2 типа и саркопении будет расти из-за увеличения продолжительности жизни, поскольку старение является одним из ведущих факторов, способствующих развитию обоих состояний. Кроме того, каждое из заболеваний ухудшает течение другого. Гипергликемия при СД запускает повышенную продукцию активных форм кислорода (АФК), способствуя развитию окислительного стресса [6]. Дальнейшая активация убиквитин-протеасомной системы ускоряет деградацию мышечных белков, что ухудшает течение саркопении. Накопленные гликированные продукты обмена, связываясь с рецепторами на мембранах клеток скелетных мышц, индуцируют воспаление и активируют NADPH-оксидазу посредством внутриклеточной передачи сигнала, что также увеличивает количество циркулирующих АФК [7]. Таким образом, возникновение саркопении при СД можно объяснить воспалительными процессами, развивающимися вследствие ряда патофизиологических процессов: нарушение обмен-

на веществ, инсулинорезистентность, гликемия и повышенное содержание гликированных продуктов. В целом, основными механизмами мышечной дисфункции и саркопении при участии цитокинов являются их взаимодействие с иммунной системой и стимулирование провоспалительной среды, а также нарушение баланса антиоксидантной системы [8]. Однако данные противоречивы: в то время как в одних исследованиях сообщали о значительной корреляции экспрессии цитокинов и показателей саркопении, другие это опровергали. Все эти неточности могут быть связаны с различными параметрами, изучаемыми для оценки тяжести саркопенического фенотипа, или с трудностями чувствительности систем обнаружения. Из-за сложности саркопении EWGSOP предполагает необходимость разработки панели биомаркеров, поскольку маловероятно, что один-единственный показатель может быть достаточно специфичным [9]. Потенциальные маркеры должны быть полезны для постановки диагноза и мониторинга заболевания, оценки ответа на лечение или механизма действия препарата, а главное – должны поддаваться точному и воспроизводимому измерению с помощью доступных методов [10].

Имеющиеся на данный момент маркеры можно отнести к двум группам:

- 1) оценивающие состояние скелетно-мышечного аппарата (мышечной массы, нервно-мышечных соединений, мышечного обмена и миокинов).
- 2) оценивающие неммышечные метаболические патофизиологические механизмы (адипокины, гормоны и биохимические маркеры воспаления).

Цель исследования: анализ биохимических маркеров при сахарном диабете 2 типа для прогнозирования саркопении.

Методика

Исследование соответствует стандартам клинической практики и Хельсинской декларации. Протокол исследования утвержден этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России № 8888 от 29.11.2021 г. Всего включено 46 пациентов с СД 2 типа и выясненным состоянием мышечной системы (нормальным, пресаркопенией и саркопенией) в возрасте от 50 до 85 лет включительно, подписавшие информированное согласие и не имеющие критериев исключения из исследования. На основании алгоритма первичного скрининга снижения мышечной силы по данным кистевой динамометрии и биоимпедансометрии (Inbody 770, Корея), рекомендованного европейской группой по изучению саркопении у пожилых людей (European Working Group on Sarcopenia in Older People – EWGSOP 2019 г.), пациенты были разделены

на четыре группы: группа контроля (9 пациентов), группа сравнения (11 пациентов), пресаркопения (вероятная саркопения) (15 пациентов), больные с саркопенией (11 пациентов) [11]. Для оценки возрастной атрофии мышц применяли: набор коротких тестов оценки физической работоспособности – Short Physical Performance Battery (SPPB); измерение силы, помощи при ходьбе, вставании со стула, подъеме по лестнице и падениях – Strength, Assistance with walking, Rise from a chair, Climb stairs and Falls (SARC-F); биоимпедансометрию с определением показателей скелетной мышечной массы (СММ), индекса аппендикулярной массы (ASM/м²); кистевую динамометрию. Проводилась оценка биохимических показателей крови: содержание креатинина, цистатина С, активность α 1-протеиназного ингибитора (α 1-ПИ),; α 2-макроглобулина (α 2-МГ); эластазоподобные протеиназы (Эл); трипсиноподобные протеиназы (Тр). Критериями исключения из исследования являлись: состояния в стадии декомпенсации заболеваний сердечно-сосудистой и дыхательной системы, опорно-двигательного аппарата, желудочно-кишечного тракта, тяжёлая стадия почечной недостаточности на стадии хронической болезни почек (ХБП) С4-5, ампутация конечности в анамнезе, злоупотребление алкоголем, имплантация кардиостимулятора, наличие крупных металлических протезов и конструкций, выраженный лимфостаз нижних конечностей.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Statistica IBM (русская версия). Для представления нормально распределенных данных применяли среднее значение и среднеквадратичное отклонение. Не подчиняющиеся нормальному закону распределения данные представлены в медиане и квартилях. Достоверными различия считались при $p < 0,05$.

Результаты

Биохимическим критерием потери мышечной массы считается снижение содержания креатинина. С учетом того, что уровень креатинина в сыворотке крови может быть связан с нарушением фильтрационной способности почек, в качестве альтернативного показателя функции почек определяли концентрацию цистатина С (**табл. 1**).

Концентрация креатинина статистически значимо не отличалась ни от контроля, ни между группами. При индивидуальном анализе выявлено 3 пациента мужского пола с вероятной саркопенией, у которых концентрация креатинина увеличивалась до 110, 117 и 148 мкмоль/л (референтные значения 62–106 мкмоль/л). У этих пациентов коморбидной патологией была хроническая

Таблица 1 / Table 1

Содержание креатинина и цистатина С при саркопении на фоне сахарного диабета 2 типа (Me, Q₁; Q₃)Creatinine and cystatin C levels in sarcopenia with type 2 diabetes mellitus (Me, Q₁; Q₃)

Показатель Parameter	Контроль Control n = 9	Группа сравнения Comparison Group n = 11	Пресаркопения (вероятная саркопения) Presarcopenia (probable sarcopenia) n = 15	Саркопения Sarcopenia n = 11
	1	2	3	4
Креатинин (мкмоль/л) Creatinine (μmol/L)	78 (70,5; 85,5)	93,5 (82; 100,25) <i>p</i> ₁₋₂ = 0,096	91 (70; 108,5) <i>p</i> ₁₋₃ = 0,290 <i>p</i> ₂₋₃ = 0,697	87 (74,5; 93) <i>p</i> ₁₋₄ = 0,276 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,231 <i>p</i> ₃₋₄ = 0,436
Цистатин С (мг/л) Cystatin C (mg/L)	1,05 (1,03; 1,10)	1,31 (1,23; 1,43) <i>p</i> ₁₋₂ = 0,002	1,30 (1,09; 1,58) <i>p</i> ₁₋₃ = 0,041 <i>p</i> ₂₋₃ = 0,975	1,26 (1,19; 1,36) <i>p</i> ₁₋₄ = 0,007 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,549 <i>p</i> ₃₋₄ = 0,483

Примечание: **p* – уровень значимости отличий.

Note: **p* – the level of significance of the differences.

болезнь почек. В отличие от креатинина, концентрация цистатина С статистически значимо ($p < 0,05$) возрас- тала в 1,2 раза во всех анализируемых группах относи- тельно контроля. Таким образом, содержание креатини- на существенно не менялось, в то время как содержание цистатина С увеличено во всех анализируемых группах.

Активация протеолиза является универсальной ре- акцией организма при практически любом патологиче- ском процессе. Увеличение активности нейтрофильной эластазы связано с процессами воспаления, а трипсино- подобный протеиназ – с активацией гемостаза, системы комплемента, кининовой, ренин-ангиотензиновой систе- мы, в том числе и при сахарном диабете.

Показано, что активность эластазоподобных протеи- наз при саркопении снижалась на 30% относительно показателя группы сравнения и на 28% – относитель- но пресаркопении ($p < 0,05$). Активность трипсинопо- добных протеиназ увеличивалась при вероятной сар- копении – в 1,6 раз по сравнению с контрольными зна- чениями и на 26% относительно саркопении ($p < 0,05$). Активность α1-ПИИ возрастала в 1,6 раз при вероятной саркопении (пресаркопении) и в 1,8 раз– при саркопении по сравнению с контролем (табл. 2).

Таким образом, саркопения на фоне сахарного ди- абета 2 типа характеризуется снижением активности эластазо- и трипсиноподобных протеиназ по сравне- нию с пресаркопением, что сопровождается увеличени- ем активности α1-ПИИ.

Изменение активности протеиназ и их ингибиторов может быть связано и с наличием сопутствующих забо- леваний, таких как патология сердечно-сосудистой систе- мы, эндокринные заболевания, ожирение, которые ши- роко представлены в анализируемой выборке. При из- быточной массе тела /ожирение (ИМТ>25) активность эластазоподобных протеиназ увеличивалась в 2,1 раза (составила 232,1 (177,5; 327,6) против 109,2 (95,6;150,2) нмольБАНЭ/мин мл у лиц с нормальной массой), а актив- ность трипсиноподобных протеиназ – в 1,9 раза (состави- ла 116,0 (99,0; 122,9) против 61,4 (34,1; 77,3) нмольБАЭЭ/ мин-мл, $p < 0,05$). У лиц с артериальной гипертензией на 20% выше активность эластазоподобных протеиназ (составила 354,9 (327,6; 354,9) против 286,7 (228,6; 344,7) нмольБАНЭ/мин мл, $p < 0,05$) и ниже в 2,2 раза актив- ность α1-протеиназного ингибитора ($p < 0,05$). У пациен- тов же с болезнями щитовидной железы выше на 30% актив- ность трипсиноподобных протеиназ (20,5 (6,8; 46,4)

Таблица 2 / Table 2

Активность α1-протеиназного ингибитора (α1-ПИ) и протеиназ при саркопении и пресаркопении на фоне сахарного диабета 2 типа (Me, Q₁; Q₂)

Activity of α1-proteinase inhibitor (α1-PI) and proteinases in sarcopenia and presarcopenia in type 2 diabetes mellitus (Me, Q₁; Q₂)

Показатель Parameter	Контроль Control n = 9	Группа сравнения Comparison Group n = 16	Пресаркопения Presarcopenia (probable sarcopenia) n = 39	Саркопения Sarcopenia n = 18
	1	2	3	4
Эластаза, нмольБАНЭ/мин мл Elastase, nmol BANE/ min ml	177,45 (163,8; 238,9)	225,2 (139,9; 327,6) <i>p</i> ₁₋₂ = 0,72 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,124	218,4 (177,5; 252,5) <i>p</i> ₁₋₃ = 0,177 <i>p</i> ₂₋₃ = 0,839	156,9 (112,6; 225,2) <i>p</i> ₁₋₄ = 0,229 <i>p</i> ₃₋₄ = 0,004
Трипсин, нмольБАНЭ/мин мл Trypsin, nmol BANE/ min ml	71,7 (61,4; 81)	116 (90,4; 133) <i>p</i> ₁₋₂ = 0,039 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,153	116 (81,9; 136,5) <i>p</i> ₁₋₃ = 0,004 <i>p</i> ₂₋₃ = 0,713	85,3 (54,6; 114,3) <i>p</i> ₁₋₄ = 0,536 <i>p</i> ₃₋₄ = 0,029
α1-ПИ, ИЕ/мл α1-PI, IU/ml	30 (10,2; 47,4)	48,8 (33,4; 51,4) <i>p</i> ₁₋₂ = 0,136 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,060	48,1 (39,2; 60,1) <i>p</i> ₁₋₃ = 0,024 <i>p</i> ₂₋₃ = 0,234	53,6 (44,5; 64,7) <i>p</i> ₁₋₄ = 0,008 <i>p</i> ₃₋₄ = 0,037

Примечание: **p* – уровень значимости отличий.

Note: **p* – the level of significance of the differences.

против 45,6 (32,9; 49,9) ИЕ/мл, *p* < 0,05), в то время как остальные показатели существенно не меняются.

Изучение активности протеиназ и их ингибиторов в зависимости от показателей атрофии мышечной ткани проводили с помощью корреляционного анализа (табл. 3).

Вероятная саркопения характеризуется отрицательной корреляцией эластазо- и трипсиноподобных протеиназ с динамометрией и SPPB тестом, и чем больше активность протеиназ, тем меньше функциональная активность скелетных мышц. При саркопении взаимосвязь меняется на положительную, за исключением активности трипсиноподобных протеиназ с динамометрией кистей рук. Чем меньше активность протеиназ (снижается по сравнению с пресаркопенией), тем меньше функциональная активность скелетных мышц.

Активность α1-ПИ также отрицательно зависела от силы (динамометрия) и выносливости мышц (SPPB-тест), как при саркопении (слабая связь), так и при пресаркопении (умеренная связь). В отличие от протеиназ, активность α1-ПИ прямо пропорционально была связана с ASM (табл. 4).

Для построения многомерной модели прогнозирования развития саркопении у пациентов с пресаркопенией

на фоне сахарного диабета была использована мультиномиальная логистическая регрессия.

Расчет прогностической вероятности заболеваний проводился по общей формуле 1:

$$p_i = \frac{\exp(f_i)}{1 + \sum_{k=1}^{N-1} \exp(f_k)}, i = 1 \dots N - 1$$

$$p_N = 1 - \sum_{i=1}^{N-1} p_i$$

где *N* – количество градаций зависимой переменной; *p* – прогнозируемая вероятность болезни; *f_i* – линейная функция, имеющая вид

$$f_i = B_{0,i} + B_{1,i}X_1 + B_{2,i}X_2 + \dots + B_{M,i}X_M,$$

где *B₀*, *B₁*, *B₂*, ..., *B_M* – коэффициенты логистической регрессии; *X₀*, *X₁*, *X₂*, ..., *X_M* – независимые переменные (показатели); *M* – количество зависимых переменных.

В конечную модель включались коэффициенты, уровень значимости которых не превышал пороговое значение 0,05. Предсказание осуществлялось путем выбора наибольшего значения прогнозируемой вероятности

Таблица 3 / Table 3

Коэффициенты корреляции (r_{xy}) между активностью протеиназ и функциональными критериями пре- и саркопении
Correlation coefficients (r_{xy}) between the activity of proteinases and the functional criteria of pre- and sarcopenia

Коэффициент Ratio	Контроль Control $n = 9$	Пресаркопения (вероятная саркопения) Presarcopenia (probable sarcopenia) $n = 15$	Саркопения Sarcopenia $n = 11$
Эластазоподобные протеиназы / Динамометрия левой кисти Elastase-like proteinases / Dynamometry of the left hand	0,051 $p = 0,091$	-0,176 $p = 0,04$	0,358 $p = 0,031$
Эластазоподобные протеиназы / Динамометрия правой кисти Elastase-like proteinases / Dynamometry of the right hand	0,051 $p = 0,079$	-0,286 $p = 0,04$	0,487 $p = 0,029$
Эластазоподобные протеиназы / Short Physical Performance Battery Elastase-like proteinases / Short Physical Performance Battery	-0,349 $p = 0,333$	-0,414 $p = 0,044$	0,218 $p = 0,046$
Трипсиноподобные протеиназы / Динамометрия правой кисти Trypsin-like proteinases / Dynamometry of the right hand	-0,075 $p = 0,339$	-0,270 $p = 0,020$	-0,147 $p = 0,036$
Трипсиноподобные протеиназы / Динамометрия левой кисти Trypsin-like proteinases / Dynamometry of the left hand	-0,126 $p = 0,441$	-0,372 $p = 0,042$	-0,152 $p = 0,041$
Трипсиноподобные протеиназы / Short Physical Performance Battery Trypsin-like proteinases / Short Physical Performance Battery	-0,521 $p = 0,088$	-0,316 $p = 0,031$	0,141 $p = 0,04$

Примечание: * p – уровень значимости отличий.

Note: * p – the level of significance of the differences.

болезни. Расчетные коэффициенты функции логистической регрессии для саркопении у больных с пресаркопенией представлены в **таблице 5**.

Расчет вероятности наличия саркопении или пресаркопении проводят по следующим формулам:

$$p(\text{саркопения}) = \frac{e^{-32,23+0,019 \cdot \text{ЭЛ}+0,074 \cdot \text{ТП}+3,555 \cdot \text{ASM}}}{1 + e^{-32,23+0,019 \cdot \text{ЭЛ}+0,074 \cdot \text{ТП}+3,555 \cdot \text{ASM}}}$$

$$p(\text{пресаркопения}) = 1 - p(\text{саркопения})$$

Вклад фактора определяется величиной B . В данном случае большее влияние оказывает ASM, и чем она больше, тем больше вероятность пресаркопении.

Проверка модели на обучающей выборке:

Пример: У пациента Б. (с подтвержденной саркопенией) ASM составляет 6,25 кг/м², активность эластазоподобных протеиназ 95,55 нмольБАНЭ/мл·мин, трипсиноподобных протеиназ 47,8 нмольБАЭЭ/мл·мин, вероятность наличия саркопении 0,9905, что выше вероятности пресаркопении, которая равна 0,0095.

У пациента А. (с пресаркопенией) были получены следующие данные: ASM составляет 6,09 кг/м², а активность эластазоподобных протеиназ 300,3 нмольБАНЭ/мл·мин, трипсиноподобных протеиназ 116 нмольБАЭЭ/мл·мин. Вероятность наличия пресаркопении 0,9762,

Таблица 4 / Table 4

Коэффициенты корреляции ($r_{x,y}$) между активностью ингибиторов протеиназ и функциональными критериями пре- и саркопении
Correlation coefficients ($r_{x,y}$) between the activity of proteinase inhibitors and the functional criteria of pre- and sarcopenia

Коэффициент Ratio	Контроль Control <i>n</i> = 9	Пресаркопения (вероятная саркопения) Presarcopenia (probable sarcopenia) <i>n</i> = 15	Саркопения Sarcopenia <i>n</i> = 11
α 1-ПИ / Индекса аппендикулярной массы m^2 α 1-PI / Appendicular mass index m^2	0,186 <i>p</i> = 0,309	-0,102 <i>p</i> = 0,632	0,2* <i>p</i> = 0,04
α 1-ПИ / Динамометрия правой кисти α 1-PI / Dynamometry of the right hand	-0,203 <i>p</i> = 0,600	-0,308* <i>p</i> = 0,042	-0,199* <i>p</i> = 0,014
α 1-ПИ / Динамометрия левой кисти α 1-PI / Dynamometry of the left hand	-0,187 <i>p</i> = 0,089	-0,305* <i>p</i> = 0,046	-0,119* <i>p</i> = 0,034
α 1-ПИ / Short Physical Performance Battery α 1-PI / Short Physical Performance Battery	-0,043 <i>p</i> = 0,097	-0,298* <i>p</i> = 0,044	-0,101* <i>p</i> = 0,039

Примечание: **p* – уровень значимости отличий.

Note: **p* – the level of significance of the differences.

саркопении равна 0,0238. Чувствительность и специфичность модели составляет, соответственно, 100% и 90%. По этой модели процент правильно распознанных случаев составляет 80%.

Обсуждение

По результатам проведенного исследования верифицирована достоверная связь снижения мышечной массы и/или функции с повышением уровня цистатина С, при этом уровень креатинина достоверно не изменялся. Однако в не-

скольких исследованиях есть информация о достоверном снижении уровня креатинина при снижении мышечной массы тела [12, 13]. Данные противоречия могут быть связаны с тем, что в публикациях в качестве сопутствующей патологии выступает сердечная недостаточность, тогда как в проведенном исследовании это был критерий исключения. Абсолютное большинство исследований показывает существенную корреляцию этого параметра с мышечной массой как отдельного параметра, так и в составе индекса саркопении ($SI = \text{креатинин/цистатин С} \times 100$) [14].

Таблица 5 / Table 5

Коэффициенты функций логистической регрессии в системе пресаркопения-саркопения
Coefficients of logistic regression functions in the presarcopenia-sarcopenia system

Показатель Parameter	Коэффициент логистической регрессии Logistic regression coefficient	Экспонента The exhibitor	<i>p</i>
Константа Constant	-32,23		0,008
Эластазоподобные протеиназы Elastase-like proteinases	0,019	1,019	0,024
Трипсиноподобные протеиназы Trypsin-like proteinases	0,074	1,076	0,018
Индекса аппендикулярной массы Appendicular mass index	3,555	34,9	0,010

Примечание: **p* – уровень значимости отличий.

Note: **p* – the level of significance of the differences.

У лиц с сахарным диабетом 2 типа сила и выносливость мышц при вероятной саркопении отрицательно зависят от активности α 1-протеиназного ингибитора, эластазо- и трипсиноподобных протеиназ и положительно – от активности α 2-макроглобулина. При саркопении показатели снижения функциональной активности мышц находятся в отрицательной корреляции с активностью ингибиторов протеиназ и в положительной с показателями эластазоподобных протеиназ и SPPB теста. Вышеуказанные данные были доказаны и ранее: увеличение количества протеиназ часто сопровождается снижением мышечной массы, а увеличение ингибиторов протеиназ сопутствует его отсутствию [15].

В целом, на ранних этапах возрастной атрофии мышц наблюдается увеличение активности трипсиноподобных протеиназ, сопровождающееся возрастанием активности острофазного белка – α 1-протеиназного ингибитора. Причиной может быть как изменение метаболизма на фоне сахарного диабета, так и наличие сопутствующей патологии. В настоящем исследовании показано, что активность протеиназ увеличивается у больных с избыточным весом (ИМТ > 25), а также при патологии щитовидной железы. Выраженный дисбаланс с высокой активностью

эластазоподобных протеиназ на фоне снижения активности α 1-протеиназного ингибитора наблюдается у пациентов с артериальной гипертензией. Вероятно, активация протеолиза может отражать воспалительный процесс на фоне коморбидной патологии. В то же время у пациентов с саркопенией наблюдается снижение активности трипсино- и эластазоподобных протеиназ, особенно у тех лиц, которые принимают метформин. У этих пациентов активность эластазо- и трипсиноподобных протеиназ была ниже по сравнению с лицами, не принимающими этот препарат. Вероятно, это может быть связано с тем, что у данных пациентов снижено действие адипокинов и провоспалительных цитокинов, а также увеличено количество α 1-протеиназного ингибитора [16].

Следует отметить, что активность трипсино- и эластазоподобных протеиназ, наряду с классическим критерием саркопении – индексом аппендикулярной массы, входит в функцию логистической регрессии для прогноза риска развития саркопении при СД2 (формула1). Вероятно, протеолиз, связанный с воспалением и повреждением мышечной ткани, является дополнительным критерием развития саркопении с учетом ее мультифакториальной этиологии.

Литература (п.п. 3 – 16 см. References)

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Сазонова Д.В. и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010 – 2022 гг. Сахарный диабет. 2023;26(2):104-23. <https://doi.org/10.14341/DM13035>
2. Драпкина О.М., Мокрышева Н.Г., Шестакова М.В., Лавренова Е.А., Ипатов П.В., Кононенко И.В. и др. Диспансерное наблюдение пациентов с сахарным диабетом 2 типа врачом-терапевтом в первичном звене здравоохранения. Методические рекомендации. Первичная медико-санитарная помощь. 2025;2(2):98-134. <https://doi.org/10.15829/3034-4123-2025-52>

References

1. Dedov I.I., Shestakova M.V., Vikulova O.K., Zheleznyakova A.V., Isakov M.A., Sazonova D.V., et al. Diabetes mellitus in the Russian Federation: dynamics of epidemiological indicators according to the Federal Register of Diabetes Mellitus for the period 2010–2022. *Diabetes mellitus*. 2023;26(2):104-23. <https://doi.org/10.14341/DM13035> (In Russian)
2. Drapkina O.M., Mokrysheva N.G., Shestakova M.V., Lavrenova E.A., Ipatov P.V., Kononeko I.N., et al. Outpatient monitoring of patients with type 2 diabetes by a primary care physician. Guidelines. *Primary Health Care (Russian Federation)*. 2025;2(2):98-134. <https://doi.org/10.15829/3034-4123-2025-52> (In Russian)
3. Izzo A., Massimino E., Riccardi G., Della Pepa G. A Narrative Review on Sarcopenia in Type 2 Diabetes Mellitus: Prevalence and Associated Factors. *Nutrients*. 2021; 13: 183. <https://doi.org/10.3390/nu13010183>
4. Rosenberg I.H. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr*. 1997 May; 127(5 Suppl): 990S-991S. <https://doi.org/10.1093/jn/127.5.990S>
5. Cruz-Jentoft A.J., Bahat G., Bauer J., Boirie Y., Bruyère O., Cederholm T., et al. Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2, Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and Ageing*. 2019; 48(1): 16-31. <https://doi.org/10.1093/ageing/afy169>
6. Alsadany M.A., Sanad H.T., Elbanoubi M.H., Ali S. Detecting a valid screening method for sarcopenia in acute care setting. *J Frailty Sarcopenia Falls*. 2021; 6(3): 111-8. <https://doi.org/10.22540/JFSF-06-111>
7. Surov A., Wienke A. Sarcopenia predicts overall survival in patients with malignant hematological diseases: A meta-analysis. *Clin Nutr*. 2021 Mar; 40(3): 1155-60. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.07.023>
8. Lu Y., Niti M., Yap K.B., Tan C.TY., Nyunt M.SZ., Feng L., et al. Effects of multi-domain lifestyle interventions on sarcopenia measures and blood biomarkers: secondary analysis of a randomized controlled trial

- of community-dwelling pre-frail and frail older adults. *Aging (Albany NY)*. 2021 Mar 19;13(7): 9330-47. <https://doi.org/10.18632/aging.202705>
9. Conte M., Giuliani C., Chiariello A., Iannuzzi V., Franceschi C., Salvio S. GDF15, an emerging key player in human aging. *Ageing Res Rev*. 2022 Mar; 75: 101569. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101569>
 10. Pratt J., De Vito G., Narici M., Segurado R., Pessanha L., Dolan J., et al. Plasma C-Terminal Agrin Fragment as an Early Biomarker for Sarcopenia: Results From the GenoFit Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2021 Nov 15; 76(12): 2090-6. <https://doi.org/10.1093/gerona/glab139>
 11. Cruz-Jentoft A.J., Bahat G., Bauer J., Boirie Y., Bruyère O., Cederholm T., et al. Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and Ageing*. 2019; 48(4): 601. <https://doi.org/10.1093/ageing/afz046>
 12. Rossignol P., Masson S., Barlera S., Girerd N., Castelnovo A., Zanad F., et al. Loss in body weight is an independent prognostic factor for mortality in chronic heart failure: insights from the GISSI-HF and Val-HeFT trials. *Eur J Heart Fail*. 2015; 17(4): 424–33. <https://doi.org/10.1002/ejhf.240>
 13. Sato R., Vatic M., da Fonseca G.W.P., von Haehling S. Sarcopenia and Frailty in Heart Failure: Is There a Biomarker Signature? *Curr Heart Fail Rep*. 2022; 19(6): 400-11. <https://doi.org/10.1007/s11897-022-00575-w>
 14. Zheng C., Wang E., Li J.S., Xie K., Luo C., Ge Q.Y., et al. Serum creatinine/cystatin C ratio as a screening tool for sarcopenia and prognostic indicator for patients with esophageal cancer. *BMC Geriatr*. 2022 Mar 15;22(1): 207. <https://doi.org/10.1186/s12877-022-02925-8>
 15. Combaret L., Dardevet D., Béchet D., Taillandier D., Mosoni L., Attaix D. Skeletal muscle proteolysis in aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009 Jan; 12(1): 37-41. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32831b9c31>
 16. Schmitz K., Turnwald E.M., Kretschmer T., Janoschek R., Bae-Gartz I., Voßbrecher K., et al. Metformin Prevents Key Mechanisms of Obesity-Related Complications in Visceral White Adipose Tissue of Obese Pregnant Mice. *Nutrients*. 2022 May 30; 14(11): 2288. <https://doi.org/10.3390/nu14112288>

Сведения об авторах:

Самойлова Юлия Геннадьевна, доктор мед. наук, проф., директор Института медицины и медицинских технологий ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», проф. кафедры педиатрии с курсом эндокринологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; **Матвеева Мария Владимировна**, доктор мед. наук, проф. каф. рекреационной медицины и санаторно-курортного лечения ФГБУ ФНКЦ «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства», доцент каф. клинического моделирования здоровья и персонализированной медицины Института медицины и медицинских технологий ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»;

Кудлай Дмитрий Анатольевич, Член-корр. РАН, доктор мед. наук, проф. каф. фармакологии Института Фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); заместитель декана по научно-технологическому развитию факультета биоинженерии и биоинформатики, проф. каф. фармакогнозии и промышленной фармации факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; вед. науч. сотр. лаб. персонализированной медицины и молекулярной иммунологии №71 ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России;

Хорошунова Екатерина Анатольевна, врач-эндокринолог ФГБОУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», эндокринологическое отделение.

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092+575:599.9

Якубенко Я.А.¹, Смирнова А.А.¹, Логинов В.И.², Бурденный А.М.^{2,3}, Лялина И.Ю.¹,
Казубская Т.П.⁴, Пронина И.В.^{1,3}

Аберрантная экспрессия шести генов системы апоптоза при раке почки

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Государственный университет просвещения», 105005, Москва, вн. тер. г. муниципальный округ Басманный, ул. Радио, д. 10А, стр. 2;

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8;

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4;

⁴Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 115478, Москва, Каширское ш., д. 23

Актуальность. Рак почки остается одной из наиболее агрессивных и сложно поддающихся лечению злокачественных опухолей. Его характерное бессимптомное течение приводит к позднему выявлению на стадиях, где стандартные методы терапии теряют эффективность, что требует разработки новых терапевтических стратегий, направленных на ключевые молекулярные механизмы онкогенеза. Одним из таких механизмов является нарушение регуляции апоптоза – запрограммированной клеточной гибели, которая в норме служит естественным барьером на пути неконтролируемой пролиферации и выживания поврежденных клеток. Изучение экспрессии регуляторных генов апоптоза не только раскрывает механизмы канцерогенеза, но и открывает пути для разработки новых подходов терапии, таких как использование перспективных ВНЗ-миметиков – малых молекул, селективно ингибирующих антиапоптотические белки семейства Bcl-2. **Целью** настоящей работы являлась оценка изменения экспрессии ключевых генов апоптоза (*DAPK1*, *BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *TP53*) в опухолевой ткани по сравнению с экспрессией этих генов в прилежащей гистологически нормальной ткани почки.

Методы. В работе использовали парные образцы операционного материала (опухоль/прилежащая гистологически нормальная ткань) от 45 пациентов с диагнозом «светлоклеточный рак почки», которые были собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». РНК выделяли из ткани стандартным методом. Анализ уровней экспрессии исследуемых генов проводили методом обратной транскрипции с последующей real-time ПЦР на приборе CFX 96 Bio-Rad. Статистическую обработку результатов провели с применением ANOVA – теста после оценки нормальности распределения в тесте Шапиро-Уилка в программе CFX Maestro 2.3 Bio-Rad.

Результаты. Показано статистически значимое ($p \leq 0,05$) снижение экспрессии в 1,58–2,63 раза по медиане генов *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *DAPK1* и *TP53* в опухолевой ткани рака почки по сравнению с прилежащей гистологически нормальной. Анализ экспрессии генов системы апоптоза в зависимости от клинико-патоморфологических параметров показал, что исследованные гены демонстрируют стадийно-зависимую динамику при раке почки. На уровне тенденции выявлена активация гена *BCL2* на I стадии и последовательное восстановление уровня экспрессии генов *BCL2L11/BIM* и *DAPK1* от I стадии к IV стадии онкологического процесса ($p = 0,051$, $p = 0,085$, $p = 0,062$, соответственно). Показано статистически значимое ($p \leq 0,05$) снижение экспрессии гена *BCL2*, а также увеличение уровня экспрессии генов *DAPK1* и *TP53* в образцах опухоли, прорастающей капсулу почки (Т3-4), по сравнению с опухолями находящимися в паренхиме почки (Т₁). Получены статистически значимые данные ($p \leq 0,01$) об увеличении уровня экспрессии по медиане для генов *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1* в образцах с лимфогенным метастазированием в 22,22 и 46,82 раза, соответственно. Показано на уровне тенденции ($0,1 < p \leq 0,05$) восстановление экспрессии гена *DAPK1* в образцах опухоли, имеющих метастазы в другие органы и ткани организма.

Заключение. Проведенное исследование подтверждает стадийно-зависимую дерегуляцию апоптоза при раке почки с преобладанием антиапоптотических сигналов уже на ранних стадиях. Полученные данные обосновывают будущие исследования применения селективных ВНЗ-миметиков с учетом особенностей экспрессии апоптоз – ассоциированных генов при раке почки.

Ключевые слова: экспрессия; апоптоз; почечно-клеточный рак; рак почки

Для цитирования: Якубенко Я.А., Смирнова А.А., Логинов В.И., Бурденный А.М., Лялина И.Ю., Казубская Т.П., Пронина И.В. Аберрантная экспрессия шести генов системы апоптоза при раке почки. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 57–69

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.57-69

Участие авторов: Проведение исследования уровней экспрессии генов – Якубенко Я.А., Смирнова А.А.; концепция и дизайн исследования, подготовка иллюстративного материала, проведение исследования – Пронина И.В.; статистическая обработка результатов – Пронина И.В., Лялина И.Ю.; написание и редактирование статьи, дизайн таблиц – Логинов В.И.; редактирование статьи – Бурденный А.М., Лялина И.Ю.; сбор и описание материала – Казубская Т.П.; общее руководство исследованием – Пронина И.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Пронина Ирина Валерьевна, e-mail: zolly_sten@mail.ru

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 122041400080-0).

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Авторы благодарят сотрудников НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина за сбор и клинко-гистологическую характеристику образцов светлоклеточного рака почки.

Поступила 08.09.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Yakubenko Ya.A.¹, Smirnova A.A.¹, Loginov V.I.², Burdenny A.M.^{2,3}, Lyalina I.Yu.¹, Kazubskaya T.P.⁴,
Pronina I.V.^{1,3}

Aberrant expression of six apoptosis genes in kidney cancer

¹State University of Education, Faculty of Natural Sciences, Department of Physiology, Human Ecology and Biomedical Knowledge, 10A-2 Radio st., Basmanny mun. dist., Moscow, 105005, Russian Federation;

²Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russian Federation;

³Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, 4 Kosygina str., Moscow, 119334, Russian Federation;

⁴Blokhin National Medical Research Center of Oncology, 23 Kashirskoe highway, Moscow, 115522, Russian Federation

Background. Kidney cancer remains one of the most aggressive and difficult to treat malignant tumors. Its characteristic asymptomatic course leads to late diagnostics at stages where standard therapy methods lose their effectiveness, which requires the development of new therapeutic strategies targeting key molecular mechanisms of oncogenesis. One of these mechanisms is a violation of the regulation of apoptosis – programmed cell death, which normally serves as a natural barrier to uncontrolled proliferation and survival of damaged cells. Studying the expression of apoptosis regulatory genes not only reveals the mechanisms of carcinogenesis, but also opens up ways for developing new therapeutic approaches, such as the use of BH3-mimetics – small molecules that selectively inhibit anti-apoptotic proteins of the Bcl-2 family. **Aim.** This work was to evaluate changes in the expression of key apoptotic genes (*DAPK1*, *BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, and *TP53*) in tumor tissue compared to the expression of these genes in adjacent histologically normal kidney tissue.

Methods. In the study, we used paired samples of surgical biopsies (tumor / adjacent histologically normal tissue) from 45 patients diagnosed with clear cell renal cell carcinoma, which were collected and clinically characterized at the Research Institute of Clinical Oncology, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. RNA was isolated using a standard method. The expression levels of the studied genes were analyzed using reverse transcription followed by real-time PCR on CFX 96 Bio-Rad thermal cycler. Statistical processing of the results was performed using the ANOVA test after assessing the normality of distribution in the Shapiro-Wilk test in the CFX Maestro 2.3 Bio-Rad software.

Results. A significant ($p \leq 0.05$) decrease in expression by 1.58–2.63 times by the median of *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *DAPK1* and *TP53* genes was shown in tumor tissue compared to adjacent histologically normal kidney tissue. Analysis of the expression of the apoptotic genes depending on the clinical and pathomorphological parameters showed that the studied genes demonstrated stage-dependent dynamics in kidney cancer. At the trend level, activation of the *BCL2* gene was revealed at stage I and consistent restoration of the expression level of the *BCL2L11/BIM* and *DAPK1* genes was shown from stage I to stage IV of the oncological process ($p = 0.051$, $p = 0.085$, $p = 0.062$, respectively). A significant ($p \leq 0.05$) decrease in the expression of the *BCL2* gene, as well as an increase in the expression level of the *DAPK1* and *TP53* genes in samples of tumors invading the renal capsule (T_{3-4}) was shown compared to tumors located in the renal parenchyma (T_1). Statistically significant data ($p \leq 0.01$) were obtained on an increase in the expression level by the median for the *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1* genes in samples with lymphogenous metastasis by 22.22 and 46.82 times, respectively. The restoration of *DAPK1* gene expression in tumor samples with metastases to distant organs and tissues of the body was shown at the trend level ($0.1 < p \leq 0.05$).

Conclusion. The study confirms stage-dependent deregulation of apoptosis in kidney cancer with a predominance of anti-apoptotic signals at the early stages. The data obtained substantiate future studies of the use of selective BH3-mimetics taking into account the features of the expression of apoptosis-associated genes in kidney cancer.

Key words: expression; apoptosis; renal cell carcinoma; kidney cancer

For citation: Yakubenko Ya.A., Smirnova A.A., Loginov V.I., Burdenny A.M., Lyalina I.Yu., Kazubskaya T.P., Pronina I.V. Aberrant expression of six genes of the apoptotic system in kidney cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 57–69

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.57-69

Authors' participation: conducting the expression study – Yakubenko Ya.A., Smirnova A.A.; concept and design of the study, preparation of illustrative material, conducting the study – Pronina I.V.; statistical processing of the results – Pronina I.V., Lyalina I.Yu.; writing and editing the article, designing tables – Loginov V.I.; editing the article – Burdenny A.M., Lyalina I.Yu.; collection and description of the material – Kazubskaya T.P.; general supervision of the study – Pronina I.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Information about the authors:

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

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

Kazubskaya T.P., <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>

Pronina I.V., <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>

For correspondence: Pronina Irina Valerievna, e-mail: zolly_sten@mail.ru

Funding. The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. 122041400080-0)

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

Acknowledgments. The authors thank the staff of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology for the collection and clinical and histological characterization of RCC samples.

Received 08.09.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Рак почки (РП) остается одной из наиболее агрессивных и сложно поддающихся терапии злокачественных опухолей, что во многом связано с его частым бессимптомным течением и поздней диагностикой. РП представляет собой гетерогенную группу злокачественных солидных опухолей, развивающихся из различных типов клеток почечной паренхимы. Согласно данным официальной статистики, РП стабильно занимает 10-е место в структуре онкологической заболеваемости в России, а средний возраст больных с впервые в жизни установленным диагнозом рак почки у мужчин составляет 65,7 года, у женщин – 64,7 года [1]. Смертность в период первого года наблюдения – около 20% [2]. В 75–90% случаев выявляемые опухоли являются почечно-клеточными карциномами, среди которых 80% относятся к светлоклеточному почечно-клеточному раку (скПКР). Примерно у 35% больных с локализованной формой болезни в течение наблюдения развиваются отдаленные метастазы. При этом 5-летняя выживаемость больных скПКР с метастазами составляет менее 15% [3]. Для данной опухоли характерно преимущественно гематогенное распространение с частым поражением легких, костей, головного мозга, печени, надпочечников и лим-

фатических узлов. Особенностью скПКР является способность к прямой инвазии в крупные сосуды, включая почечные вены и нижнюю полую вену. Примечательно, что метастатический потенциал сохраняется независимо от размеров первичного очага [4].

Макроскопически светлоклеточные карциномы представляют собой плотные желтоватые образования коркового слоя почки, часто содержащие участки кистозных изменений, кровоизлияний и некрозов. Характерный желтый цвет обусловлен накоплением липидов – холестерина, нейтральных жиров и фосфолипидов. Эти опухоли обычно имеют четкие границы, хотя могут демонстрировать как экспансивный рост с формированием фиброзной капсулы или псевдокапсулы, так и инфильтрацию окружающих тканей. На микроскопическом уровне отмечается светлая, прозрачная цитоплазма и хорошо различимые клеточные мембраны (**Рис. 1а/а**).

На молекулярном уровне для скПКР характерно нарушение экспрессии генов, регулирующих метаболизм и гомеостаз клетки, в том числе одной из разновидностей программируемой клеточной гибели – апоптоза, что ведет к росту опухоли, активации ангиогенеза и метастазированию [5]. Способность опухолевых клеток уклоняться от апоптоза считается ключевой особенностью канцерогенеза, обеспечивающей их устойчивость к тера-

печивительным воздействиям и способствующей прогрессии заболевания [6].

В основе этого лежит дисбаланс в экспрессии про- и антиапоптотических белков семейства Bcl-2, нарушения в каскаде активации каспаз, а также аномалии в сигнальных путях, связанных с рецепторами смерти [7]. Являясь главными регуляторами апоптоза, белки семейства Bcl-2 функционально разделяются на две подгруппы с диаметрально противоположными ролями. Одни представители данного семейства проявляют проапоптотические свойства, другие препятствуют функциональной активности проапоптотических белков, тем самым проявляя антиапоптотическую активность (рис. 16/б). При этом следует отметить, что BH3-домен представляет собой консервативный структурный элемент, характерный для всех представителей семейства Bcl-2. Этот домен выступает центральным звеном в формировании взаимодействия между проапоптотическими и ан-

тиапоптотическими белками [8]. Белки семейства Bcl-2 управляют митохондриальным путем гибели клеток, определяя баланс между выживанием и гибелью через взаимодействие про- и антиапоптотических факторов. DAPK1 интегрирует сигналы стресса, модулируя как апоптоз, так и аутофагию, что делает его важным элементом в предотвращении неконтролируемой пролиферации. TP53, в свою очередь, выступает центральным координатором ответа на повреждения ДНК, останавливая клеточный цикл для репарации или инициируя гибель при необратимых нарушениях (рис. 1в/с).

Ген BCL2 (B-cell lymphoma 2) кодирует одноименный антиапоптотический белок семейства Bcl-2, основная функция которого заключается в стабилизации наружной митохондриальной мембраны. Он предотвращает образование пор в мембране, блокируя высвобождение цитохрома C и других апоптогенных факторов, тем самым сохраняя жизнеспособность клетки [9]. Сверхэкспрессия гена

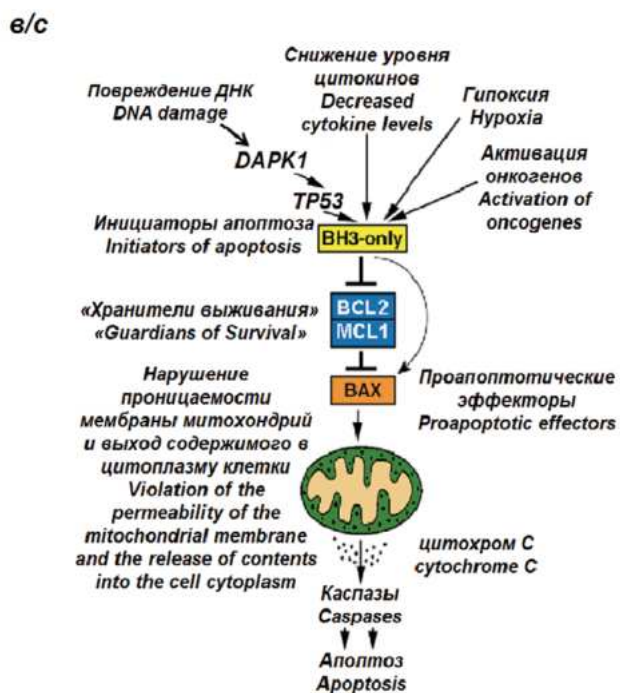
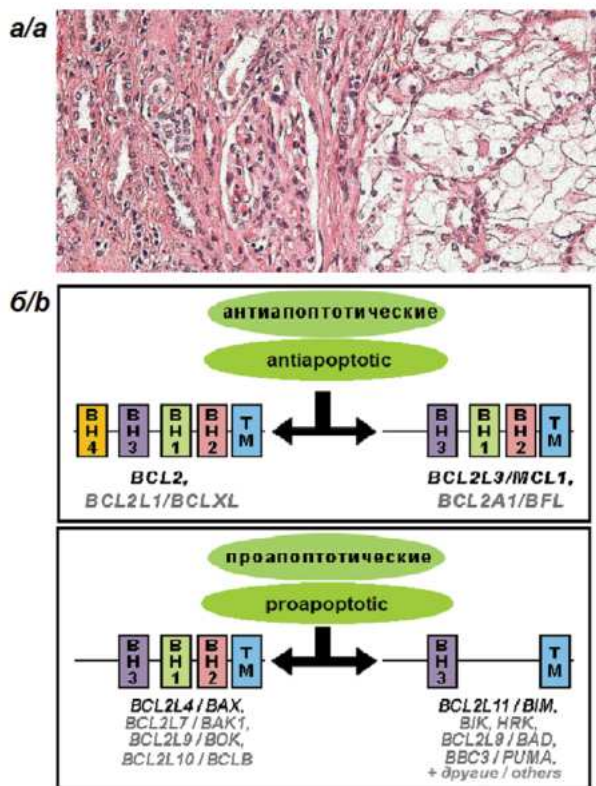


Рис. 1. а: Микрофотография гистологического среза светлоклеточного рака почки (окраска гематоксилином и эозином; увеличение в 100 раз); б: Про- и антиапоптотические члены семейства BCL2 (черным цветом отмечены гены, исследуемые в работе); в: Показано, как семейство белков Bcl-2 контролирует программируемую смерть клеток.

Fig. 1. a: Micrograph of histological section of clear cell renal cell carcinoma (stained with hematoxylin and eosin; magnification 100x); b: Pro- and anti-apoptotic members of the BCL2 family (genes studied in the work are marked in black); c: The scheme of control of programmed cell death by proteins of the Bcl-2 family.

MCL1 (Myeloid Cell Leukemia 1) ассоциирована с агрессивным фенотипом опухоли, устойчивостью к апоптозу и резистентностью к химиотерапии. В опухолевых клетках *MCL1* часто становится «зависимым фактором выживания», что делает его привлекательной мишенью для терапии [10]. В то же время, проапоптотический белок *BAX* непосредственно участвует в образовании пор во внешней митохондриальной мембране, вследствие чего происходит увеличение её проницаемости. Ген *BIM*, в свою очередь, кодирует белок, регулирующий активность *BAX*, оказывая на него активирующее действие. Кроме того, он обладает способностью взаимодействовать с антиапоптотическими членами семейства *BCL2*, тем самым инактивируя их и способствуя гибели клетки [11]. Ассоциированная со смертью протеинкиназа 1 (*DAPK1*) принадлежит к семейству серин/треониновых (Ser/Thr) киназ, обладающих функциями подавления опухолевого роста и регуляции ключевых клеточных процессов, включая апоптоз и аутофагию. *DAPK1* выступает ключевым медиатором проапоптотических путей, реагируя на широкий спектр стимулов – от внутренних повреждений (например, повреждение ДНК) до внешних сигналов (таких как TNF- α или снижение уровня цитокинов) [12]. Ген *TP53* кодирует белок p53 – ключевой регулятор клеточного цикла, репарации ДНК и апоптоза. Этот ген относится к классу супрессоров опухолей, а его продукт, белок p53, часто называют «стражем генома» за способность предотвращать накопление генетических повреждений. Белок p53 интегрирует сигналы клеточного стресса, балансируя между временной остановкой цикла для «починки» ДНК, запуском программируемой гибели при необратимых повреждениях и усилением систем восстановления, что в совокупности обеспечивает защиту организма от злокачественной трансформации [13].

Таким образом, понимание молекулярных основ работы генов системы апоптоза формирует фундаментальную базу для разработки инновационных терапевтических стратегий. Нацеливание на специфические белки, такие как антиапоптотические члены семейства *Bcl-2* или киназные домены *DAPK1*, открывает пути к созданию препаратов, восстанавливающих естественные механизмы гибели в злокачественных клетках. Одновременно мониторинг экспрессии этих генов в клинической практике способствует персонализации лечения, повышая его эффективность с учетом индивидуальных особенностей опухоли.

Целью настоящей работы являлась оценка изменения экспрессии ключевых генов апоптоза (*DAPK1*, *BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *TP53*) в опухолевой ткани по сравнению с экспрессией этих генов в прилегающей гистологически нормальной ткани почки.

Методика

Материалом для исследования послужили парные образцы (опухоль/прилежащая гистологически нормальная ткань почки) из операционного материала 45 пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. В отделе патоморфологии опухолей данного исследовательского центра все опухоли были морфологически охарактеризованы на основании критериев классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [14]. Клинико-морфологические характеристики образцов скПКР представлены в **таблице 1**.

Исследование проводилось с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основными законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.93 № 2288) и с разрешения локального этического комитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» на основании соглашения от 20.01.2020 № 20/1 о взаимном сотрудничестве с ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Забор ткани производили только у больных, не получавших до операции лучевую, гормональную или химиотерапию. Полученный биологический материал помещали в жидкий азот и хранили при -70°C . Высокомолекулярную суммарную РНК выделяли с помощью модифицированного авторами метода гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформенной экстракции [15, 16]. Оценку качества и концентрации нуклеиновых кислот осуществляли по оптической плотности на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 («Thermo Fisher Scientific», США).

Для оценки уровня экспрессии исследуемых генов РНК, выделенная из биологических образцов, была использована для проведения реакции обратной транскрипции с помощью набора реактивов MMLV RT kit # SK021 (ЗАО «Евроген», Россия). Синтезированную кДНК использовали в качестве матрицы при проведении ПЦР с детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ) при помощи набора qPCRmix-HS SYBR (ЗАО «Евроген», Россия) на амплификаторе BioRad CFX96 qPCR System («Bio-Rad», США). Последовательности праймеров и условия проведения ПЦР для генов *DAPK1*, *BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *TP53*, а также генов *B2M* и *ACTB*, являющихся эндогенными внутренними контролями, относительно которых проводили нормирование продуктов амплификации исследуемых генов, приведены в **таблице 2**. В качестве отрицательно контроля использовали пробы без кДНК. Результаты ПЦР в реальном времени были проанализированы по ме-

Таблица 1 / Table 1

Клинико-патоморфологические параметры больных скПКР
Clinical and pathomorphological parameters of patients with ccRCC

Клинико-патоморфологический параметр Clinical and pathomorphological parameters		Всего образцов Total number of samples n=45, (%)
Стадия опухолевого процесса Stage of cancer process	I	18, (40,0)
	II	12, (26,7)
	III	10, (22,2)
	IV	5, (11,1)
Размер первичной опухоли, (Т) Primary tumor size (T)	T1	20, (44,45)
	T2	10, (22,22)
	T3-T4	15, (33,33)
Лимфогенное метастазирование, (N) Lymphogenous metastasis (N)	N0	36, (83,72)
	N1	5, (11,63)
	N2	2, (4,65)
Удаленное метастазирование (M) Distant metastasis (M)	M0	41, (91,11)
	M1	4, (8,89)

тоду определения величины $\Delta\Delta C_T$ [17]. ПЦР для каждого образца и гена проводили в трех повторах.

Статистический анализ. Статистическая обработка данных проводилась с использованием специализированного программного обеспечения CFX Maestro версии 2.3 (Bio-Rad, США), предназначенного для анализа и визуализации результатов ПЦР в реальном времени и соответствующего международным стандартам биоинформатики. В ходе анализа были выполнены расчеты ANOVA и MANOVA для оценки значимости различий в экспрессии генов между группами, а также тест Шапиро-Уилка для проверки нормальности распределения данных. Применение программного обеспечения CFX Maestro версии 2.3 позволило обеспечить высокую точность расчетов, воспроизводимость результатов и наглядную визуализацию данных, что полностью соответствует современным требованиям доказательной медицины. Построение диаграмм и расчет дополнительных данных, таких как определение медианы, выполнены в программе Microsoft Excel 2010, что обеспечило наглядную визуализацию данных и базовую статистическую оценку. Различия считались значимыми при $p \leq 0,05$.

Таблица 2 / Table 2

Нуклеотидные последовательности праймеров и параметры количественной ПЦР с детекцией в реальном времени
Oligonucleotide sequences and qPCR-RT parameters

Ген Gene	Структура праймеров (5'-3') Primer Structure (5'-3')	$T_{отж}$, °C $T_{ан}$, °C	Размер продукта, п.н. Product size, bp
<i>BCL2</i>	F: AATGTGTGTGGAGAGCGTCAA R: AGGAGAAATCAAACAGAGGC	60	172
<i>BCL2L3/MCL1</i>	F: TCAGCGACGGCGTAACAAACT R: ACAAACCCATCCCAGCCTCTT	56	187
<i>BCL2L4/BAX</i>	F: CCCGAGAGGTCTTTTCCGAG R: CCAGCCCATGATGGTTCTGAT	62	155
<i>BCL2L11/BIM</i>	F: TGCCAGGCCTTCAACCACTATCTCA R: GGGTGGTCTTCGGCTGCTTGGTAAT	60	176
<i>DAPK1</i>	F: CAGTTTGC GGTTGTGAAGAA R: CCTGCAACGAGTTCCAAGAT	60	227
<i>TP53</i>	F: GGAGCCGCAGTCAGATCCTAG R: ACGGCAAGGGGGACAGAACG	60	104
<i>B2M</i>	F: TGACTTTGTACAGCCCAAGATAG R: CAAATGCGGCATCTTCAAACCTC	60	81
<i>ACTB</i>	F: GTGGGAGTGGGTGGAGGC R: TCAACTGGTCTCAAGTCAGTG	60	127

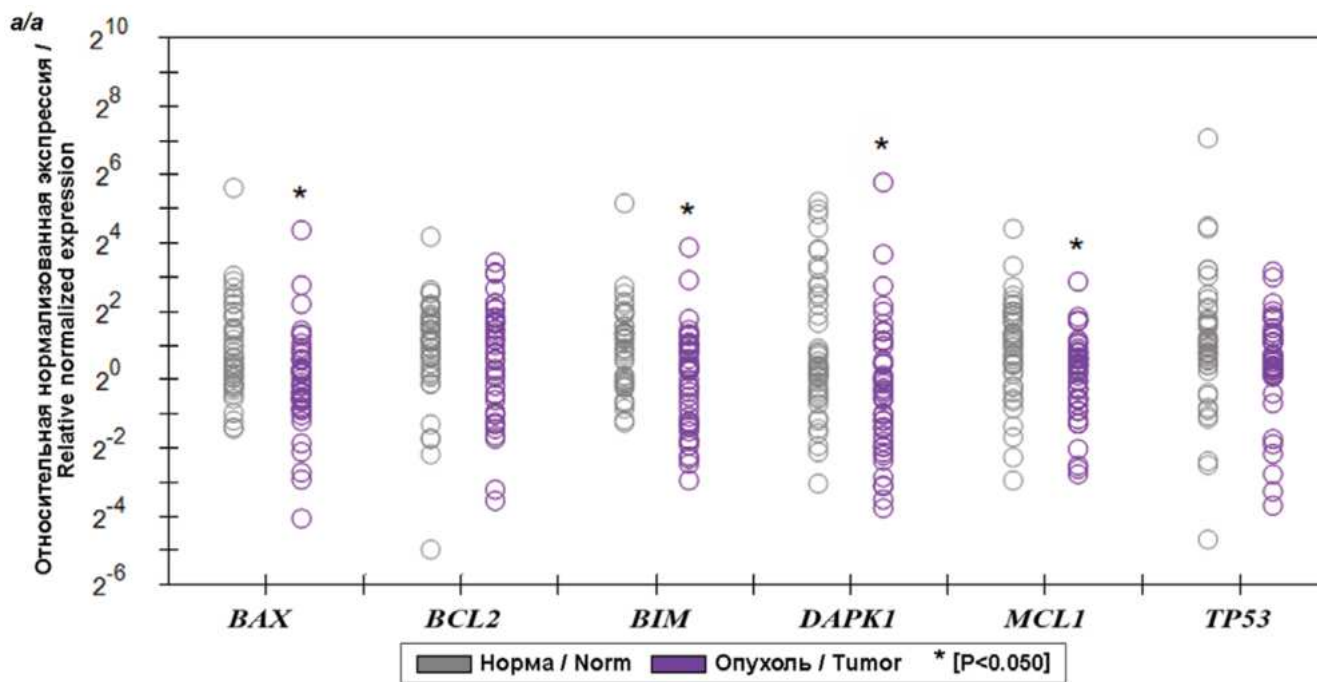
Результаты

В ходе работы были получены и проанализированы данные об изменении уровней экспрессии ряда генов системы апоптоза (*BCL2*, *BCL2L11/VIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *DAPK1* и *TP53*) в опухолевой ткани по сравнению с экспрессией этих генов в прилежащей гистологически нормальной ткани почки. Экспрессия генов *BAX*, *VIM*, *DAPK1*, *MCL1* и *TP53* достоверно снижалась в 1,58-2,63 раза по медиане $p \leq 0,05$ (рис. 2а/а и 2б/б).

Анализ экспрессии генов системы апоптоза в зависимости от клинико-патоморфологических параметров показал, что исследованные гены демонстрируют стадийно-зависимую динамику при раке почки. На уров-

не тенденции выявлена активация гена *BCL2* на I стадии и последовательное восстановление уровня экспрессии генов *BCL2L11/VIM* и *DAPK1* от I стадии к IV стадии онкологического процесса ($p = 0,051$, $p = 0,085$, $p = 0,062$, соответственно) (табл. 3).

Анализ экспрессии генов системы апоптоза в зависимости от размера и распространенности опухоли (параметр «Т») выявляет гетерогенную динамику: при общем снижении активности наблюдаются выраженные различия в степени подавления отдельных генов (табл. 4). Показано статистически значимое ($p \leq 0,05$) снижение экспрессии гена *BCL2*, а также увеличение уровня экспрессии генов *DAPK1* и *TP53* в образцах опухоли, прорастающей капсулу почки (T₃₋₄), по сравнению с опухолями, находящимися в паренхиме почки (T₁).



б/б

Ген / Gene	<i>BAX</i>	<i>BCL2</i>	<i>VIM</i>	<i>DAPK1</i>	<i>MCL1</i>	<i>TP53</i>
Изменение уровня экспрессии / Change in expression level	-1,954	1,002	-2,149	-2,635	-1,603	-1,585

Рис. 2. а: Изменение уровней экспрессии генов системы апоптоза в опухоли по сравнению с нормой при раке почки (Серым показан уровень экспрессии в норме, фиолетовым – в опухоли. По оси ординат отложен нормализованный на референсные гены уровень экспрессии (Log2)); б: Числовые значения изменений экспрессии генов системы апоптоза в опухолевой ткани по сравнению с нормой при раке почки.

Fig. 2. a: Changes in the expression levels of apoptotic genes in kidney tumors compared to normal kidney tissue (The expression level in normal kidney tissue is shown in gray, and in tumors in purple. The expression level (Log2) normalized to reference genes is plotted on the ordinate axis); б: Numerical values of changes in the expression of apoptotic genes in tumor compared to normal kidney tissue.

В результате анализа экспрессии генов системы апоптоза (*BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *DAPK1* и *TP53*) в зависимости от наличия лимфогенного метастазирования (параметр «N») и/или метастазирования в другие органы (параметр «M») получены ста-

статистически значимое ($p \leq 0,01$) восстановление экспрессии гена *BCL2L11/BIM* в образцах опухоли, имеющих метастазы в другие органы и ткани организма (табл. 5). Для гена *DAPK1* изменение экспрессии отмечено на уровне тенденции ($0,1 < p \leq 0,05$).

Таблица 3 / Table 3

Изменение уровней экспрессии генов системы апоптоза в опухолевой ткани по сравнению с нормой в зависимости от стадии рака почки

Changes in the expression levels of apoptotic genes in tumor tissue compared to the norm depending on the stage of kidney cancer

Ген / Gene Стадия / Stage	<i>BCL2</i>	<i>BAX</i>	<i>BIM</i>	<i>DAPK1</i>	<i>MCL1</i>	<i>TP53</i>
I	1,32*	- 2,28	- 2,46	- 4,74	- 1,60	- 1,78
II	- 1,38	- 1,80	- 3,13	- 2,63	- 1,94	- 0,23
III	- 0,49	- 1,43	- 2,16	- 1,85	- 1,49	- 1,60
IV	- 1,21	- 1,97	- 1,13	- 1,35	- 1,40	- 1,41

* Жирным шрифтом выделены гены, показавшие значимость результатов на уровне тенденции ($0,1 < p \leq 0,05$).

* Genes that showed significance of results at the trend level ($0,1 < p \leq 0,05$) are highlighted in bold.

статистически значимые данные ($p \leq 0,01$) об увеличении уровня экспрессии по медиане для генов *BCL2L4/BAX* и *BCL2L3/MCL1* в образцах с лимфогенным метастазированием в 22,22 и 46,82 раза, соответственно. Показано

Обсуждение

Статистически значимое ($p \leq 0,05$) снижение уровня экспрессии ключевых проапоптотических генов (*BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *DAPK1*) и антиапоптоти-

Таблица 4 / Table 4

Уровни экспрессии генов системы апоптоза в клетках опухоли по сравнению с нормальными клетками почки в зависимости от размера опухоли

Expression levels of apoptotic system genes in tumor cells compared with normal kidney cells depending on tumor size

Ген / Gene Параметр / Parameter	<i>BCL2</i>	<i>BAX</i>	<i>BIM</i>	<i>DAPK1</i>	<i>MCL1</i>	<i>TP53</i>
T1	1,20*	- 2,01	- 2,22	- 4,74	- 1,60	- 1,58
T2	- 0,02	- 2,16	- 3,09	- 2,63	- 1,84	- 1,53
T3-T4	- 1,53	- 2,02	- 1,82	- 1,51	- 1,54	- 0,33

* Жирным шрифтом выделены гены, показавшие статистическую значимость ($p \leq 0,05$).

* Genes that showed statistical significance ($p \leq 0,05$) are highlighted in bold.

Таблица 5 / Table 5

Уровни экспрессии генов системы апоптоза в ткани опухоли по сравнению с прилегающей нормальной тканью при отсутствии и при наличии метастатических поражений разной локализации при раке почки

Expression levels of apoptotic system genes in tumor tissue compared to adjacent normal tissue in the absence and presence of metastases of different localizations in kidney cancer

Ген / Gene Параметр / Parameter	BCL2	BAX	BIM	DAPK1	MCL1	TP53
N0	- 1,23	- 2,10*	- 2,11	- 2,90	- 1,71	- 1,61
N1	1,18	- 0,09	- 2,94	- 2,94	- 1,37	- 1,47
N2	1,63	- 1,53	- 1,80	- 2,40	- 0,04	- 1,56
M0	- 1,16	- 2,23	- 2,11	<u>- 3,91**</u>	- 1,65	- 1,58
M1	- 1,26	- 1,98	- 0,06	<u>- 1,33</u>	- 1,89	- 1,45

* Жирным шрифтом выделены гены, показавшие статистическую значимость ($p \leq 0,01$). ** Подчеркиванием выделены гены, показавшие значимость результатов на уровне тенденции ($0,1 < p \leq 0,05$).

* Genes that showed statistical significance ($p \leq 0.01$) are highlighted in bold. ** Genes that showed significance of results at the trend level ($0.1 < p \leq 0.05$) are highlighted in underlined.

ческого гена *BCL2L3/MCL1* в опухолевой ткани почки по сравнению с нормой (Рис. 2а/а и 2б/б) свидетельствует о глубоком нарушении регуляции апоптоза в процессе канцерогенеза. Отсутствие значимых изменений в экспрессии *BCL2* на фоне подавления других генов системы указывает на его компенсаторную роль в поддержании выживаемости клеток даже при общем дисбалансе в пользу антиапоптотических сигналов. Все вышеперечисленное, а также снижение уровня экспрессии гена *TP53* более чем в 1,5 раза, возможно, создает предпосылки для устойчивости опухолевых клеток к апоптозу, что способствует их неконтролируемой пролиферации и прогрессии заболевания. В более ранних международных исследованиях также была отмечена aberrantная экспрессия данных генов при скПКР [18, 19].

В результате анализа изменения уровня экспрессии белок-кодирующих генов *BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *DAPK1* и *TP53* в образцах первичных опухолей скПКР с учётом клинико-патоморфологических особенностей опухоли, таких как стадия опухолевого процесса, размер опухоли, наличие лимфогенного и отдаленного метастазирования, были показаны специфические изменения, отражающие динамическую перестройку механизмов программируемой гибели клеток

в ходе опухолевой прогрессии (табл. 3). На I стадии рака почки наблюдается выраженное подавление экспрессии пяти генов системы апоптоза (*BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *DAPK1* и *TP53*), что указывает на раннюю дестабилизацию механизмов программируемой гибели клеток. Наиболее значимое снижение показано для гена-супрессора *DAPK1*, что, по-видимому, отражает нарушение в проведении сигналов активации апоптоза в клетке [12]. При этом *MCL1* и *TP53*, участвующие в контроле клеточного цикла, теряют свою функциональность, усугубляя дисбаланс. Однако ген *BCL2* демонстрирует повышенную экспрессию, что позволяет предположить его роль в компенсаторном поддержании выживаемости опухолевых клеток [20]. На II стадии продемонстрировано усиленное подавление гена *BIM*, что приводит к дисфункции митохондриального пути апоптоза. Снижение экспрессии *BCL2*, контрастирующее с его повышением на предыдущей стадии, позволяет предположить переключение опухолевых клеток на иные пути поддержания выживаемости, снижая зависимость от классических антиапоптотических факторов. К IV стадии опухолевой прогрессии наблюдается частичное восстановление экспрессии генов *BIM* и *DAPK1*, что, возможно, связано с процессами, вовлеченными в способность к метаста-

зированию опухолевых клеток при скПКР [21, 22]. Экспрессия антиапоптотических генов *BCL2* и *MCL1*, и проапоптотических генов *BAX* и *TP53* продолжает оставаться сниженной. Полученные данные свидетельствуют о стадийно-зависимом характере нарушений апоптоза при развитии скПКР. По мере прогрессирования опухоли происходит неравномерное изменение активности компонентов апоптотической системы: снижение экспрессии отдельных генов сопровождается параллельной стабилизацией или даже частичным восстановлением активности других генов, формируя своеобразный баланс регуляторных процессов. Данная динамика иллюстрирует постепенное усложнение механизмов выживания опухолевых клеток – от тотального подавления апоптоза на начальных стадиях до избирательной регуляции системы на терминальных этапах заболевания, что свидетельствует о выраженной адаптивной способности злокачественных клеток.

Анализ экспрессии генов системы апоптоза в зависимости от размера и распространенности опухоли (параметр «Т») выявил гетерогенную динамику в изменении экспрессии исследованных генов (табл. 4). На начальных этапах (T_1 – опухоль ≤ 7 см в наибольшем измерении, не выходит за пределы почки) выраженное подавление экспрессии ($p < 0,05$) наблюдается у проапоптотического гена *DAPK1* и гена *TP53*, что указывает на раннее нарушение механизмов, запускающих клеточную гибель. В то же время повышенная экспрессия гена *BCL2* ($p < 0,05$) способствует выживанию раковых клеток за счёт усиления антиапоптотической защиты. В последующей стадии (T_2 – опухоль ≥ 7 см в наибольшем измерении, но не выходит за пределы почки) экспрессия гена *BIM* достигает минимальных значений, при этом уровень *BCL2* снижается до почти нормального. Такое сочетание изменений отражает попытку компенсаторной перестройки клеточных механизмов, но низкий уровень экспрессии гена *BIM* препятствует запуску программы клеточной гибели. При прорастании опухоли капсулы почки и распространении в крупные вены или периферические ткани (T_3 – T_4) наблюдается подавление экспрессии генов *BCL2* и *MCL1*. Это, в совокупности с устойчивым снижением экспрессии проапоптотических генов *BAX* и *BIM*, приводит к нарушению баланса, необходимого для запуска клеточной смерти. Одновременно отмечается значимое восстановление экспрессии генов *DAPK1* и *TP53*, что может свидетельствовать о попытках клеток восстановить контроль над механизмами регуляции клеточного цикла и стрессовых ответов. Таким образом, наблюдаемое нами смещение акцентов в экспрессионных профилях исследуемых генов отражает сложные механизмы адаптивной перестройки метаболических путей, направ-

ленные на поддержание жизнеспособности опухоли и создание условий для ее неконтролируемой пролиферации.

Анализ динамики экспрессии генов системы апоптоза при метастазировании рака почки (в регионарные лимфатические узлы и отдаленные органы) демонстрирует эволюцию молекулярных взаимодействий. Адаптация опухолевых клеток к различным этапам прогрессии сопровождается перераспределением про- и антиапоптотических сигналов (табл. 5). При регионарном метастазировании (N_1 – метастазами поражены 1–2 близлежащих лимфатических узла) наблюдается гетерогенный профиль экспрессии генов апоптоза, что отражает адаптивность опухолевых клеток на ранних этапах метастатической прогрессии. Повышение уровня *BCL2* создает основу для подавления программируемой клеточной гибели. Восстановление экспрессии гена *BAX* указывает на сохранение некоторой способности клеток к активации программируемой гибели. Однако другие проапоптотические гены, такие как *BIM* и *DAPK1*, остаются значительно подавленными, что в совокупности ограничивает возможности митохондриального пути апоптоза [23]. При прогрессировании до стадии N_2 , характеризующейся множественным поражением регионарных лимфоузлов, можно отметить, что уровень экспрессии антиапоптотического гена *MCL1* практически нормализуется, тогда как экспрессия гена *BCL2* значительно повышена. Это свидетельствует о перераспределении антиапоптотических приоритетов, где клетки, проявляя пластичность, активируют альтернативные пути выживания [9]. В случае опухолей с отдалёнными метастазами ($M1$) наиболее выраженные изменения затрагивают проапоптотические гены *BIM* и *DAPK1*. Одновременное восстановление их экспрессии при стабильно низком уровне экспрессии остальных генов (*BCL2*, *BAX*, *MCL1*, *TP53*) подчеркивает избирательность нарушений в системе апоптоза. Такая динамика согласуется с концепцией адаптации опухоли к метастатическому микроокружению, где выживание клеток обеспечивается за счет комбинации системного подавления апоптоза и активации неканонических путей.

Полученные данные, несмотря на ограниченный размер выборки, демонстрируют сложный и неоднородный баланс про- и антиапоптотических сигналов, способствующих выживанию и агрессивности опухолевых клеток. Это подчёркивает необходимость разработки терапевтических стратегий, направленных на коррекцию дисфункции проапоптотических генов и ингибирование *BCL2*, с адаптацией к особенностям регуляции апоптоза на разных стадиях заболевания для преодоления резистентности к терапии [20].

Молекулярные механизмы взаимодействий внутри белков семейства Bcl-2 стали основой для разработки таргетных терапевтических стратегий [11]. В условиях избытка «BH3-only» белков, например Bim, антиапоптотические представители семейства, связывая их, индуцируют высвобождение Bax/Bak. Малые молекулы – «BH3-only» активаторы, тем самым усиливают проапоптотические сигналы [24]. Однако разработка селективных активаторов, минимизирующих токсичность для здоровых тканей, остается задачей доклинических исследований.

Более успешной стратегией стало ингибирование антиапоптотических членов семейства Bcl-2 с помощью BH3-миметиков – соединений, имитирующих структуру BH3-домена. Селективность подхода объясняется повышенной зависимостью опухолей от антиапоптотических белков, что снижает риски повреждения нормальных тканей [20]. В фокусе научных исследований находятся пять антиапоптотических членов семейства Bcl-2: Bcl-1, Bcl-w, Bcl-xL, Mcl-1 и Bcl-2. Каждый из этих белков участвует в поддержании жизнеспособности злокачественных клеток, что определяет их как важные мишени для BH3-миметиков. Однако эффективность разработки и внедрения ингибиторов для данных мишеней существенно различается, отражая сложности как в создании специфичных молекул, так и в преодолении резистентности опухолей [25]. Так, первые BH3-миметики (ABT 737, Навитоклак), помимо Bcl-2, также ингибировали Bcl-w и Bcl-xL, и их применение ограничивали побочные эффекты, включая тромбоцитопению из-за подавления Bcl-xL. Прорывом стал Венетоклак (ABT-199), селективно связывающийся с Bcl-2 благодаря структурным особенностям, что минимизировало взаимодействие с Bcl-xL [26].

Опухолевые клетки, сталкиваясь с онкогенным стрессом, увеличивают экспрессию как про-, так и антиапоптотических белков. Селективное давление формирует клоны с балансом, обеспечивающим выживание. BH3-миметики, высвобождая проапоптотические факторы, подталкивают клетки с избытком таких белков к гибели. Однако терапия может затрагивать и чувствительные нормальные клетки (например, гематологические), ограничивая безопасность подхода. BH3-миметики демонстрируют эффективность при гематологических опухолях, однако их потенциал в терапии солидных новообразований, включая рак почки, требует дальнейшего изучения. Учитывая выявленное на разных стадиях рака почки подавление проапоптотических генов и вариабельность экспрессии антиапоптотических генов, применение BH3-миметиков выглядит особенно перспективным. На ранних стадиях заболевания стабильная экспрессия *BCL2*, сочетающаяся со снижением *MCL1*, формирует условия для

селективного ингибирования *BCL2*, тогда как при метастазировании усиление его сигналов может повысить терапевтическую эффективность и преодолеть механизмы резистентности. Однако вариабельность экспрессии некоторых проапоптотических генов (*BAX*, *BIM*), наблюдаемая в ходе прогрессирования заболевания, указывает на необходимость комбинирования BH3-миметиков с агентами, воздействующими на альтернативные механизмы клеточного выживания [27].

Заключение

В результате проведенного исследования был определен профиль экспрессии генов (*DAPK1*, *BCL2*, *BCL2L11/BIM*, *BCL2L4/BAX*, *BCL2L3/MCL1*, *TP53*) системы апоптоза при почечно-клеточной карциноме, который выявил стадийно-зависимую динамику их активности. Установлено, что уже на ранних стадиях заболевания наблюдается преобладание антиапоптотических сигналов над проапоптотическими, что подтверждает центральную роль дерегуляции апоптоза в патогенезе опухоли. Прогрессирование заболевания характеризуется изменением активности антиапоптотических факторов: если на начальных стадиях отмечается стабильная экспрессия *BCL2*, сменяющаяся её снижением на поздних этапах, то *MCL1* демонстрирует нелинейную динамику, которая может отражать адаптацию опухоли к изменяющимся условиям микроокружения. Хотя система белков Bim/Bcl2/Mcl1/Bax считается одной из главных регулирующих апоптоз систем клетки («митохондриальный путь»), при раке почки, вероятно, задействован и клеточный путь апоптоза, связанный с дерегуляцией активности генов *DAPK1* и *TP53*. Таким образом, дисфункция клеточного апоптотического механизма, наряду с изменениями митохондриального пути, формирует комплексный патогенетический профиль заболевания.

Полученные данные обосновывают возможность применения BH3-миметиков, избирательно воздействующих на белки с аномальной экспрессией, что позволяет корректировать апоптоз без глобального нарушения процесса. Эти препараты, ингибирующие *BCL2*, наиболее эффективны при регионарном метастазировании, где гиперэкспрессия *BCL2* служит основным механизмом устойчивости. Выявленная вариабельность экспрессии проапоптотических генов, нелинейная динамика *MCL1* и гетерогенность профиля регуляторов клеточной гибели обосновывают необходимость индивидуализированного терапевтического подхода. Перспективным решением является разработка алгоритмов, интегрирующих молекулярный профиль опухоли и клинические параметры для оптимизации выбора терапии.

Литература

(п.п. 3-6; 8-10; 13-15; 17–27 см. References)

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024.
2. Мерабишвили В.М., Полторацкий А.Н., Носов А.К., Артемьева А.С., Мерабишвили Э.Н. Состояние онкологической помощи в России. Рак почки (заболеваемость, смертность, достоверность учета, одногодичная и погодичная летальность, гистологическая структура). Часть 1. *Онкоурология*. 2021; 17(2): 182–94. <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2021-17-2-182-194>
7. Шляпина В.Л., Юртаева С.В., Рубцова М.П., Донцова О.А. На распутье: механизмы апоптоза и аутофагии в жизни и смерти клетки. *Acta Naturae*. 2021; 13(2): 106–15. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11208>
11. Сеничкин В.В., Первушин Н.В., Зуев А.П., Животовский Б., Копейна Г.С. Таргетирование белков семейства Bcl-2: что, где, когда? *Биохимия*. 2020; 85(10): 1421–41. <https://www.doi.org/10.31857/S0320972520100097>
12. Пронина И.В., Губенко М.С., Бурдённий А.М., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И. Роль метилирования в регуляции экспрессии гена DAPK1 и связанных с ним генов микроРНК при немелкоклеточном раке легкого. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(3): 5–13. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.5-13>
16. Пронина И.В., Логинов В.И., Прасолов В.С., Климов Е.А., Ходырев Д.С., Казубская Т.П. и др. Изменение уровней экспрессии гена SEMA3B в эпителиальных опухолях. *Молекулярная биология*. 2009; 43(3): 439–45 <https://www.molecbio.ru/?view=article&id=790#>. <https://doi.org/10.1134/S002689330903008X>

References

1. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. *Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality) [Zlokachestvennye novoo-brazovaniya v Rossii v 2023 godu (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow: P.A. Herzen Institute of Medical Research – Branch of the Federal State Budgetary Institution “NMIC of Radiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2024. (in Russian)
2. Merabishvili V.M., Poltorackiy A.N., Nosov A.K., Artem'eva A.S., Merabishvili E.N. The state of oncology care in Russia. Kidney cancer (morbidity, mortality, index of accuracy, one-year and year-by-year mortality, histological structure). Part 1. *Cancer Urology*. 2021;17(2):182–94. <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2021-17-2-182-194> (in Russian)
3. Makino T., Kadamoto S., Izumi K., Mizokami A. Epidemiology and Prevention of Renal Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2022; 14(16): 4059. <https://doi.org/10.3390/cancers14164059>
4. Hashmi M.F., Limaem F. Renal Clear Cell Cancer. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. PMID: 33085377.
5. Zhang Z., Li Q., Wang F., Ma B., Meng Y., Zhang Q. Identifying Hypoxia Characteristics to Stratify Prognosis and Assess the Tumor Immune Microenvironment in Renal Cell Carcinoma. *Front Genet*. 2021; 14(12): 606816. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.606816>
6. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022;12(1):31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059> PMID: 35022204
7. Shliapina V.L., Yurtaeva S.V., Rubtsova M.P., Dontsova O.A. At the Crossroads: Mechanisms of Apoptosis and Autophagy in Cell Life and Death. *Acta Naturae*. 2021; 13(2): 106–15. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11208> (in Russian)
8. Singh R., Letai A., Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; 20(3): 175–93. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0089-8>
9. Radha G., Raghavan S.C. BCL2: A promising cancer therapeutic target. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2017; 1868(1): 309–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.06.004>
10. Sancho M., Leiva D., Lucendo E., Orzáez M. Understanding MCL1: from cellular function and regulation to pharmacological inhibition. *FEBS J*. 2022; 289(20): 6209–34. <https://doi.org/10.1111/febs.16136>
11. Senichkin V.V., Pervushin N.V., Zuev A.P., Zhivotovsky B., Kopeina G.S. Targeting Bcl-2 Family Proteins: What, Where, When? *Biochemistry (Mosc)*. 2020; 85(10):1210–26. <https://doi.org/10.1134/S0006297920100090>
12. Pronina I.V., Gubenko M.S., Burdenny A.M., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Loginov V.I. The role of methylation in regulating the expression of the DAPK1 gene and associated microRNA genes in non-small cell lung cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(3): 5–13. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.5-13> (in Russian)
13. Li F., Aljhdali I.A.M., Zhang R., Nastiuk K.L., Krolewski J.J., Ling X. Kidney cancer biomarkers and targets for therapeutics: survivin (BIRC5), XIAP, MCL-1, HIF1 α , HIF2 α , NRF2, MDM2, MDM4, p53, KRAS and AKT in renal cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021; 40(1): 254. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02026-1>
14. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. Union for International Cancer Control (UICC). TNM classification of malignant tumours, 8th edn. Chichester, West Sussex, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons. 2017.
15. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987; 162(1):156–9. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90021-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90021-2)
16. Pronina I.V., Loginov V.I., Prasolov V.S., Klimov E.A., Khodyrev D.S., Kazubskaya T.P. et al. Altered expression of the SEMA3B gene in epithelial tumors. *Mol Biol (Mosk)*. 2009; 43: 403-9. <https://doi.org/10.1134/S002689330903008X>
17. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_T$. *Method*. 2001; 25(4): 402–8. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

18. Wang W., Zhou P.H., Hu W. Overexpression of FOXO4 induces apoptosis of clear-cell renal carcinoma cells through downregulation of Bim. *Mol Med Rep.* 2016; 13(3): 2229–34. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4789>
19. Saker Z., Tsintsadze O., Jiqia I., Managadze L., Chkhotua A. Importance of apoptosis markers (MDM2, BCL-2 and BAX) in conventional renal cell carcinoma. *Georgian Med News.* 2015; 249: 27–33.
20. Fairlie W.D., Lee E.F. Targeting the BCL-2-regulated apoptotic pathway for the treatment of solid cancers. *Biochem Soc Trans.* 2021; 49(5): 2397–410. <https://doi.org/10.1042/BST20210750>
21. Paoli P., Giannoni E., Chiarugi P. Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1833(12): 3481–98. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.06.026>
22. Jin K., Li T., van Dam H., Zhou F., Zhang L. Molecular insights into tumour metastasis: tracing the dominant events. *J Pathol.* 2017; 241(5): 567–77. <https://doi.org/10.1002/path.4871>
23. Shukla S., Saxena S., Singh B.K., Kakkar P. BH3-only protein BIM: An emerging target in chemotherapy. *Eur J Cell Biol.* 2017; 96(8): 728–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2017.09.002>
24. Patel P., Mendoza A., Robichaux D.J., Wang M.C., Wehrens X.H.T., Karch J. Inhibition of the Anti-Apoptotic Bcl-2 Family by BH3 Mimetics Sensitize the Mitochondrial Permeability Transition Pore Through Bax and Bak. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 765973. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.765973>
25. Vogler M., Braun Y., Smith V.M., Westhoff M.A., Pereira R.S., Pieper N.M. et al. The BCL2 family: from apoptosis mechanisms to new advances in targeted therapy. *Signal Transduct Target Ther.* 2025; 10(1): 91. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02176-0>
26. Lee E.F., Fairlie W.D. Discovery, development and application of drugs targeting BCL-2 pro-survival proteins in cancer. *Biochem Soc Trans.* 2021; 49(5): 2381–95. <https://doi.org/10.1042/BST20210749>
27. Townsend P.A., Kozhevnikova M.V., Cexus O.N.F., Zamyatnin A.A. Jr., Soond S.M. BH3-mimetics: recent developments in cancer therapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2021; 40(1): 355. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02157-5>

Сведения об авторах:

Якубенко Яна Алексеевна, студент каф. физиологии, экологии человека и медико-биологических знаний факультета естественных наук ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения»;

Смирнова Анна Александровна, студент, каф. физиологии, экологии человека и медико-биологических знаний факультета естественных наук ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения»;

Логинов Виталий Игоревич, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;

Бурденный Алексей Михайлович, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП; мл. науч. сотр. лаб. химической физики биоаналитических процессов ФГБНУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН;

Лялина Ирина Юрьевна, доцент каф. физиологии, экологии человека и медико-биологических знаний факультета естественных наук ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения»;

Казубская Татьяна Павловна, доктор мед. наук, врач-онкогенетик, ст. науч. сотр. лаб. клинической онкогенетики ФГБУ «НМИЦ центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;

Пронина Ирина Валерьевна, канд. биол. наук, доцент каф. физиологии, экологии человека и медико-биологических знаний фак-та естественных наук ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения»; ст. науч. сотр. лаб. химической физики биоаналитических процессов ФГБНУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН.

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616.616.61

Александрова С.Г.^{1,2}, Александрова М.Р.¹

Факторы риска развития поражения почек при коронавирусной пневмонии COVID-19.

¹Медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», 117198, ул. Миклухо-Маклая, д. 8

²ООО «СМ-МЕДИКА», 117418, ул. Новочеремушкинская, д. 65, корп. 1

Цель. Установить факторы риска поражения почек при пневмонии, вызванной коронавирусной инфекцией COVID-19.

Методика. Методом случайной выборки ретроспективно изучены 300 историй болезней взрослых больных, находившихся в стационарах с диагнозом подтвержденной коронавирусной пневмонии COVID-19 и не имевших ранее заболеваний мочевыделительной системы. У 103 (34,3%) из них в анализах мочи выявлены отклонения – они составили исследуемую группу, остальные включены в группу сравнения. Пациентам проводили все необходимые клинико-лабораторные мероприятия: общий анализ крови (ОАК), биохимический анализ крови, общий анализ мочи (ОАМ), компьютерную томографию легких (КТ). Пациентов исследуемой группы с изменениями в анализах мочи после выписки из стационара наблюдали в течение 6–7 месяцев.

Результаты. Установлено, что достоверными факторами риска острого поражения почек (ОПП) при ковидной пневмонии в нашем случае явились: мужской пол у лиц молодого и среднего возраста (18–59 лет), умеренная степень тяжести по КТ (КТ2), высокая частота сопутствующей патологии (чаще всего гипертоническая болезнь, сахарный диабет и ожирение), повышение креатинина и Д-димера в сыворотке крови. Практически 30% пациентов с ковидной пневмонией, осложненной ОПП, после выписки из стационара нуждались в дальнейшем динамическом наблюдении и не имели при выписке рекомендаций по наблюдению специалистами.

Заключение. Установленные факторы риска ОПП при коронавирусной пневмонии COVID-19 у госпитализированных пациентов позволяют выделить группу риска, которую следует учитывать при ведении пациентов в стационаре для своевременной профилактики развития хронической болезни почек (ХБП). Пациентам с выявленной протеинурией назначать прием курантила 150 мг в сутки не менее 3 месяцев с целью улучшения микроциркуляции почечного кровотока, проводить контроль анализов мочи через 1, 2 и 3 месяца после выписки из стационара и определение уровня креатинина через 3 месяца после выписки из стационара, рекомендовать консультацию нефролога.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция; пневмония, ассоциированная с COVID-19; общий анализ мочи; повреждение почек; протеинурия; лейкоцитурия; исходы; острая почечная патология

Для цитирования: Александрова С.Г., Александрова М.Р. Факторы риска развития поражения почек при коронавирусной пневмонии COVID-19. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 70–78.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.70-78

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, подготовка иллюстративного материала, статистическая обработка данных, написание текста – Александрова С.Г.; сбор и обработка данных, редактирование – Александрова С.Г., Александрова М.Р. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Александрова Светлана Григорьевна, e-mail: alexandrova-sg@rudn.ru

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.11.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Aleksandrova S.G.^{1,2}, Aleksandrova M.R.¹**Risk factors for kidney damage in COVID-19 coronavirus pneumonia**¹Medical institute, Peoples' Friendship University of Patrice Lumumba, 8 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russian Federation²LLC SM-MEDICA, Novocheremushkinskaya St., 65, Bldg. 1, Moscow, 117418, Russian Federation

The purpose of the study: to identify risk factors for kidney damage in pneumonia caused by COVID-19 coronavirus infection.

Methods. A retrospective analysis of 300 case histories of patients over the age of 18 without fatal outcomes who were admitted to inpatient treatment for coronavirus infection complicated by pneumonia and had no history of urinary tract diseases was carried out. Of the 300 assessed case histories, 103 (34.3%) revealed some changes in urine tests that made up the study group compared with patients who did not have changes in urine tests (comparison group). The patients underwent: clinical blood analysis (UAC), biochemical blood analysis, clinical urine analysis, computed tomography of the lungs (CT), detection of the COVID-19 virus by polymerase chain reaction (PCR) in oropharyngeal and nasopharyngeal smears. Patients in the study group with changes in urine tests after discharge from the hospital were observed for 6–7 months.

Results. It was found that reliable risk factors for covid pneumonia with acute kidney injury (AKI) in our case were: male, young and middle age (18–59 years), moderate CT severity, high incidence of concomitant pathology (most often Hypertension, diabetes mellitus and obesity), increased serum creatinine, D-dimer. Almost 30% of patients with covid pneumonia complicated by AKI needed further dynamic follow-up after discharge from the hospital and did not have recommendations for follow-up by specialists at discharge.

Conclusion. The established risk factors for the course of COVID-19 coronavirus pneumonia in hospitalized patients with AKI allow us to identify a risk group that should be taken into account when managing patients in a hospital and timely prevent the development of glomerular filtration rate – patients with detected proteinuria are recommended: to take curantil 150 mg per day for at least 3 months in order to improve microcirculation of renal blood flow; control of urine tests 1, 2, 3 months after discharge from the hospital and determination of creatinine and GFR levels 3 months after discharge from the hospital; consultation with a nephrologist.

Keywords: coronavirus infection; pneumonia associated with COVID-19; general urinalysis; kidney damage; proteinuria; leukocyturia; outcomes; acute renal pathology

For citation: Aleksandrova S.G., Aleksandrova M.R. Risk factors for kidney damage in COVID-19 coronavirus pneumonia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 70–78. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.70-78

Author's contribution: concept and design of the study – Aleksandrova S.G.; collection and processing of material – Aleksandrova S.G., Aleksandrova M.R.; statistical processing – Aleksandrova S.G.; text writing – Aleksandrova S.G.; editing – Aleksandrova S.G., Aleksandrova M.R. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Svetlana G. Alexandrova, PhD MD, Assistant at the Peoples' Friendship University of Patrice Lumumba, Department of hospital therapy with courses of endocrinology, e-mail: alexandrova-sg@rudn.ru

Information about the authors:Aleksandrova S.G., <https://orcid.org/0000-0001-6151-8207>Aleksandrova M.R., <https://orcid.org/0000-0002-6801-835X>**Financing.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 12.11.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

На сегодняшний день статистика заболеваемости коронавирусом 2019 года (COVID-19) насчитывает более 760 млн случаев во всем мире, при этом при-

мерно 6,8 млн человек умерли [1]. Острое повреждение почек (ОПП) часто встречается у госпитализированных пациентов с COVID-19 [2]. И если почечные осложнения инфекции SARS-Cov-2 во время острой фазы описаны в литературе достаточно подробно, то об отдален-

ном воздействии COVID-19 на почки пока известно немного [3, 4].

ОПП является одним из наиболее распространенных внелегочных осложнений COVID-19, составляя 7,1–56,9% случаев при госпитализации и 25,2–78% случаев при поступлении в отделения интенсивной терапии (ОИТ) [5–13]. Частота встречаемости ОПП у пациентов с COVID-19 значительно различается у разных авторов, что, вероятно, связано со значительными различиями в демографии проводимых исследований и региональной политике в отношении критериев для госпитализации пациентов.

Описано несколько механизмов, приводящих к развитию ОПП при инфекции SARS-Cov-2 [3]. Так, ангиотензинпревращающий фермент 2 (АПФ 2), опосредуя проникновение вируса, вызывает повреждение эндотелия проксимальных канальцев почек с развитием местного воспаления, активацией свертывания крови и исходом в коллапсирующую гломерулопатию. Непрямыми факторами, способствующими развитию ОПП, являются нестабильность гемодинамики вследствие сепсиса или полиорганной недостаточности (ПОН), приём нефротоксических препаратов, гиповолемия и системное воспаление, а также несвоевременное лечение хронических заболеваний, в том числе почек, и артериальная гипертензия (АГ) в анамнезе [3, 14–18]. Выздоровление или развитие хронической болезни почек (ХБП) являются наиболее значимыми исходами ОПП, однако данные об отдаленных почечных исходах пока ограничены из-за отсутствия долгосрочных наблюдений [14].

Помимо ОПП, в нескольких исследованиях сообщается, что во время острой фазы инфекции COVID-19 пациенты без каких-либо других проявлений продемонстрировали снижение функции почек во время наблюдения в динамике после выписки [19–23]. Ни в одном руководстве не содержится рекомендаций относительно периода наблюдения за такими пациентами [24]. Кроме того, в исследованиях у пациентов чаще всего оценивается скорость клубочковой фильтрации (СКФ), а оценка СКФ на основе креатинина может завышать истинную СКФ у выживших после тяжелого COVID-19 из-за изменений в составе тела [15].

Из-за широкой распространенности COVID-19 и, соответственно, большой частоты поражения почек, у пациентов очень важно понять факторы риска развития ХБП после перенесенного COVID-19.

В одном из самых последних мета-анализов (данные собраны на ноябрь 2022 г.) изучены долгосрочные почечные исходы у пациентов с COVID-19 с ОПП и без него, для изучения отдаленного воздействия COVID-19

на функцию почек на основе 12 когортных исследований [25]. Установлено, что полное выздоровление наступило у 63% из 6976 пациентов с ОПП, ассоциированным с COVID-19, примерно у 22% прогрессировала ХБП, а 6% оставались зависимыми от диализа после ОПП, ассоциированного с COVID-19. При этом у пациентов с меньшим количеством сопутствующих заболеваний наблюдались лучшие исходы. В зависимости от степени тяжести перенесенного заболевания было показано снижение СКФ у значительной доли пациентов без ОПП и с нормальной исходной СКФ. Это важно для дальнейшего скрининга ХБП после пандемии COVID-19.

Цель исследования: установить факторы риска поражения почек (ОПП) при пневмонии, вызванной коронавирусной инфекцией COVID-19.

Методика

Проведено ретроспективное исследование пациентов, переболевших пневмонией, ассоциированной с COVID-19, с марта 2020 г. по апрель 2021 г., находившихся на лечении в ГБУЗ МО «НФОБ» и ГКБ № 24. Всего методом случайной выборки было включено 300 историй болезней больных в возрасте старше 18 лет без летальных исходов, не имевших в анамнезе заболеваний мочевыделительной системы (протокол № 30 заседания Комитета по Этике Медицинского института РУДН от 17 июня 2021 г.).

В стационаре пациентам проводили следующие лабораторно-инструментальные исследования: клинический анализ крови (ОАК), биохимический анализ крови, общий анализ мочи (ОАМ), коагулограмма, компьютерная томография легких (КТ). Из 300 оцененных историй болезни в 103 (34,3%) были выявлены те или иные изменения в анализах мочи. Данные пациенты составили исследуемую группу, которую сравнивали с пациентами, не имеющими изменений в анализах мочи (группа сравнения). Пациентов исследуемой группы с изменениями в анализах мочи после выписки из стационара наблюдали в течение 6–7 мес.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе методов вариационной статистики с применением пакетов компьютерных программ Word 98, Excel 98, Access 2000, Statgraf. Использовали параметрические и непараметрические критерии. Числовые данные представлены как абс. (%). Достоверность различий между средними величинами определяли по t-критерию Стьюдента, нормальность распределения – по критерию Шапиро–Уилка. Для сравнения групп по частоте качественных переменных использовали критерий χ^2 -квadrat.

Результаты

При ретроспективном анализе историй болезни пациентов для решения поставленной задачи и выявления факторов риска течения основного заболевания с изменениями в анализах мочи (ОПП) получены следующие результаты, часть которых опубликована нами ранее [26, 27].

Изменения в анализах мочи (ОАМ) выявлены у 103 (34,3%) больных коронавирусной пневмонией, поражение имело клубочковый характер: протеинурия достоверно превалировала в исследуемой группе (93 (90,3%) больных) над лейкоцитурией (10 (9,7%) больных) ($p < 0,05$, критерий χ -квадрат) и достоверно чаще носила минимальный или умеренный характер (до 0,9 г/л) у 53 (57%) из всех случаев протеинурии ($p < 0,01$). Нами установлено, что в основе повреждения почек клубочкового характера лежит микротромбоз почечных сосудов: Д-димер у больных был повышен в 83,3% случаев.

При оценке факторов риска развития патологии почек при COVID-19 пневмонии получено, что она встречается достоверно чаще у больных мужского пола в молодом и среднем возрасте (18–59 лет, $n = 52$): 37 мужчин и 15 женщин соответственно ($p < 0,001$, критерий χ -квадрат). Это в основном связано с преобладанием числа мужчин над женщинами в возрастной группе 45–59 лет: (24 и 9 человек соответственно, $p < 0,05$, критерий хи-квадрат) и у лиц с течением основного заболевания умеренной степени тяжести по данным КТ (КТ 2 у 152 (50,7%) пациентов, $p < 0,01$).

Большая часть пациентов в исследовании имели сопутствующую патологию – 170 пациентов (56,7%, $p < 0,01$, критерий χ -квадрат) при сравнении с числом пациентов без сопутствующей патологии (130 человек) с сохранением данного факта в исследуемой группе с ОПП – 65 (63,1%) и 38 (36,9%) пациентов соответственно ($p < 0,01$, критерий χ -квадрат). Наиболее часто у пациентов исследуемой группы выявлялась ГБ – 34 (33%) ($p < 0,01$, критерий хи-квадрат), потом СД – 14 (13,6%) и ожирение – 8 (7,8%), в группе сравнения наблюдалась подобная картина: ГБ – 41 (20,8%) ($p < 0,01$, критерий χ -квадрат), СД – 14 (7,1%) и ожирение – 14 (7,1%). Учитывая известные из литературы данные о влиянии частоты сопутствующей патологии и некоторых ее нозологий (или лечения данных нозологий) на реализацию нарушений функции почек при ковидной пневмонии, а также влияния фактора тяжести основного заболевания, мы разделили всех больных ($n = 300$) для анализа на группы в зависимости от степени тяжести заболевания по результатам КТ (1–4) и на подгруппы в зависимости от наличия сопутствующей патологии (подгруппа 1 – есть со-

путствующая патология (СП+), подгруппа 2 – нет (СП–) и наличия/отсутствия ОПП (табл.).

Установлено, что достоверной разницы по частоте выявления изменений в анализах мочи между подгруппами не было ($p > 0,05$), однако большая частота сопутствующей патологии в нашем случае была достоверно связана с повышенными значениями креатинина в сыворотке крови больных – 42 случая (24,7%) по сравнению с группой без сопутствующей патологии – 20 (15,4%) ($p < 0,05$, критерий χ -квадрат). При этом в подгруппе 1.2 (СП+, ОПП–) по сравнению с 1.1 (СП+, ОПП+) данный показатель был даже достоверно больше – у 32 (30,5%) и 10 (15,4%) человек соответственно ($p < 0,05$, критерий хи-квадрат).

В динамике через 6–7 мес из 103 больных с поражением почек на фоне COVID-19-пневмонии повторно обследован 91 пациент. Установлено, что 27 пациентов (29,7%) с ковидной пневмонией, осложненной ОПП, после выписки из стационара нуждались в дальнейшем динамическом наблюдении, имели жалобы или изменения в ОАМ: 12 (13,2%) пациентов наблюдались у специалиста в связи с изменениями в ОАМ (протеинурия – у 9, лейкоцитурия – у 3), 15 (16,4%) жаловались на отеки, но за врачебной помощью не обращались. Только у 7 (7,7%) пациентов амбулаторно был проведен контрольный анализ мочи и крови (клинический и биохимический), но патологии не выявлено.

Обсуждение

Мы получили результаты, согласно которым достоверными факторами риска развития патологии почек при ковидной пневмонии являются средний возраст, мужской пол, наличие сопутствующей патологии (ГБ, СД, ожирение) при умеренной степени течения коронавирусной пневмонии и при повышении Д-димера и креатинина в сыворотке крови. В литературе статистические данные по частоте факторов риска ОПП при ковидной инфекции, в том числе пневмонии, сильно разнятся в зависимости от страны исследования [28]. Как и в нашем исследовании, в литературе описаны факторы риска, ассоциированные с более частым возникновением ОПП и неблагоприятным прогнозом течения ковидной пневмонии: мужской пол, «пожилой» возраст, негроидная раса [28]. Также к факторам риска относят, как и в нашем исследовании, множественные сопутствующие заболевания (особенно СД, гипертонию и сердечно-сосудистые заболевания), более высокий индекс массы тела (в нашем случае ожирение), уровень Д-димера [29]. По данным китайского исследования, ОПП возникало чаще и развивалось быстрее у пациентов с повышенным уровнем креатинина крови

(как и в нашем исследовании), и особенно если уровень уже был повышен при поступлении на стационарное лечение [30], что мы и увидели в своем исследовании, когда выявили достоверное повышение уровня креатинина в группе больных с наличием сопутствующей патологии, причем как в группе с изменениями в ОАМ, так и без изменений в ОАМ.

Третья часть наших пациентов (29,7%) с ковидной пневмонией и ОПП нуждались в дальнейшем наблюдении специалистов и динамической оценке функции почек после выписки. Это соответствовало результатам недавнего исследования, в котором сообщалось о частоте впервые возникшей ХБП в течение 90 дней после ОПП, ассоциированного с COVID-19, у 23,7% больных [31].

Таблица / Table

Характеристики подгрупп пациентов с КТ1–4 в исследовании при распределении их по наличию/отсутствию сопутствующей патологии (СП) и по факту наличия/отсутствия (ОПП)

Characteristics of subgroups of patients with CT 1–4 in the study, with their distribution according to the presence of associated pathology (AP) and the presence/absence of acute kidney disease (AKD)

КТ / Computed tomography (CT)	Показатель / Indicator	Подгруппа 1 / Subgroup 1 (СП+, n = 170)/(АП+, n = 170)		Подгруппа 2 / Subgroup 2 (СП-, n = 130)/(АП-, n = 130)	
		подгруппа 1-1 / Subgroup 1-1 (ОПП+, n = 65) / (AKD+, n = 65)	подгруппа 1-2 / Subgroup 1-2 (ОПП-, n = 105) / (AKD-, n = 105)	подгруппа 2-1 / Subgroup 2-1 (ОПП+, n = 38) / (AKD+, n = 38)	подгруппа 2-2 / Subgroup 2-2 (ОПП-, n = 92) / (AKD-, n = 92)
КТ 1 / CT 1 (n = 65)	протеинурия / proteinuria	9**	0	8**	0
	лейкоцитурия / leukocyturia	1	0	1	0
	Д-димер повышен / the D-dimer is elevated	5	3	4	7
	тромбоцитопения / thrombocytopenia	2	1	0	1
	женщины / women	4	11	3	7
	мужчины / men	6	17	6	11
	креатинин повышен / creatinine is elevated	4	18	1	2
КТ 2 / CT 2 (n = 152)	протеинурия / proteinuria	35**	0	16**	0
	лейкоцитурия / leukocyturia	3	0	3	0
	Д-димер повышен / the D-dimer is elevated	18	38*	13	37
	тромбоцитопения / thrombocytopenia	2	5	2	10*
	женщины / women	14	26**	15	12
	мужчины / men	24	30*	4	27
	креатинин повышен / creatinine is elevated	3	9	3	6

КТ / Computed tomography (СТ)	Показатель / Indicator	Подгруппа 1 / Subgroup 1 (СП+, n = 170)/(АР+, n = 170)		Подгруппа 2 / Subgroup 2 (СП-, n = 130)/(АР-, n = 130)	
		подгруппа 1-1 / Subgroup 1-1 (ОПП+, n = 65) / (АКД+, n = 65)	подгруппа 1-2 / Subgroup 1-2 (ОПП-, n = 105) / (АКД-, n = 105)	подгруппа 2-1 / Subgroup 2-1 (ОПП+, n = 38) / (АКД+, n = 38)	подгруппа 2-2 / Subgroup 2-2 (ОПП-, n = 92) / (АКД-, n = 92)
КТ 3 / СТ 3 (n = 63)	протеинурия / proteinuria	11**	0	3**	0
	лейкоцитурия / leukocyturia	1	0	0	0
	Д-димер повышен / the D-dimer is elevated	8	2	6**	6
	тромбоцитопения / thrombocytopenia	0	4**	1	5
	женщины / women	5	11**	2	3
	мужчины / men	7	10**	1	24*
	креатинин повышен / creatinine is elevated	2	5	0	6*
КТ 4 / СТ 4 (n = 20)	протеинурия / proteinuria	4*	0	7*	0
	лейкоцитурия / leukocyturia	1	0	0	0
	Д-димер повышен / the D-dimer is elevated	3*	0	8*	2
	тромбоцитопения / thrombocytopenia	0	0	1	1
	женщины / women	2	0	1	2
	мужчины / men	3	0	6	6
	креатинин повышен / creatinine is elevated	1	0	0	2

Примечание: *p < 0,001, **p < 0,05, критерий χ-квадрат при сравнении данных в столбцах 1 и 2, 3 и 4.

Note: *p < 0.001, **p < 0.05, χ-square criterion when comparing data in columns 1 and 2, 3 and 4.

Влияние ОПП, ассоциированного с COVID-19, на долгосрочную функцию почек в основном зависит от исходной восприимчивости и тяжести острого почечного стресса. Основываясь на результатах исследования [25], пандемия COVID-19, скорее всего, усилила глобальное бремя ХБП, особенно среди лиц с сопутствующими заболеваниями в анамнезе. Доказано, что наличие сопутствующей ГБ, ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности, хронических заболеваний печени и почек, СД, хронической обструктивной болезни легких в анамнезе, онкологической патологии и коморбидностей существенно ухудшает прогноз при коронавирусной инфекции [32]. Обдуманность необхо-

димости симптоматической терапии АГ и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), отказ от нефротоксинов и тщательный мониторинг функции почек у пациентов с ОПП при ковидной инфекции могут быть полезны для профилактики ХБП в будущем [33]. Есть данные, что у пациентов с COVID-19 и ОПП риск летального исхода в 1,5 раза выше, чем у больных с сохранной функцией почек, а факторами риска развития ОПП при этом описаны сопутствующая ХБП, декомпенсация сердечной недостаточности и повышение концентрации СРБ > 125 мг/л; факторами риска прогрессирования ОПП и летального исхода в этой группе больных служили потребность в вентилизации легких, максимальный уровень

сывороточного креатинина и недостаточная коррекция гипергликемии [34].

При наблюдении выздоровевших больных для оценки исходов ОПП при коронавирусной инфекции в случаях значительного нарушения функции почек при выписке может потребоваться повторное обследование через 2 недели (или через 90 дней), чтобы дать время для восстановления функции почек и восстановления мышечной массы [32]. Пациентам без признаков ХБП в течение 90 дней рекомендуется повторно оценить функцию почек через год [35].

В настоящее время стало известно, что у значительной доли госпитализированных пациентов с нормальной исходной функцией почек при ковидной инфекции, у которых ОПП не было, все равно наблюдалось снижение функции почек по данным СКФ в течение периода наблюдения 90–199 дней, а у не госпитализированных пациентов, которые выздоровели от инфекции COVID-19 легкой и среднетяжелой степени, СКФ через 9,6 мес после острой фазы также была несколько ниже, чем в сопоставимой контрольной группе [36]. Таким образом, нужен адекватный скрининг данной группы больных коронавирусной инфекцией на наличие факторов риска развития

ОПП и их регулярное наблюдение в течение как минимум 3–6 мес после выздоровления.

Заключение

Достоверными факторами риска развития ОПП при ковидной пневмонии в нашем случае являлись: мужской пол у пациентов молодого и среднего возраста (18–59 лет), умеренная степень тяжести пневмонии по КТ (КТ2), высокая частота сопутствующей патологии (чаще всего ГБ, СД и ожирение), повышение креатинина и Д-димера в сыворотке крови.

Практически 30% пациентов с ковидной пневмонией, осложненной ОПП, после выписки из стационара нуждались в дальнейшем динамическом наблюдении и не имели при выписке рекомендаций по наблюдению специалистами. Данных пациентов следует выделить в группу риска, пациентам с выявленной протеинурией рекомендовать прием курантила 150 мг в сутки не менее 3 мес. с целью улучшения микроциркуляции почечного кровотока, контроль анализов мочи через 1, 2 и 3 мес. после выписки из стационара и определение уровня креатинина и СКФ через 3 мес. после выписки из стационара, а также консультацию нефролога.

Литература

(п.п. 1–25; 28; 29; 30; 31; 33; 35; 36 см. References)

26. Александрова С.Г., Бычкова Л.В., Александрова М.Р., Ляпунова Т.В., Родоман М.Г. Изменения в анализах мочи и показатели функции почек у пациентов с вирусной пневмонией COVID-19. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2022; 66(3): 69–79. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2022.03.69-79>
27. Александрова С.Г., Бычкова Л.В., Александрова М.Р., Орлова А.М. Клинико-лабораторные особенности пациентов с коронавирусной пневмонией COVID-19 и изменениями в общем анализе мочи. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2022; 17(4): 69–74. https://doi.org/10.25881/20728255_2022_17_4_2_69
32. Мищенко Т.А., Ермакова П.А., Ермакова А.А., Целлер Л.А., Рогожкина Ю.А., Вертелецкая М.И. и др. Предикторы тяжелого течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19): дизайн исследования. *Терапевтический архив*. 2022; 94(11): 1246–51. <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.11.201402>
34. Щепалина А.А., Чеботарева Н.В., Китбаляев А.А., Потапов П.П., Нартова А.А., Акулкина Л.А. и др. Факторы риска повреждения почек у пациентов с острой коронавирусной инфекцией COVID-19. *Терапевтический архив*. 2022; 94(6): 743–7. <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.06.201568>

References

1. WHO COVID-19 Dashboard. <https://covid19.who.int> Data last updated: 2023/3/25
2. Silver S.A., Beaubien-Souligny W., Shah P.S., Harel S., Blum D., Kishibe T., et al. The prevalence of acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Med*. 2021; 3: 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.xkme.2020.11.008>
3. Nadim M.K., Forni L.G., Mehta R.L., Connor M.J. Jr, Liu K.D., Ostermann M., et al. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) workgroup. *Nat Rev Nephrol*. 2020; 16: 747–64. <https://doi.org/10.1038/s41581-020-00356-5>
4. Yang X., Jin Y., Li R., Zhang Z., Sun R., Chen D. Prevalence and impact of acute renal impairment on COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2020; 24: 356. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03065-4>
5. Cheng Y., Luo R., Wang X., Wang K., Zhang N., Zhang M., et al. The incidence, risk factors, and prognosis of acute kidney injury in adult patients with coronavirus disease 2019. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2020; 15: 1394–402. <https://doi.org/10.2215/cjn.04650420>

6. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020; 8: 475–81. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30079-5)
7. Fisher M., Neugarten J., Bellin E., Yunes M., Stahl L., Johns T.S., et al. AKI in Hospitalized Patients with and without COVID-19: A Comparison Study. *J Am Soc Nephrol.* 2020; 31(9): 2145–57. <https://doi.org/10.1681/asn.2020040509>
8. Argenziano M.G., Bruce S.L., Slater C.L., Tiao J.R., Baldwin M.R., Barr R.G., et al. Characterization and clinical course of 1000 patients with coronavirus disease 2019 in New York: retrospective case series. *BMJ.* 2020; 369: m1996. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1996>
9. Chan L., Chaudhary K., Saha A., Chauhan K., Vaid A., Zhao S., et al. AKI in Hospitalized Patients with COVID-19. *J Am Soc Nephrol.* 2021; 32(1): 151–60. <https://doi.org/10.1681/ASN.2020050615>
10. Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford J.M., McGinn T., Davidson K.W., et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA.* 2020 May 26; 323(20): 2052–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6775>
11. Hirsch J.S., Ng J.H., Ross D.W., Sharma P., Shah H.H., Barnett R.L., et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int.* 2020; 98(1): 209–18. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.05.006>
12. Xu J., Yang X., Yang L., Zou X., Wang Y., Wu Y., et al. Clinical course and predictors of 60-day mortality in 239 critically ill patients with COVID-19: a multicenter retrospective study from Wuhan, China. *Crit Care.* 2020; 24(1): 394. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03098-9>
13. Yu Y., Xu D., Fu S., Zhang J., Yang X., Xu L., et al. Patients with COVID-19 in 19 ICUs in Wuhan, China: a cross-sectional study. *Crit Care.* 2020; 24(1): 219. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02939-x>
14. Matsumoto K., Prowle J.R. COVID-19-associated AKI. *Curr Opin Crit Care.* 2022; 28: 630–7. <https://doi.org/10.1097/mcc.0000000000000988>
15. Mahalingasivam V., Su G., Iwagami M., Davids M.R., Wetmore J.B., Nitsch D. COVID-19 and kidney disease: insights from epidemiology to inform clinical practice. *Nat Rev Nephrol.* 2022; 18: 485–98. <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00570-3>
16. Ostermann M., Lumlertgul N., Forni L.G., Hoste E. What every Intensivist should know about COVID-19 associated acute kidney injury. *J Crit Care.* 2020; 60: 91–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.07.023>
17. Findling M.G., Blendon R.J., Benson J.M. Delayed care with harmful health consequences—reported experiences from national surveys during coronavirus disease 2019. *JAMA Health Forum.* 2020; 1: e201463. <https://doi.org/10.1001/jamahealthforum.2020.1463>
18. Lameire N.H., Bagga A., Cruz D., De Maeseneer J., Endre Z., Kelum J.A., et al. Acute kidney injury: an increasing global concern. *Lancet.* 2013; 382(9887): 170–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60647-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60647-9)
19. Tan B.W.L., Tan B.W.Q., Tan A.L.M., Schriver E.R., Gutiérrez-Sacristán A., Das P., et al. Long-term kidney function recovery and mortality after COVID-19-associated acute kidney injury: An international multi-centre observational cohort study. *E Clinical Medicine.* 2022; 55: 101724. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101724>
20. Zhou M., Tan X., Luo P., Xu J., Yin Z., Liao T., et al. Changes in glomerular filtration rate and metabolomic differences in severely ill coronavirus disease survivors 3 months after discharge. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2022; 1868(1): 166289. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2022.166506>
21. Li D., Liao X., Liu Z., Ma Z., Dong J., Zheng G., et al. Healthy outcomes of patients with COVID-19 two years after the infection: a prospective cohort study. *Emerg Microbes Infect.* 2022; 11(1): 2680–8. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2133639>
22. Huang C., Huang L., Wang Y., Li X., Ren L., Gu X., et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet.* 2021; 397(10270): 220–32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32656-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32656-8)
23. Bowe B., Xie Y., Xu E., Al-Aly Z. Kidney outcomes in long COVID. *J Am Soc Nephrol.* 2021; 32: 2851–2862. <https://doi.org/10.1681/asn.2021060734>
24. Copur S., Berkkan M., Basile C., Tuttle K., Kanbay M. Post-acute COVID-19 syndrome and kidney diseases: what do we know? *J Nephrol.* 2022; 35: 795–805. <https://doi.org/10.1007/s40620-022-01296-y>
25. Zhang Y., Zhao Y., Wang J., Zheng X., Xu D., Lv J., et al. Long-term renal outcomes of patients with COVID-19: a meta-analysis of observational studies. *J Nephrol.* 2023; 36(9): 2441–56. <https://doi.org/10.1007/s40620-023-01731-8>
26. Alexandrova S.G., Bychkova L.V., Alexandrova M.R., Lyapunova T.V., Rodoman M.G. Changes in urine tests and renal function indices in patients with COVID-19 viral pneumonia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2022; 66(3): 69–79. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2022.03.69-79> (in Russian)
27. Aleksandrova S.G., Bychkova L.V., Aleksandrova M.R., Orlova A.M. Clinical and laboratory features of patients with COVID-19 coronavirus pneumonia and changes in the general urine analysis. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo Centra im. N.I. Pirogova.* 2022; 17(4): 69–74. https://doi.org/10.25881/20728255_2022_17_4_2_69 (in Russian)
28. Hirsch J.S., Ng J.H., Ross D.W., Sharma P., Shah H.H., Barnett R.L., et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney International.* 2020; 98(1): 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.05.006>
29. Kapp M.E., Fogo A.B., Roufouse C., Najafian B., Radhakrishnan J., Mohan S., et al. Renal Considerations in COVID-19: Biology, Pathology, and Pathophysiology. *ASAIO J.* 2021; 67(10): 1087–1096. <https://doi.org/10.1097/MAT.0000000000001530>
30. Cheng Y., Luo R., Wang K., Zhang M., Wang Z., Dong L., et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int.* 2020; 97(5): 829–838. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.03.005>
31. Hittesdorf E., Panzer O., Wang D., Stevens J.S., Hastie J., Jordan D.A., et al. Mortality and renal outcomes of patients with severe COVID-19 treated in a provisional intensive care unit. *J Crit Care.* 2021; 62: 172–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.12.012>
32. Mishchenko T.A., Ermakova P.A., Ermakova A.A., Zeller L.P., Rogozhkina Yu.A., Verteletskaia M.I., et al. Predictors of severe course of new coronavirus infection (COVID-19): study design. *Terapevticheskii Arkhiv.* 2022; 94(11): 1246–51. <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.11.201402> (in Russian)

33. Forni L.G., Darmon M., Ostermann M., Oudemans-van Straaten H.M., Pettilä V., Prowle J.R. et al. Renal recovery after acute kidney injury. *Intensive Care Med.* 2017; 43: 855–66. <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4809-x>
34. Shchepalina A.A., Chebotareva N.V., Kitbalian A.A., Potapov P.P., Nartova A.A., Akulkina L.A., et al. Risk factors of kidney injury in patients with COVID-19. *Terapevticheskii arkhiv.* 2022; 94(6): 743–7. <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.06.201568> (in Russian)
35. Stoumpos S., Mark P.B., McQuarrie E.P., Traynor J.P., Geddes C.C. Continued monitoring of acute kidney injury survivors might not be necessary in those regaining an estimated glomerular filtration rate >60 mL/min at 1 year. *Nephrol Dial Transplant.* 2017; 32: 81–8. <https://academic.oup.com/ndt/article/32/1/81/2931169>
36. Petersen E.L., Goßling A., Adam G., Aepfelbacher M., Behrendt C.A., Cavus E., et al. Multi-organ assessment in mainly non-hospitalized individuals after SARS-CoV-2 infection: The Hamburg City Health Study COVID programme. *Eur Heart J.* 2022; 43(11): 1124–37. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab914>

Сведения об авторах:

Александрова Светлана Григорьевна, канд. мед. наук, доцент кафедры госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики Медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы; врач-терапевт ООО «СМ-МЕДИКА», e-mail: alexandrova-sg@rudn.ru

Александрова Марина Робертовна, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики Медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы; e-mail: alexandrova-mr@rudn.ru

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092.9

Антонова В.В., Куйдин Д.В., Габитов М.В., Крюков И.А., Редкин И.В., Черпаков Р.А., Кузовлев А.Н.
Влияние криптон-кислородной смеси на неврологический статус крыс после моделирования открытой ЧМТ

НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии, Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Введение. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из главных причин смертности во всем мире. Научных исследований, посвящённых влиянию криптона на травматическое повреждение головного мозга, выполнено не было.

Цель работы – изучение влияния криптон-кислородной смеси на неврологический статус крыс после моделирования открытой ЧМТ.

Методика. Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Wistar весом 350–390 г ($n = 33$). Животные были случайным образом разделены на 3 группы в зависимости от объема проводимых вмешательств: 1. ложнооперированные животные, которым проводили анестезию, подготовительные мероприятия без нанесения ЧМТ, но с ингаляцией азотно-кислородной смеси (N_2 70%/O₂ 30%), $n = 6$ (группа ЛО); 2. контрольная группа животных с ЧМТ и ингаляцией азотно-кислородной смеси (N_2 70%/O₂ 30%), $n = 11$ (группа ЧМТ); 3. опытная группа с ЧМТ и ингаляцией криптон-кислородной смеси (Kr 70%/O₂ 30%), $n = 16$ (группа ЧМТ+иКр). В период пробуждения температуру тела животных поддерживали на уровне $37 \pm 0,5^\circ C$ с помощью инфракрасной лампы. Моделирование ЧМТ выполнено в условиях внутрибрюшинной анестезии хлоралгидратом в дозе 300 мг/кг в соответствии с методом дозированного контузионного повреждения открытого мозга. Ложнооперированным животным также проводили высверливание отверстия в черепе, но без нанесения удара. Для оценки неврологического статуса лабораторных крыс использовали 2 теста: «Постановка конечности на опору» и «Цилиндр».

Результаты. Изучение неврологического дефицита при 14-дневном наблюдении с применением теста «Постановка конечности на опору» выявило статистически значимо меньший неврологический дефицит на 7-е и 14-е сутки посттравматического периода у животных, которых лечили криптон-кислородной смесью на фоне перенесенного повреждения мозга.

Заключение. Ингаляция криптон-кислородной смеси после ЧМТ приводила к улучшению неврологического восстановления у лабораторных животных за счёт уменьшения вторичного повреждения головного мозга. Эти данные открывают новые перспективы для дальнейших исследований криптона как потенциального нейропротектора, который может стать новым терапевтическим агентом в нейрореаниматологии.

Ключевые слова: криптон; благородные газы; ЧМТ; крысы

Для цитирования: Антонова В.В., Куйдин Д.В., Габитов М.В., Крюков И.А., Редкин И.В., Черпаков Р.А., Кузовлев А.Н. Влияние криптон-кислородной смеси на неврологический статус крыс после моделирования открытой ЧМТ. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 79–88.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.79-88

Для корреспонденции: Габитов Михаил Валерьевич, кандидат мед. наук, научный сотрудник лаборатории органопroteкции при критических состояниях; e-mail: mgabitov@fnkcr.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Кузовлев А.Н.; сбор и обработка материала – Антонова В.В., Куйдин Д.В.; подготовка иллюстративного материала – Габитов М.В.; написание текста – Антонова В.В., Куйдин Д.В.; редактирование – Крюков И.А., Редкин И.В., Черпаков Р.А., Габитов М.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Работа выполнена по теме НИР «Цитопротекторные эффекты инертных газов для профилактики и лечения органной дисфункции при критических состояниях» (No FGWS – 2025-0015).

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

Поступила 17.08.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Antonova V.V., Kuydin D.V., Gabitov M.V., Kriukov I.A., Redkin I.V., Cherpakov R.A., Kuzovlev A.N.

Effect of krypton-oxygen mixture on the neurological status of rats after modelling of open traumatic brain injury

V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitology, 25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russian Federation

Introduction. Brain injury is one of the leading reasons of death worldwide. There are no scientific studies on the effect of krypton on traumatic brain injury. The aim of the work was to study the effect of krypton-oxygen mixture on the neurological status of rats after modelling of open traumatic brain injury.

Methods. Experimental work was performed on male rats of Wistar line weighing 350–390 g ($n = 33$). The animals were randomly divided into 3 groups depending on the volume of the interventions performed: 1. Sham-operated animals with inhalation of nitrogen-oxygen mixture (N_2 70%/O₂ 30%), $n = 6$ (Sham group); 2. control group of animals with TBI and inhalation of nitrogen-oxygen mixture (N_2 70%/O₂ 30%), $n = 11$ (TBI group); 3. experimental group with TBI and inhalation of krypton-oxygen mixture (Kr 70%/O₂ 30%), $n = 16$ (TBI+iKr group). During the awakening period, the body temperature of the animals was maintained at 37 ± 0.5 °C using an infrared lamp. The simulation of traumatic brain injury was performed under intraperitoneal anaesthesia with chloral hydrate 300 mg/kg according to the method of dosed open brain contusion injury. Falsely operated animals also underwent drilling of a hole in the skull, but without impact. To assess the neurological status of laboratory rats, 2 tests were used: "Limb Placement test" and "Cylinder".

Results. The study of neurological deficit at 14-day observation using the "Limb Placement Test" revealed statistically significantly less neurological deficit on days 7 and 14 of the posttraumatic period in animals treated with krypton-oxygen mixture against the background of the transferred brain damage.

Conclusion. Inhalation of a krypton-oxygen mixture after traumatic brain injury resulted in improved neurological recovery in laboratory animals by reducing secondary brain damage. These data open new perspectives for further studies of krypton as a potential neuroprotector, which may become a new therapeutic agent in neuroresuscitation.

Keywords: krypton; noble gases; TBI; rats

For citation: Antonova V.V., Kuydin D.V., Gabitov M.V., Kriukov I.A., Redkin I.V., Cherpakov R.A., Kuzovlev A.N. Effect of krypton-oxygen mixture on the neurological status of rats after modelling of open traumatic brain injury. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya* (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal). 2025; 69(4): 79–88. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.79-88

For correspondence: *Mikhail V. Gabitov*, candidate of medical sciences, scientific researcher at the laboratory of organoprotection in critical conditions; e-mail: mgabitov@fnkcr.ru

Author's contribution: Concept and research design – Kuzovlev A.N.; collection and processing of material – Antonova V.V., Kuydin D.V.; preparation of illustrative material – Gabitov M.V.; text writing – Antonova V.V., Kuydin D.V.; editing – Kriukov I.A., Redkin I.V., Cherpakov R.A., Gabitov M.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Information about the authors:

Antonova V.V., <https://orcid.org/0000-0002-0819-7886>

Kuydin D.V., <https://orcid.org/0009-0008-2902-9962>

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

Kriukov I.A., <https://orcid.org/0000-0003-3121-2981>

Redkin I.V., <https://orcid.org/0000-0001-7008-2038>

Cherpakov R.A., <https://orcid.org/0000-0002-0514-2177>

Kuzovlev A.N., <https://orcid.org/0000-0002-5930-0118>

Financing. The work was carried out on the research topic "Cytoprotective effects of inert gases for the prevention and treatment of organ dysfunction in critical conditions" (No. FGWS – 2025-0015).

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

Received 17.08.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Несмотря на прогрессивное развитие медицины в последние десятилетия, и сегодня одной из главных причин смертности во всем мире остается черепно-мозговая травма (ЧМТ). Её высокая распространенность и серьезные последствия, включая инвалидизацию населения, делают ЧМТ глобальной проблемой здравоохранения, а разработка новых подходов к лечению является актуальной задачей [1, 2].

Первичное повреждение при ЧМТ возникает в момент травмы из-за механического воздействия (например, ушиб мозга) и характеризуется нарушением целостности клеточных мембран, кровеносных сосудов и нейронов. Вторичное повреждение развивается в течение часов, дней или даже недель после травмы и включает каскад патологических процессов, таких как эксайтотоксичность, окислительный стресс, нейровоспаление, нарушение гематоэнцефалического барьера, апоптоз и некроз клеток [3].

Количество исследований, направленных на разработку терапевтического применения инертных газов при заболеваниях ЦНС, продолжает расти, открывая новые перспективы [4, 5, 6]. Сегодня известно, что ксенон способен ингибировать NMDA-рецепторы за счет конкуренции с глицином в месте его связывания, а также активировать калиевые каналы TREK-1 и TASK-3, формирующие потенциал покоя. Кроме того, воздействуя на *Vaх*, *Vcl-2* и *HIF-1 α* , ксенон оказывает противовоспалительное действие, подавляя апоптоз [7]. По мнению других исследователей, долгосрочные нейропротективные эффекты ксенона связаны со снижением реактивного астроглиоза и нейровоспаления в областях мозга, участвующих в ассоциативной памяти [8].

Доклинические исследования на различных моделях грызунов подтверждают нейропротекторное действие аргона [9]. В исследовании Чжао и соавт. аргон в сочетании с гипотермией снижал гибель нейронов, уменьшал воспаление и объем инфаркта мозга у новорожденных крыс после перевязки сонной артерии [10]. На модели гипоксии-ишемии *in vitro* аргон обладал нейропротекторным эффектом, в то время как гелий, неон и криптон были лишены этого свойства. По мнению авторов работы, нейропротекторный потенциал аргона опосредован влиянием на толл-подобные рецепторы, а именно TLR2 и TLR4. При этом нитратные сигнальные пути PI3K/Акт и ERK1/2 влияют на факторы транскрипции, способствуя выживанию клеток и снижая уровень провоспалительных цитокинов и сигналов апоптоза [11].

Подобно неону и аргону, благородный газ гелий не оказывает анестетического эффекта при атмосферном давлении. При лечении заболеваний ЦНС, сопровождающихся угнетением сознания, это может быть важно при оценке неврологического статуса пациента. По данным исследования Ли Ю. и соавт., прекодиционирование 70% гелием на модели неонатальной гипоксии-ишемии у крыс приводило к снижению экспрессии TNF- α и интерлейкина-1 β , способствовало ангиогенезу мозга и привело к нивелированию нейроповеденческих расстройств у животных. По мнению авторов, нейропротекторный эффект гелия обусловлен увеличением экспрессии антиоксидантов, таких как SOD-1 и HO-1 [12].

Криптон (греч.: κρυπτός, «скрытый») был открыт шотландским химиком Уильямом Рамзи в 1898 году. Спустя более 100 лет криптон остаётся наименее изученным благородным газом, с точки зрения потенциальных фармакологических свойств. В исследовании Солдатов П.Э. и соавт. (2021 г.) была продемонстрирована устойчивость животных к гипоксии после прекодиционирования криптоносодержащей дыхательной смесью [13]. В лаборатории органопротекции при критических состояниях НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР было исследовано влияние криптона на ключевые сигнальные пути, ассоциированные с ишемической толерантностью и вторичным повреждением, при моделировании инсульта (2023 г.). В мозге животных выявлено подавление экспрессии NF- κ B, увеличение фосфо-GSK-3 β и протеинкиназы В [14]. Следует подчеркнуть, что научных исследований, посвящённых влиянию криптона на травматическое повреждение головного мозга, выполнено не было.

Цель исследования – изучение влияния криптон-кислородной смеси на неврологический статус крыс после моделирования открытой ЧМТ.

Методика

Исследование провели в соответствии с принятыми национальными и международными биоэтическими стандартами (Директива 2010/63/EU). Протокол исследования был утвержден Локальным этическим комитетом ФНКЦ РР № 3/22/6 от 14 декабря 2022 г.

Объектом исследования были крысы-самцы линии Wistar возрастом 6 мес. и весом 350–390 г. Размер выборки рассчитали с помощью программного обеспечения GraphPad StatMate 2.00 с учетом вариабельности исследуемых показателей, оцененной в тестовых экспериментах, и предполагаемой летальности 15% ($n = 33$).

Экспериментальных животных содержали в виварии в условиях, регламентированных приказом Минздрава

России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», а также требованиями Европейской конвенции по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, выводу их из эксперимента и последующей утилизации. Температура в виварии поддерживалась в пределах 22 ± 2 °С. В качестве подстилки во всех клетках использовали свежую крупную древесную стружку.

Критерии исключения животных из исследования:

1. признаки заболевания у лабораторного животного в исходном состоянии (выявляемые с помощью стандартного осмотра животного и оценки его поведения);
2. животные, умершие в процессе исследования до экспозиции в камере наркозного аппарата (вследствие дефектов анестезии или хирургического вмешательства).

Дизайн исследования: проспективное рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование на лабораторных животных (in vivo).

Животные были случайным образом разделены на 3 группы в зависимости от объема проводимых вмешательств:

1. ложнооперированные животные, которым проводили анестезию, подготовительные мероприятия без нанесения ЧМТ, но с ингаляцией азотно-кислородной смеси (N_2 70%/O₂ 30%), $n = 6$ (группа ЛО);
2. контрольная группа животных с ЧМТ и ингаляцией азотно-кислородной смеси (N_2 70%/O₂ 30%), $n = 11$ (группа ЧМТ);
3. опытная группа с ЧМТ и ингаляцией криптон-кислородной смеси (Kr 70%/O₂ 30%), $n = 16$ (группа ЧМТ+иKr).

Моделирование ЧМТ выполнено в условиях внутрибрюшинной анестезии хлоралгидратом в дозе 300 мг/кг в соответствии с методом дозированного контузионного повреждения открытого мозга [14]. В период пробуждения температуру тела животных поддерживали на уровне $37 \pm 0,5$ °С с помощью инфракрасной лампы. Контроль изменений осуществляли при помощи ректального датчика, соединенного с термореле. Ложнооперированным животным также проводили высверливание отверстия в черепе, но без нанесения удара.

Ингаляция дыхательных смесей

Система экспозиции животных в газовой среде (полузакрытый дыхательный контур), состоявшая из следующих компонентов:

1. Прозрачная пластиковая камера наркозного аппарата (объемом 35 литров) с входным и выходным отверстиями для подачи, рециркуляции и отвода газовых смесей;
2. Система рециркуляции воздуха, состоящая из камеры (объемом 5 литров), кулера, обеспечивающего однонаправленный поток газовой смеси через камеру, в которой находится в разных отсеках система адсорбции избыточной влаги (индикаторный силикагель) и поглощения CO₂ (натронная известь);
3. Клапан выдоха, расположенный у выходного отверстия системы рециркуляции (для обеспечения однонаправленной подачи газовой смеси после ее обработки);
4. Датчик измерения влажности и температуры, установленный внутри камеры для измерения температуры газовой смеси во время размещения в ней животных;
5. Датчики измерения состава газовой смеси (концентрации кислорода и криптона), размещенные в контуре рециркуляции газовой смеси;
6. Клапан APL (adjustable pressure-limiting) для сброса избыточного давления, размещаемый в отверстии отвода газовых смесей;
7. Металлические баллоны с редукторами и переключателями потока, содержащие криптон-кислородную (Kr 70%/O₂ 30%) и азотно-кислородную смесь (N_2 70%/O₂ 30%);
8. Соединительные резиновые трубки, пластиковые коннекторы и тройники для сбора компонентов системы.

Для оценки неврологического статуса лабораторных крыс использовали 2 теста: «Постановка конечности на опору» и «Цилиндр». В первом случае использовали протокол, разработанный Де Риком М. и Ёлккеном Ю. и основанный на подсчете баллов [16, 17]. Если крыса не выполняла задание – 0 баллов, выполняла нормально – 2 балла, выполняла испытание с промедлением или неполностью – 1 балл. За каждое испытание баллы суммировались.

В тесте «Цилиндр» подсчитывали количество стоек, совершенных животным отдельно с опорой на стенку пораженной передней лапой, непораженной передней лапой и обеими конечностями. После этого считали, какой процент составляют стойки с опорой на переднюю лапу от общего числа стоек. Чем выше процент стоек с опорой на пораженную конечность, тем в большей степени восстановились функции нервной системы после повреждения [18].

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ SPSS Statistics (Version версия 27.0.1) и GraphPad Prism (Version версия 8.0.1). Нормальность распределения признаков в выборках оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медианное значение, Q1 – первый квартиль (25-й процентиль) и Q3 – третий квартиль (75-й процентиль). Статистические различия в данных, распределение которых отличалось от нормального, анализировали с использованием U-теста Манна-Уитни для анализа не более двух групп, для трёх и более групп применялся тест Краскела-Уоллиса с поправкой методом Бенджамини-Кригера-Иекутиелли. Для однофакторного дисперсионного анализа повторных измерений использовался критерий Фридмана с апостериорным анализом Уилкоксона с поправкой на множественные сравнения (три и более группы) методом Бенджамини-Кригера-Иекутиелли. Для сравнения частотных переменных между независимыми группами применялся критерий Хи-квадрат или точный тест Фишера.

Критерием статистической значимости был уровень $p < 0,05$.

Результаты

Летальность и осложнения

На протяжении 14 дней эксперимента 5 животных были выведены из эксперимента в связи с дости-

жением конечной гуманной точки (2 крысы из группы ЧМТ – 18,2%; 3 крысы из группы ЧМТ+иКр – 18,8%), но значимой разницы в группах не было ($p = 0,677$). Среди оставшихся животных летальных исходов не было. В обеих экспериментальных группах встречалось развитие абсцессов в области послеоперационных швов. В группе ЧМТ развился 1 абсцесс, что составило 9,1%, в группе же ЧМТ+ иКр – 3 абсцесса, что составило 18,8% от общего числа животных. При сравнении групп с помощью точного критерия Фишера значимой разницы между группами также не выявлено ($p = 0,645$). Всего были проанализированы результаты 24 особей: 6 животных из группы ЛО, 8 животных из группы ЧМТ и 10 – из группы ЧМТ+иКр.

Влияние криптона на физическое восстановление крыс

Все животные, включённые в исследование, имели медианное значение массы тела 354 (322; 378) г. и не имели статистически значимой разницы по данному показателю между группами ($p > 0,05$), (табл. 1). При межгрупповом сравнении в течение эксперимента во всех контрольных точках не отмечалось статистически значимой разницы в массе животных между группами (рис. 1).

Анализ изменения массы внутри групп показал сходную тенденцию: все животные имели небольшую потерю массы тела после моделирования ЧМТ, которая сохранялась до третьих суток наблюдения. Однако статистически значимой эта разница была только в группе ЧМТ+иКр (табл. 2). Прирост же массы тела относительно исходных

Таблица 1 / Table 1

Масса тела животных в контрольных точках по группам

Body weight of animals at control points by groups

Группа Group	Контрольные точки Control points				
	Д-0 D-0	Д-1 D-1	Д-3 D-3	Д-7 D-7	Д-14 D-14
ЛО Sham	328 (307; 384)	321 (310; 372)	320 (310; 381)	351 (320; 389)	351 (333; 400)
ЧМТ TBI	330 (305; 382)	326 (297; 374)	325 (288; 390)	334 (291; 386)	349 (309; 376)
ЧМТ+ иКр TBI+iKr	354 (334; 361)	337 (326; 352)	339 (321; 360)	348 (327; 371)	362 (350; 382)

Примечание: данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала Me (Q1; Q3).

Note: data are presented as median and interquartile range Me (Q1; Q3).

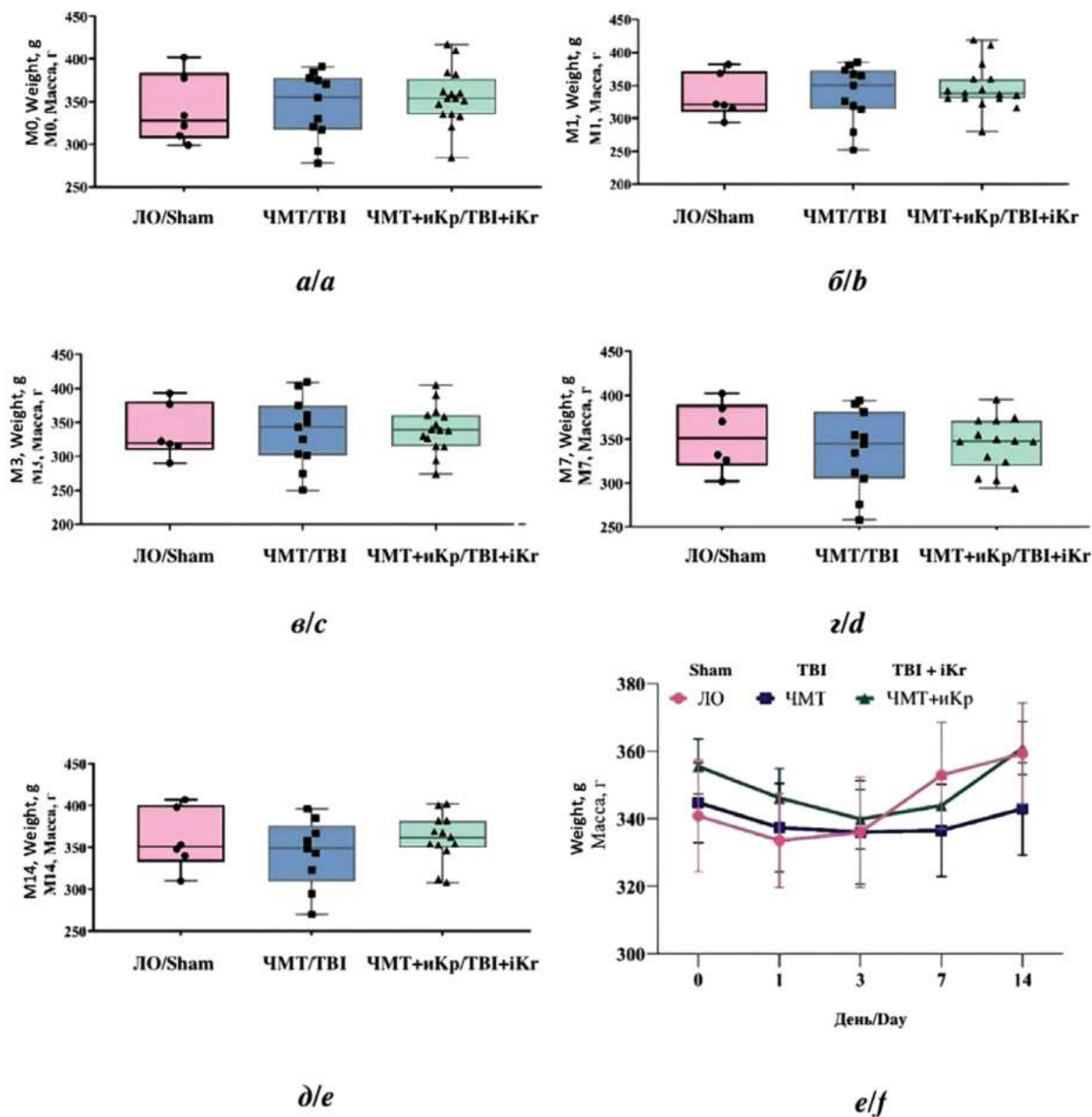


Рис. 1. Сравнение данных массы тела животных по группам в контрольных точках: а) масса крыс до моделирования ЧМТ; б) масса крыс через сутки после моделирования ЧМТ; в) масса крыс через 3 суток после моделирования ЧМТ; г) масса крыс через 7 суток после моделирования ЧМТ; д) масса крыс через 14 суток после моделирования ЧМТ; е) изменения показателей в динамике за время наблюдения.

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала Me (Q1; Q3).

Fig. 1. Comparison of body weight data of animals by groups at control points: а) weight of rats before modelling of traumatic brain injury; б) weight of rats one day after modelling of traumatic brain injury; в) weight of rats 3 days after modelling of traumatic brain injury; г) weight of rats 7 days after modelling of traumatic brain injury; д) weight of rats 14 days after modelling of traumatic brain injury; е) changes of indicators in dynamics during the observation period.

Note. Data are presented as median and interquartile range Me (Q1; Q3).

Таблица 2 / Table 2

Результаты внутригруппового анализа изменения массы тела животных в динамике

Results of intragroup analysis of changes in body weight of animals in dynamics

Группа Group	Тест Фридмана Friedman test	Попарное сравнение с поправкой на множественные сравнения Бенджамини-Кригера-Иекутелли Benjamini-Krieger-Iekutelli multiple comparisons adjusted pairwise comparisons									
		M1 vs. M0	M3 vs. M0	M7 vs. M0	M14 vs. M0	M3 vs. M1	M7 vs. M1	M14 vs. M1	M7 vs. M3	M14 vs. M3	M14 vs. M7
ЛО Sham	0,0009	0,144	0,315	0,235	0,029	0,648	0,008	0,0003	0,029	0,001	0,315
ЧМТ TBI	0,0211	0,087	0,044	0,655	0,412	0,766	0,767	0,011	0,118	0,005	0,005
ЧМТ+иКр TBI+iKr	< 0,0001	0,022	0,016	0,804	0,063	0,901	0,041	< 0,0001	0,030	< 0,0001	0,035

Примечание: данные представлены в виде p-value, цветом отмечены ячейки, где p-value < 0,05.

Note: data are presented as p-value, colour indicates cells where p-value < 0.05.

данных (M0) отмечался только в группе ЛО на 14-е сутки наблюдения (M14), в то время как в обеих группах с ЧМТ масса тела была близка к исходной к концу наблюдения.

По результатам неврологического осмотра у всех животных, которым моделировалась ЧМТ, ожидаемо отмечался значимый неврологический дефицит. На 3-и сутки в группе ЧМТ он составил 2,5 (1,25; 4,75) балла, а в группе ЧМТ+иКр – 3,5 (2,75; 8,5) балла, (p = 0,207) (рис. 2). На 7-е сутки наблюдения неврологический дефицит в группе ЧМТ составил 2,5 (2; 5,25) балла, а в группе ЧМТ+иКр – 9 (6; 10,3) баллов (p = 0,011) (рис. 3). На 14-е сутки наблюдения неврологический дефицит в группе ЧМТ составил 4,5 (3,25; 5,75) балла, а в группе ЧМТ+иКр – 10 (7,5; 11,3) баллов (p = 0,001) (рис. 4).

Таким образом, изучение неврологического дефицита при 14-дневном наблюдении с применением теста

«Постановка конечности на опору» выявило статистически значимо меньший неврологический дефицит на 7-е и 14-е сутки дни посттравматического периода у животных, получавших криптон-кислородную смесь на фоне перенесенного повреждения мозга.

При статистическом анализе теста «Цилиндр» выявлено, что процент стоек с опорой на поврежденную конечность для группы ЛО составил в среднем 12,5% (9,1; 50), для группы ЧМТ – 47,7% (35,7; 56,9), для группы ЧМТ+иКр – 35,9% (27,6; 58,7). При этом по сравнению с группой ЛО процент опоры на поврежденную конечность в группах ЧМТ+иКр и ЧМТ статистически значимо не отличался (p = 0,143). Статистически значимых отличий между группами ЧМТ и ЧМТ+иКр по данному показателю также не выявлено (p = 0,549). Что касается абсолютного числа касаний, то значимые отличия отмечались в касани-

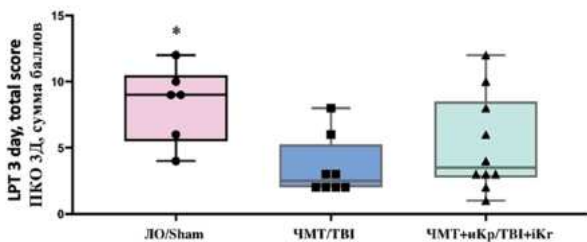


Рис. 2. Результаты теста «Постановка конечности на опору» (3-й день) в группах сравнения. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3), * – p < 0,05 относительно группы ЧМТ.

Fig. 2. Results of the "Limb Placement test" (day 3) in the comparison groups. Data are presented as Me (Q1; Q3), * – p < 0.05 relative to the trauma group.

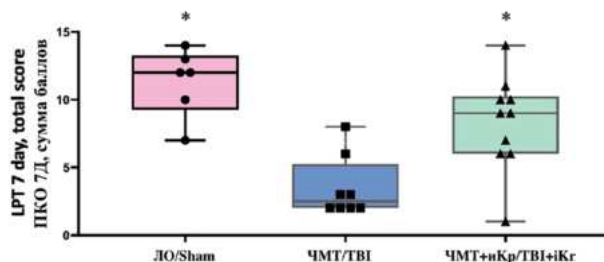


Рис. 3. Результаты теста «Постановка конечности на опору» (7-й день) в группах сравнения. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3), * – p < 0,05.

Fig. 3. Results of the "Limb Placement Test" (day 7) in the comparison groups. Data are presented as Me (Q1; Q3), * – p < 0.05.

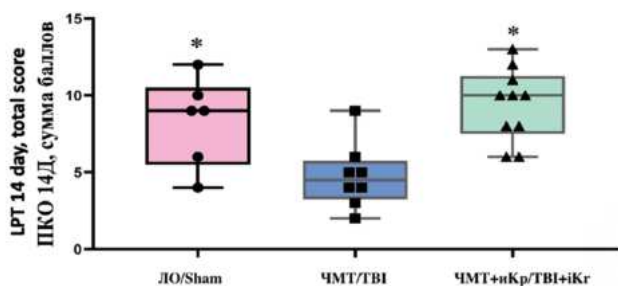


Рис. 4. Результаты теста «Постановка конечности на опору» (14-й день) в группах сравнения. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3), * – $p < 0,05$.

Fig. 4. Results of the «Limb Placement Test» (day 14) in the comparison groups. Data are presented as Me (Q1; Q3), * – $p < 0.05$

ях левой конечностью. Животные группы ЛО статистически значимо реже касались левой конечностью по сравнению с животными, которым выполнялась ЧМТ ($p = 0,004$). Число касаний в группе ЛО составило 2 (1; 3), в группе ЧМТ – 5 (2,75; 8,25), в группе ЧМТ+ иКр – 4,5 (3,25; 6,5). При этом между собой группы ЧМТ и ЧМТ+ иКр статистически значимо не отличались ($p = 0,974$).

Обсуждение

Результаты исследования подтверждают наличие нейротективного эффекта криптона при черепно-мозговой травме. Ингаляция криптон-кислородной смеси способствовала значительному улучшению неврологического статуса у крыс по сравнению с контрольной группой. Животные, получавшие криптон, демонстрировали меньший неврологический дефицит на 7-е и 14-е сутки наблюдения, что свидетельствует о более быстром восстановлении сенсомоторных функций.

Снижение неврологического дефицита у животных в группе ЧМТ+ иКр может быть связано с модуляцией воспалительного ответа [19]. Этот эффект, вероятно, реализуется через влияние на сигнальные пути воспали-

ния и антиоксидантной защиты, что ранее было показано для других инертных газов, таких как ксенон и аргон [20, 21]. Однако, в отличие от них, криптон остается недостаточно изученным, и настоящее исследование является одним из первых, демонстрирующих его терапевтический потенциал [22].

Полученные данные согласуются с результатами ранее проведенных работ, указывающих на способность инертных газов модулировать нейровоспаление и уменьшать вторичное повреждение мозга [23]. В то же время криптон имеет ряд преимуществ перед ксеноном, включая доступность и экономическую эффективность, что делает его перспективным кандидатом для дальнейших исследований.

Несмотря на выявленные позитивные эффекты, исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, эксперимент проведен на модели ЧМТ у крыс, что требует дальнейшего изучения механизма действия криптона в клинических условиях. Во-вторых, влияние криптона на долгосрочные нейропластические процессы остается неясным и требует дополнительных исследований, направленных на изучение возможных эффектов на когнитивные функции и процессы нейрогенеза.

Заключение

Таким образом, ингаляция криптон-кислородной смеси после ЧМТ приводит к улучшению неврологического восстановления у лабораторных животных, возможно, за счёт уменьшения вторичного повреждения головного мозга. Эти данные открывают новые перспективы для дальнейших исследований криптона как потенциального нейротектора, который может стать новым терапевтическим агентом в нейрореаниматологии. Однако необходимы дополнительные исследования, направленные на уточнение молекулярных механизмов его действия и определение оптимального режима применения в терапевтической практике.

Литература

(п.п. 1, 3, 7, 8; 10–12; 15–23 см. References)

2. Ключевский В.В., Литвинов И.И. *Практическая травматология: руководство для врачей*. М.: Практическая медицина. 2020: 400. ISBN 978-5-98811-610-3
4. Кабиольский И.А., Симоненко С.Д., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А. Терапевтические эффекты инертных газов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2024; 110(10): 1582–1601. <https://doi.org/10.31857/S0869813924100033>
5. Беда Е.Е., Габитов М.В., Гребенчиков О.А. Влияние ксенона в различных концентрациях на объем поражения головного мозга и выраженность неврологических нарушений у крыс при моделировании открытой черепно-мозговой травмы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(1): 26–36. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2024.01.26-36>
6. Гребенчиков О.А., Молчанов И.В., Шпичко А.И., Евсеев А.К., Шабанов А.К., Хусаинов Ш.Ж., Петриков С.С. Нейротективные свойства ксенона по данным экспериментальных исследований. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2020; 9(1): 85–95. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-1-85-95>
9. Боева Е.А., Гребенчиков О.А. Органотективные свойства аргона (обзор). *Общая реаниматология*. 2022; 18(5): 44–59. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2022-5-44-59>

13. Солдатов П.Э., Шулагин Ю.А., Тюрин-Кузьмин А.Ю., Дьяченко А.И. Устойчивость к гипоксической гипоксии после предварительного воздействия нормоксических дыхательных смесей, содержащих аргон или криптон. *Авиакосм. и экол. медицина*. 2021; 55(3): 74–80. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2021-55-3-74-80>
14. Антонова В.В., Шумов И.В., Долгих В.Т., Гребенчикова А.А., Габитов М.В., Якупова Э.И. и др. Влияние дыхательной смеси криптон-кислород на сигнальные каскады в головном мозге крыс при моделировании фотохимически индуцированного инсульта. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2024; 178(9): 321–7. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2024-178-9-321-327>

References

1. Boulton M., Al-Rubaie A. Neuroinflammation and neurodegeneration following traumatic brain injuries. *Anat Sci Int*. 2025; 100(1): 3–14. <https://doi.org/10.1007/s12565-024-00778-2>
2. Klyuchevskiy V.V., Litvinov I.I. *Practical traumatology: a manual for doctors*. Moscow: Practical Medicine. 2020: 400. ISBN 978-5-98811-610-3 (in Russian)
3. Ng S.Y., Lee A.Y. Traumatic brain injuries: pathophysiology and potential therapeutic. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2019; 13: 528. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00528>
4. Kabiolskiy I.A., Simonenko S.D., Sarycheva N.U., Dubynin V.A. Therapeutic effects of noble gases. *Rossiyskiy fiziologičeskij žurnal im. I.M. Sečenova*. 2024. 110(10): 1582–601. <https://doi.org/10.31857/S0869813924100033> (in Russian)
5. Beda E.E., Gabitov M.V., Grebenchikov O.A. The effect of xenon in various concentrations on the volume of brain damage and the severity of neurological disorders in a rat model of open traumatic brain injury. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya (Pathological physiology and experimental therapy)*. 2024. 68(1): 26–36. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2024.01.26-36> (in Russian)
6. Grebenchikov O.A., Molchanov I.V., Shpichko A.I., Yevseyev A.K., Shabanov A.K., Khusainov S.Z. et al. Neuroprotective Properties of Xenon According to Experimental Studies. *Russian Sklifosovskiy Journal "Emergency Medical Care"*. 2020; 9(1): 85–95. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-1-85-95> (in Russian)
7. Harris K., Armstrong S.P., Campos-Pires R., Kiru L., Franks N.P., Dickinson R. Neuroprotection against traumatic brain injury by xenon, but not argon, is mediated by inhibition at the N-methyl-D-aspartate receptor glycine site. *Anesthesiology*. 2013; 119(5): 1137–48. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3182a2a265>
8. Campos-Pires R., Hirnet T., Valeo F., Ong B.E., Radyushkin K., Aldhoun J. et al. Xenon improves long-term cognitive function, reduces neuronal loss and chronic neuroinflammation, and improves survival after traumatic brain injury in mice. *Br. J. Anaesthesia*. 2019. 123(1): 60–73. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2019.02.032>
9. Boeva E.A., Grebenchikov O.A. Organoprotective properties of argon (Review). *General Reanimatology*. 2022; 18(5): 44–59. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2022-5-44-59> (in Russian)
10. Zhao H., Mitchell S., Koumpa S., Cui Y.T., Lian Q., Hagberg H., et al. Heme oxygenase-1 mediates neuroprotection conferred by argon in combination with hypothermia in neonatal hypoxia – ischemia brain injury. *Anesthesiology*. 2016; 125:180–92. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000001128>
11. Koziakova M., Harris K., Edge C.J., Franks N.P., White I.L., Dickinson R. Noble gas neuroprotection: xenon and argon protect against hypoxic-ischaemic injury in rat hippocampus in vitro via distinct mechanisms. *Br. J. Anaesthesia*. 2019; 123(5): 601–9. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2019.07.010>
12. Li Y., Zhang P., Liu Y., Liu W., Yin N. Helium preconditioning protects the brain against hypoxia/ischemia injury via improving the neurovascular niche in a neonatal rat model. *Behav. Brain Res*. 2016; 314: 165–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.08.015>
13. Soldatov P.E., Shulagin Y.A., Tyurin-Kuzmin A.Y., Dyachenko A.I. Endurance of hypoxic hypoxia after preliminary breathing of normoxic mixtures containing argon or krypton. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2021; 55(3): 74–80. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2021-55-3-74-80> (in Russian)
14. Antonova V.V., Shumov I.V., Dolgikh V.T., Grebenchikova A.A., Gabitov M.V., Yakupova E.I. et al. Influence of breathing krypton-oxygen mixture on signalling cascades in the rat brain in the simulation of photoinduced ischemic stroke. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2024; 178(9): 321–327. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2024-178-9-321-327> (in Russian).
15. Feeney D.M., Boyeson M.G., Linn R.T., Murray H.M., Dail W.G. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain research*. 1981; 211(1): 67–77. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90067-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90067-6)
16. De Ryck M. Photochemical stroke model: flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats. *Stroke*. 1989; 20(10): 1383–90. <https://doi.org/10.1161/01.str.20.10.1383>
17. Jolkkonen J., Puurunen K., Rantakömi S., Härkönen A., Haapalinna A., Sivenius J. Behavioral effects of the α 2-adrenoceptor antagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2000; 400: 211–9. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00409-x](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00409-x)
18. Schallert T., Fleming S.M., Leasure J.L., Tillerson J.L., Bland S.T. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2000; 39(5): 777–87. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(00\)00005-8](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(00)00005-8)
19. Kalra S., Malik R., Singh G., Bhatia S., Al-Harrasi A., Mohan S., и др. Pathogenesis and management of traumatic brain injury (TBI): role of neuroinflammation and anti-inflammatory drugs. *Inflammopharmacology*. 2022; 30(4): 1153. <https://doi.org/10.1007/S10787-022-01017-8>
20. Filev A.D., Silachev D.N., Ryzhkov I.A., Lapin K.N., Babkina A.S., Grebenchikov O.A. et al. Effect of xenon treatment on gene expression in brain tissue after traumatic brain injury in rats. *Brain Sci*. 2021; 11(7): 889. <https://doi.org/10.3390/BRAINS111070889>
21. Moro F., Fossi F., Magliocca A., Pascente R., Sammali E., Baldini F. et al. Efficacy of acute administration of inhaled argon on traumatic

- brain injury in mice. *Br. J. Anaesth.* 2021; 126(1): 256–64. <https://doi.org/10.1016/J.BJA.2020.08.027>
22. Antonova V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Y., Pevzner I.B., Yakupova E.I., Pisarev M.V. et al. Neuroprotective effects of krypton inhalation on photothrombotic ischemic stroke. *Biomedicines.* 2024; 12(3): 1–4. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030635>
23. Yin H., Chen Z., Zhao H., Huang H., Liu W. Noble gas and neuroprotection: From bench to bedside. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 1028688. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1028688>

Сведения об авторах:

Антонова Виктория Витальевна, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. органопротекции при критических состояниях НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР;

Куйдин Дмитрий Владимирович, соискатель НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР;

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

Крюков Иван Александрович, аспирант НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР;

Редкин Иван Валерьевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. органопротекции при критических состояниях НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР;

Черпаков Ростислав Александрович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. органопротекции при критических состояниях НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР;

Кузовлев Артём Николаевич, доктор мед. наук, профессор, зам. директора, руководитель НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР.

© Коллектив авторов, 2025
УДК616-092.9

Гребнев Д.Ю.^{1,2}, Маклакова И.Ю.^{1,2}, Слаутин В.Н.¹, Александрова А.Д.¹

Антифибротическое действие плацентарных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при фиброзе печени

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России 620028, Екатеринбург, Россия, ул. Репина, д. 3;

²ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», 620026, Екатеринбург, Россия, ул. Карла Маркса, д. 22а

Введение. К развитию фиброза печени приводит большое количество хронических заболеваний печени, таких как хронические вирусные гепатиты, алкогольная интоксикация, первичный склерозирующий холангит, аутоиммунные гепатиты и другие. В патогенезе развития фиброза печени на фоне действия этиологического фактора ведущее значение отводится активации перисинусоидальных клеток печени. Ито с последующей их дифференцировкой в миофибробластоподобные клетки, которые являются центральными регуляторами фиброгенеза. В настоящем исследовании проводится аллогенная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), выделенных из плаценты животным с фиброзом печени. Эти клетки способны к синтезу ряда факторов, которые потенциально можно рассматривать как антифиброгенные. Цель исследования – оценка возможности использования плацентарных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для лечения фиброза печени.

Методика. Эксперименты выполнены на 30 мышах-самцах в возрасте 8–10 недель. Фиброз моделировали путем внутрибрюшинного введения тетрахлорметана в количестве 2 мкл/г веса животного в течение 6 недель, 2 раза в неделю. Далее животные, у которых был индуцирован фиброз печени, были разделены на две группы: основную группу и группу положительного контроля. Основная группа – мыши, которым однократно внутривенно вводили ММСК в количестве 1×10^6 клеток/мышь в 0,2 мл. Положительный контроль составили мыши, которым после моделирования фиброза не вводили клетки. Через 5 недель после моделирования фиброза печени производилась оценка эффективности проводимой терапии. Выделение культуры плацентарных ММСК осуществлялось из хориона плаценты согласно методу А.С. Тепляшина и соавт. 2004. Жизнеспособность выделенных клеток оценивали с помощью 7-AAD. Для оценки тяжести фиброза использовалась шкала METAVIR. Количественный анализ содержания коллагена в печени проводили с использованием набора Picro Sirius Red Stain Kit. В гистологическом препарате печени проводилось определение количества MMP9, MMP13, TIMP1, α -SMA-положительных клеток, CD45 положительных клеток. В гомогенате печени оценивалось содержание факторов роста HGF и TGF- β , Pro-Collagen I alpha 1 β . В сыворотке крови определялись уровни провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α . Полученные данные были проанализированы с использованием методов вариационной статистики. Для сравнения параметров между группами применяли: t-критерий Стьюдента – при нормальном распределении данных (проверялось тестом Шапиро – Уилка), непараметрический U-критерий Манна – Уитни – при отклонении от нормального распределения. Для оценки взаимосвязи множественных переменных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с пост-хок тестом Тьюки для множественных сравнений.

Результаты. Через 5 недель после моделирования фиброза печени на фоне трансплантации ММСК отмечено снижение активности фиброза по шкале METAVIR на 50%. Трансплантация ММСК сопровождалась уменьшением содержания CD 45+ клеток в печени, что приводило к снижению уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Введение ММСК также сопровождалось уменьшением площади соединительной ткани на 33,1%. Площадь гистологического препарата, окрашенного на α -SMA, а также количество α -SMA-положительных клеток после введения ММСК сократились на 28,3% и на 31,0% соответственно. Введение ММСК привело к снижению количества MMP9 – и увеличению MMP13 – продуцирующих клеток, а также к уменьшению количества TIMP-1 – положительных клеток. Выявлено снижение уровня TGF- β и увеличение HGF в печени. При анализе биохимических показателей сыворотки получено, что введение ММСК привело к снижению активности трансаминаз, восстановлению белковосинтетической функции печени и снижению уровня общего билирубина.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высоком терапевтическом потенциале плацентарных ММСК. Использование ММСК, выделенных из хориона плаценты, можно рассматривать как перспективный неоперативный способ лечения фиброза печени.

Ключевые слова: плацентарные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки; фиброз печени; миофибробласты; перисинусоидальные клетки печени Ито

Для цитирования: Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю., Слаутин В.Н., Александрова А.Д. Антифибротическое действие плацентарных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при фиброзе печени. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(4): 89–100.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.89-100

Участие авторов: проведение исследования, сбор данных, написание текста – Гребнев Д.Ю.; сбор, анализ, статистическая обработка материала – Маклакова И.Ю.; проведение исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка графических элементов и иллюстративного материала – Слаутин В.Н.; анализ и интерпретация материала – Александрова А.Д. Утверждение окончательного текста статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Гребнев Дмитрий Юрьевич, e-mail: dr-grebnev77@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

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

Поступила 21.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Grebnev D.Yu.^{1,2}, Maklakova I.Yu.^{1,2}, Slautin V.N.¹, Alexandrova A.D.¹

Antifibrotic effect of placental multipotent mesenchymal stromal cells in liver fibrosis

¹Urals State Medical University, Repin str., 3, Ekaterinburg, Russian Federation

²Institute of Medical Cell Technologies, Karl Marx Str., 22a, Ekaterinburg, Russian Federation;

Introduction. A large number of chronic liver diseases, such as chronic viral hepatitis, alcohol intoxication, primary sclerosing cholangitis, autoimmune hepatitis and others, lead to the development of liver fibrosis. In the pathogenesis of the development of liver fibrosis against the background of the action of an etiological factor, the leading importance is assigned to the activation of perisinusoidal liver cells and their subsequent differentiation into myofibroblast-like cells, which are central regulators of fibrogenesis. In this study, allogeneic transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) isolated from the placenta in animals with liver fibrosis is performed. These cells are capable of synthesizing a number of factors that can potentially be considered antifibrogenic. The aim of the study was to evaluate the possibility of using placental multipotent mesenchymal stromal cells for the treatment of liver fibrosis.

Methods. The experiments were performed on 30 male mice aged 8–10 weeks. Fibrosis was modeled by intraperitoneal injection of carbon tetrachloride in an amount of 2 µl/g of animal weight for 6 weeks, 2 times a week. Further, the animals with induced liver fibrosis were divided into two groups: the main group and the positive control. The main group consisted of mice that received a single intravenous injection of MMSC in the amount of 1×10^6 cells/mouse in 0.2 ml. The positive control consisted of mice that were not injected with cells after fibrosis modeling. 5 weeks after modeling liver fibrosis, the effectiveness of the therapy was evaluated. The culture of placental MMSCs was isolated from the chorion of the placenta according to the method of A.S. Teplyashin et al. 2004. The viability of isolated cells was assessed using 7-AAD. The METAVIR scale was used to assess the severity of fibrosis. Quantitative analysis of the collagen content in the liver was performed using the Picro Sirius Red Stain Kit. The number of MMP9, MMP13, TIMP1, alpha-SM positive cells, and CD45 positive cells was determined in the histological preparation of the liver. The content of growth factors HGF and TGF-β, Pro-Collagen I alpha 1 β, was evaluated in liver homogenate. The levels of proinflammatory cytokines were determined in the blood serum: interleukin-1b, tumor necrosis factor-α. The data obtained were analyzed using the methods of variation statistics. To compare the parameters between the groups, the Student's t-test was used for a normal distribution of data (tested by the Shapiro – Wilk test), and the nonparametric Mann – Whitney U-test was used for deviations from the normal distribution. One-factor analysis of variance (ANOVA) with the Tukey post-hoc test for multiple comparisons was used to assess the relationship of multiple variables.

Results. 5 weeks after modeling liver fibrosis on the background of MMSC transplantation, a decrease in fibrosis activity on the METAVIR scale by 50% was noted. MMSC transplantation was accompanied by a decrease in the content of CD 45+ cells in the liver. This led to a decrease in the level of proinflammatory cytokines in the blood serum. The introduction of MMSC was also accompanied by a decrease in the area of connective tissue by 33.1%. The area of the histological preparation stained with α-SMA, as well as the number of α-SMA positive cells after the introduction of MMSC decreased by 28.3% and 31.0%, respectively. The introduction of MMSCs led to a decrease in the number of MMP9 and an increase in MMP13 producing cells, a decrease in the number of TIMP-1 positive cells. A decrease in the level of TGF-β and an increase in HGF in the liver were also revealed. When analyzing the biochemical parameters of serum, it was found that the introduction of MMSC led to a decrease in the activity of transaminases, restoration of protein-synthetic liver

function, and a decrease in the level of total bilirubin.

Conclusion. The results obtained indicate a high therapeutic potential of placental MMSCs. The use of MMSCs isolated from the chorion of the placenta can be considered as a promising non-surgical method for the treatment of liver fibrosis.

Keywords: placental multipotent mesenchymal stromal cells; liver fibrosis; myofibroblasts; perisinusoidal liver cells Ito

For citation: Grebnev D.Yu., Maklakova I.Yu., Slautin V.N., Alexandrova A.D. Antifibrotic effect of placental multipotent mesenchymal stromal cells in liver fibrosis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2025; 69(4): 89–100. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.89-100

Author's contribution: conducting research, data collection, writing the text – Grebnev D.Yu.; statistical processing of material – Maklakova I.Yu.; conducting research, collecting, analyzing and interpreting data, preparing graphic elements and illustrative material – Slautin V.N.; analyzing and interpreting data – Alexandrova A.D. Approval of the final text of the article – all authors.

For correspondence: **Dmitry Y. Grebnev**, Doctor of Medical Sciences, Associate Prof., Head of the Department of Pathological Physiology of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education Urals State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Senior Researcher at the Institute of Medical Cell Technologies, e-mail: dr-grebnev77@mail.ru

Information about the authors:

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

Maklakova I.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-6895-7947>

Slautin V.N., <https://orcid.org/0000-0003-3967-0442>

Alexandrova A.D., <https://orcid.org/0000-0002-3600-8894>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 21.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Прогрессирующий фиброз печени продолжает оставаться актуальной проблемой гепатологии, приводя к развитию цирроза и печеночной недостаточности [1]. К его развитию приводит широкий спектр хронических заболеваний печени, таких как хронические вирусные гепатиты, алкогольная интоксикация, первичный склерозирующий холангит, аутоиммунные гепатиты и другие [2, 3]. В патогенезе фиброза печени центральную роль играют активация перисинусоидальных клеток печени (клеток Ито) и их дифференцировка в миофибробластоподобные клетки, которые являются центральными регуляторами фиброгенеза [2]. Активированные перисинусоидальные клетки печени Ито становятся продуцентами биологически активных веществ: трансформирующего фактора роста (TGF- β), фактора роста тромбоцитов (PDGF), тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (TIMPs), способствующих прогрессированию фиброза [3]. По мере прогрессирования фибротических изменений в печени активность миофибробластоподобных клеток увеличивается. В настоящее время отсутствуют эффективные терапевтические подходы к лечению фиброза печени, что делает актуальным поиск новых методов терапии.

В качестве перспективного терапевтического подхода рассматривается применение мультипотентных ме-

зэнхимальных стромальных клеток (ММСК), выделенных из плаценты. Плацентарные ММСК обладают рядом преимуществ по сравнению с ММСК, полученными из других источников: низкой иммуногенностью, высокой пролиферативной активностью и возможностью их получения неоперативным путем [4]. Антифибротический эффект ММСК может быть реализован через секрецию факторов роста, таких как фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор стволовых клеток (SCF), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [5]. Важным свойством ММСК является продукция цитокинов, обладающих противовоспалительным действием: интерлейкинов 4 и 10 [6, 7]. Развитие фиброза печени сопровождается активацией Wnt и TGF- β внутриклеточных сигнальных путей [8]. ММСК способны ингибировать эти пути, что также можно рассматривать как один из механизмов антифибротического действия ММСК [9]. Еще одним механизмом, определяющим регресс фиброза, является способность ММСК вырабатывать матриксные металлопротеиназы: MMP2, MMP9 и MMP13 [7]. При фиброзе печени миофибробласты синтезируют компоненты внеклеточного матрикса, состоящего в основном из коллагена типов I и III [10]. Продукция ММСК матриксных металлопротеиназ обеспечивает разрушение «патологического» коллагена. Коллектив под руководством проф. Н.А. Онищенко

внес значительный вклад в развитие клеточных технологий для лечения печеночной патологии. В исследованиях на моделях хронической печеночной недостаточности было показано, что применение клеточно-инженерных конструкций (КИК) на основе ММСК приводит к улучшению морфофункциональных показателей печени [11]. Были установлены ключевые механизмы действия ММСК в составе КИК, включающие подавление TGF- β /SMAD-пути, индукцию аутофагии в гепатоцитах и стимуляцию ангиогенеза в зоне имплантации [12]. Таким образом, представляется перспективным изучение возможности использования плацентарных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для лечения фиброза печени.

Методика

Эксперименты были выполнены на 30 мышах – самцах ICR/CD1 в возрасте 8–10 недель (масса 20–22 г). Содержание животных и дизайн исследования были одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (протокол № 7 от 27 октября 2023 г.). При проведении экспериментов были соблюдены этические нормы и рекомендации по гуманному отношению к лабораторным животным, изложенные в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» и в Приказе Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» по содержанию, уходу, кормлению, выводу из эксперимента и последующей утилизации. До и во время эксперимента мыши находились в виварии при температуре воздуха +20 – 22°C, в световом режиме – день/ночь. Животные находились в стандартных пластиковых клетках по 10 особей с мелкой древесной стружкой. До начала эксперимента и во время исследования мышей содержали на стандартном рационе.

Исследования проведены в два этапа. На первом этапе производилось моделирование фиброза (20 животных). С целью моделирования фиброза печени осуществлялось регулярное внутрибрюшинное введение тетрахлорметана в количестве 2 мкл/г веса животного в растворе персикового масла (1:4) в течение 6 недель 2 раза в неделю. На втором этапе животные, у которых был индуцирован фиброз печени после введения тетрахлорметана, были разделены на две группы: основную группу и группу положительного контроля. Основной группе – мышей однократно внутривенно (в хвостовую вену) вводили ММСК в количестве 1×10^6 клеток/мышь в 0,2 мл PBS (Phosphate-buffered saline, фосфатно-солевой буфер, рН 7,4). Группу положительного контроля составили мы-

ши, которым после моделирования фиброза не вводили клетки. Через 5 недель после моделирования фиброза печени производилась оценка эффективности проводимой терапии. Группу интактных животных (10 животных), составили мыши, которым не вводили тетрахлорметан – группа негативного контроля.

Выделение культуры плацентарных ММСК осуществлялось из хориона плаценты согласно методу А.С. Тепляшина и соавт., 2004. Жизнеспособность выделенных клеток оценивали с помощью 7-AAD на проточном цитометре Beckman Coulter Navios с использованием набора Mouse Mesenchymal Stem Cell Multi-Color Flow Cytometry Kit (Bio-Techne, США). Жизнеспособность клеток с иммунофенотипом положительных по CD105, CD29, Sca-1 и отрицательных по CD45 составила 95,4% (рис. 1).

Для гистологического исследования из левой доли печени были получены кусочки размером $10 \times 10 \times 5$ мм, которые в дальнейшем фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального забуференного формалина («Ретиниды», Россия). Были изготовлены срезы толщиной 3–5 мкм. Для каждого экспериментального животного делали микрофотографии без перекрытия по всей поверхности среза печени при объективе $\times 20$. Микропрепараты от каждого экспериментального животного исследовались с использованием светового микроскопа Axio Scope A1 («CarlZeiss», Германия). Для анализа микрофотографий использована морфометрическая программа SIAMS (ООО «Сиамс», Россия). Для оценки тяжести фиброза использовалась шкала METAVIR. Количественный анализ содержания коллагена в печени проводили с использованием набора Picro Sirius Red Stain Kit (Abcam, UK). В каждом препарате печени было проанализировано 15 областей площадью 0,28 мм². Общая распространенность фиброза в печени была выражена в процентах и определена как отношение окрашенной области (соединительная ткань) к общей площади анализируемого препарата. При определении доли коллагенизации в паренхиме печени не учитывалась соединительная ткань в портальных трактах и центральной вене.

Иммуногистохимическое исследование печени

Подготовленные гистологические препараты инкубировали с первичными кроличьими антителами специфичными к мыши (Abcam, UK), в течение 12 часов при температуре +4°C:

1. MMP9 (matrix metalloproteinase, MMP, матриксная металлопротеиназа; Recombinant Anti-MMP9 antibody), 1:5000.

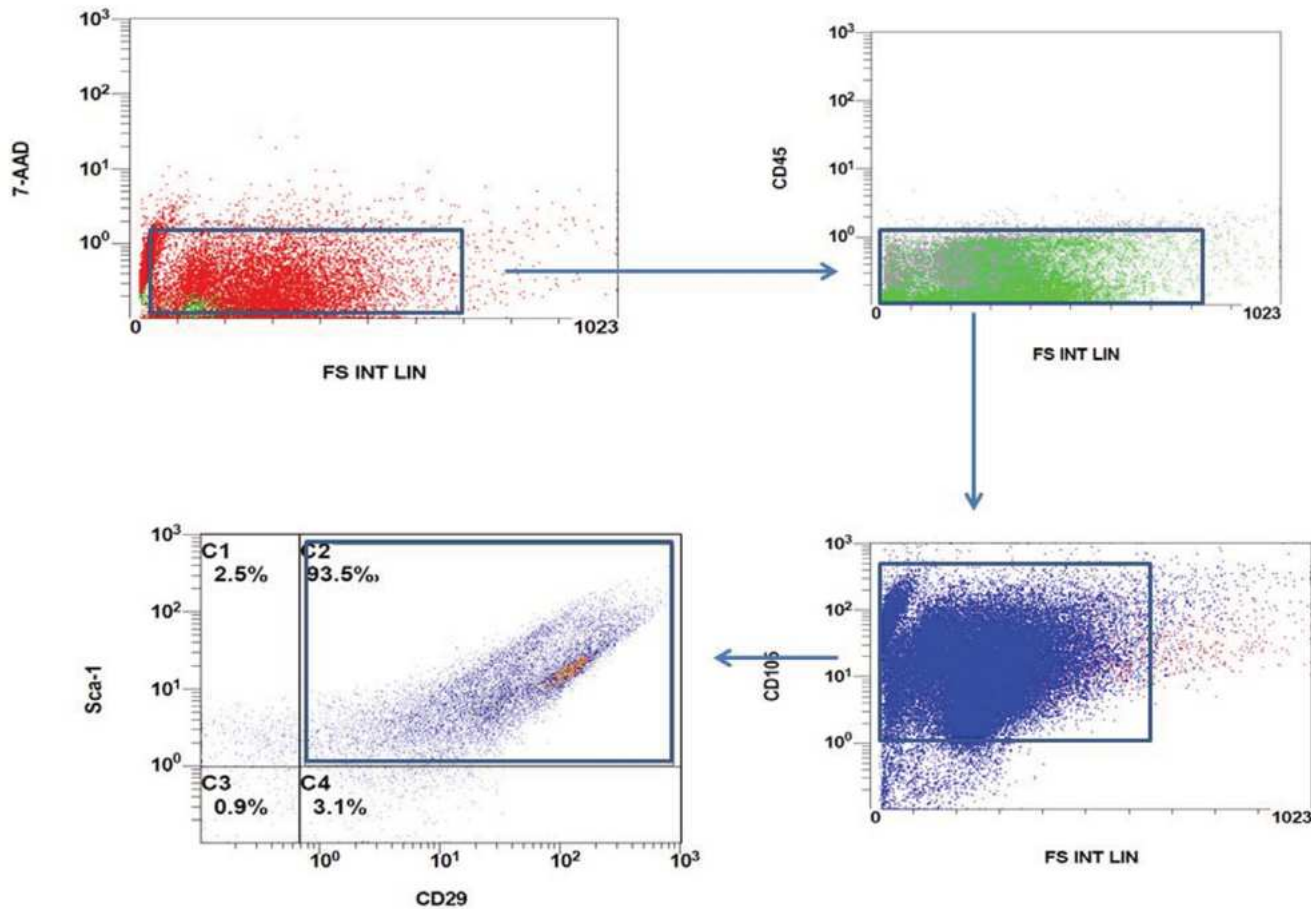


Рис. 1. Последовательность гейтирования для получения ММСК с фенотипом CD45-, CD105+, Sca1+, CD29+.

Fig. 1. Gating sequence for obtaining MMSCs with CD45-, CD105+, Sca1+, CD29+phenotypes.

2. MMP13 (matrix metalloproteinase, MMP, матриксная металлопротеиназа; Recombinant AntiMMP13 antibody), 1: 500.
3. TIMP1 (tissue inhibitor of metalloproteinase 1, тканевой ингибитор металлопротеиназ-1; AntiTIMP1 antibody), 1: 500.
4. α-SMA (Alpha-smooth muscle actin, альфа гладкомышечный актин; Recombinant Anti-alpha smooth muscle Actin antibody), 1:1000.

Срезы инкубировали со вторичными антителами GoatAnti-RabbitIgG H&L (HRP) при комнатной температуре в течение 2 часов, 1:500 (Abcam, UK). Для выполнения иммуногистохимических исследований была использована система детекции с субстратом пероксидазы (DAB Substrate Kit, набор для приготовления рабочего раствора диаминобензидина) (Abcam, UK). Окраска ядер клеток гистологического препарата была прове-

дена с использованием гематоксилина Майера (Avantor, Нидерланды).

Для количественной оценки лейкоцитарной инфильтрации в гистологическом препарате печени срезы инкубировали со специфическими мышиными антителами к CD45RFITC (RA3-6B2) (Santa Cruz Biotech, США), разведенными 1:100 в универсальном разбавителе антител (Abcam, Великобритания), в течение 12 ч при температуре +4°C. Визуализацию клеточных ядер проводили с использованием раствора DAPI/Antifade (Millipore, США). Гистологические препараты печени анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Axioscope 5 (CarlZeiss, Германия) с объективом × 20 и камерой цветного микроскопа AxioCam 305 (CarlZeiss, Германия).

Определение факторов роста HGF и TGF-β в гомогенате печени проводили методом иммуноферментного анализа с использованием наборов: Mouse HGF

SimpleStep ELISA® Kit (Abcam, UK), Mouse TGF beta 1 ELISA Kit (Abcam, UK) на аппарате (Thermo Fisher Scientific, США).

Исследование концентрации Pro-Collagen I alpha 1 β в гомогенате печени проведено с использованием набора (Mouse Pro-Collagen I alpha 1 ELISA Kit, Abcam, UK).

Уровни провоспалительных цитокинов, интерлейкина-1 β (IL-1 β), фактора некроза опухоли- α (TNF- α), в сыворотке крови определяли с использованием наборов SEA563Mu ELISA kit для интерлейкина 1 бета и SEA133Mu ELISA kit для фактора некроза опухоли альфа (Cloud-Clone Corp, Китай). Определение этих показателей проводили с помощью иммуноферментного анализа и биохимического анализатора ChemWell 2910 (Combi, США).

Полученные данные были проанализированы с использованием методов вариационной статистики. Для сравнения параметров между группами применяли: t-критерий Стьюдента – при нормальном распределении данных (проверялось тестом Шапиро – Уилка), непараметрический U-критерий Манна–Уитни – при отклонении от нормального распределения. Для оценки взаимосвязи множественных переменных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным пост-хок тестом Тьюки для множественных сравнений. Результаты представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего (M \pm SEM) – для нормально распределенных данных, медиана [25%; 75% квантили] – для ненормальных распределений. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработку проводили в программах Prism 9 (GraphPad Software, США) – для визуализации и первичного анализа и SPSS 26.0 (IBM, США) – для сложных статистических моделей.

Результаты

При анализе гистологических препаратов печени группы положительного контроля в сравнении с нормальной печенью и группой, получившей ММСК, отме-

чается следующее: наблюдается умеренно выраженная диффузная воспалительная инфильтрация, увеличено количество вен в печени, дольковое строение нарушено, гепатоциты гипертрофированы, ядра полиморфные. В ядрах большинства клеток отмечаются многочисленные гранулы гетерохроматина. Определяется выраженная гидропическая дистрофия печени. У всех животных этой группы наблюдается холестаза (**рис. 2**).

В гистологических препаратах печени основной группы (животные, которым вводили ММСК) паренхима однородная, в дольках наблюдаются радиально расходящиеся от центральных вен печеночные пластинки (печеночные балки), разделенные выраженными синусоидами. Гепатоциты полигональной формы. Контур ядра четкие, содержат 1–2 ядрышка. Небольшое количество гепатоцитов в дольках двуядерные, отмечаются одиночные лейкоциты в портальных зонах и в перисинусоидальном пространстве (**рис. 2**).

При анализе гистологической картины через 5 недель после моделирования фиброза печени в группе положительного контроля обнаружены выраженные фибротические изменения. В основной группе (вводились ММСК) отмечено снижение активности фиброза. Количество животных с 3-й стадией фиброза по шкале METAVIR снизилось на 50%, у 20% мышей верифицирована 1-я стадия фиброза, тогда как у мышей без введения клеток выявлен фиброз 2-й и 3-й стадий (**табл. 1**). Эти данные свидетельствуют о том, что трансплантированные клетки способствовали регрессу соединительной ткани.

Гистологический анализ печени выявил значительное увеличение количества CD45+ клеток (маркер лейкоцитарной инфильтрации) в группе положительного контроля по сравнению с интактными животными (негативный контроль). Параллельно зафиксировано повышение уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β и ФНО- α) в сыворотке крови, что подтверждает сохранение активного воспалительного процесса в печени через 5 недель после окончания воздействия тетрахлорметана.

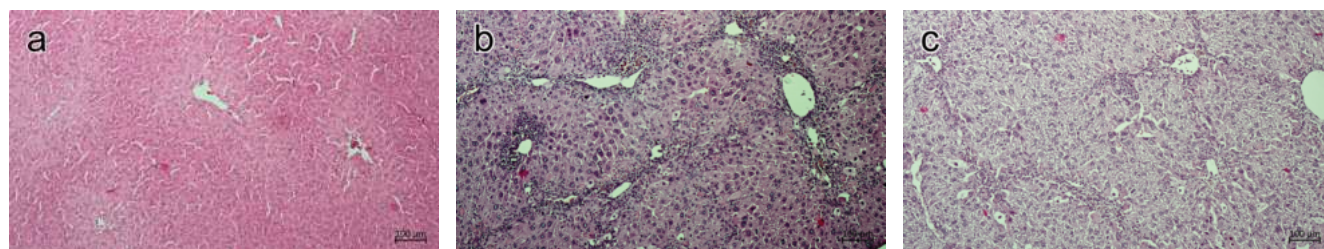


Рис.2. Гистологическая картина печени без клеток (с), после введения ММСК (вb) в сравнении с нормальной печенью (а) (Объектив $\times 10$). Гематоксилин – эозин.

Fig. 2. Histological picture of the liver without cells (c), after the introduction of MMSC (bb) in comparison with the normal liver (a) (Lens $\times 10$). Hematoxyliniseosin.

Таблица 1 / Table 1

Мыши с различными стадиями фиброза по шкале METAVIR через 5 недель после моделирования фиброза печени
Mice with different stages of fibrosis according to the METAVIR scale 5 weeks after modeling liver fibrosis

Группа Group	Стадия 0 Stage 0	Стадия 1 Stage1	Стадия 2 Stage2	Стадия 3 Stage3	Стадия 4 Stage4
Негативный контроль Negative control	10/10 (100%)	0	0	0	0
Положительный контроль (без клеток) Positive control (without cells)	0	0	2/10 (20%)	8/10 (80%)	0
Основная группа (ММСК) Main Group (MMSC)	0	2/10 (20%)	4/10 (40%)	4/10 (40%)	0

Введение ММСК привело к достоверному снижению количества CD45+ клеток на 21,86% относительно положительного контроля ($p < 0,05$). Этот эффект сопровождался уменьшением концентрации ИЛ-1 β на 20,4% и ФНО- α на 19,4%, что коррелирует с известной способностью ММСК секретировать противовоспалительные цитокины (ИЛ-4, ИЛ-10) [6, 13, 14]. Полученные данные свидетельствуют о модулирующем влиянии плацентарных ММСК на воспалительный ответ при фиброзе печени.

При оценке роли миофибробластов как ключевых продуцентов избыточного внеклеточного матрикса было проведено количественное определение α -SMA-позитивных клеток методом иммуногистохимического окрашивания. Через 5 недель после индукции фиброза тетрахлорметаном в группе положительного контроля наблюдалось достоверное увеличение площади соединительной

ткани в 3,2 раза по сравнению с интактными животными ($p < 0,01$), что сопровождалось значительным ростом количества α -SMA-позитивных клеток ($193,69 \pm 19,35$ против $11,90 \pm 2,78$ клеток/мм²) и площади α -SMA-окрашенных участков ($11,20 \pm 1,36\%$ против $0,15 \pm 0,02\%$). В группе, получавшей ММСК, зафиксировано снижение площади соединительной ткани на 33,1% ($4,90 \pm 0,30\%$ против $7,33 \pm 0,80\%$), уменьшение площади α -SMA-окрашивания на 28,3% ($6,90 \pm 1,56\%$ против $11,20 \pm 1,36\%$) и снижение количества α -SMA-позитивных клеток на 31,0% ($145,16 \pm 18,79$ против $193,69 \pm 19,35$ клеток/мм²) относительно положительного контроля. Полученные данные свидетельствуют о выраженном антифибротическом эффекте плацентарных ММСК, проявляющемся в угнетении активации миофибробластов и уменьшении депозиции внеклеточного матрикса, что подтверждается как гистологически, так и иммуногистохимическими показателями.

Таблица 2 / Table 2

Содержание иммунокомпетентных клеток в печени и провоспалительных цитокинов в сыворотке крови мышей через 5 недель после моделирования фиброза печени

The content of immunocompetent cells in the liver and pro-inflammatory cytokines in the blood serum of mice 5 weeks after modeling liver fibrosis

Показатели Indicators	Негативный контроль Negative control	Положительный контроль (без клеток) Positive control (without cells)	Основная группа (ММСК) Main Group (MMSC)
Количество CD 45+ клеток на 1 мм ² The number of CD 45+ cells per 1 mm ²	56,44 \pm 13,67	267,10 \pm 20,01 ¹	208,70 \pm 20,36 ^{1,2}
Интерлейкин 1 β , пг/л Interleukin 1 β , pg/l	976,60 \pm 83,01	1782,70 \pm 135,96 ¹	1418,40 \pm 93,09 ^{1,2}
Фактор некроза опухоли α , нг/л Tumor necrosis factor α , ng/l	74,55 \pm 10,05	186,20 \pm 14,73 ¹	150,00 \pm 15,25 ^{1,2}

Примечание: ¹Отличие от негативного контроля, достоверно с $p < 0,05$. ²Отличие от положительного контроля, достоверно с $p < 0,05$.

Note: ¹The difference from negative control, significantly with $p < 0.05$. ²The difference from the positive control is significant with $p < 0.05$.

Таблица 3 / Table 3

Содержание соединительной ткани и экспрессия белка α-SMA в печени мышей через 5 недель после моделирования фиброза печени на фоне введения ММСК в дозе 1 млн клеток/кг

Connective tissue content and alpha-SMA protein expression in the liver of mice 5 weeks after modeling liver fibrosis on the background of MMSC administration at a dose of 1 million cells/kg

Показатели Indicators	Негативный контроль Negative control	Положительный контроль (без клеток) Positive control (without cells)	Основная группа (ММСК) Main Group (MMSC)
Площадь соединительной ткани (%) Connective tissue area (%)	2,28 ± 0,23	7,33 ± 0,80 ¹	4,90 ± 0,30 ^{1,2}
Количество α-SMA окрашенных клеток на 1 мм ² Number of α-SMA stained cells per 1 mm ²	11,90 ± 2,78	193,69 ± 19,35 ¹	145,16 ± 18,79 ^{1,2}
Площадь α-SMA окрашенной области (%) Area-SMA of the colored area (%)	0,15 ± 0,02	11,20 ± 1,36 ¹	6,90 ± 1,56 ^{1,2}

Примечание. ¹Отличие от негативного контроля, достоверно с $p < 0,05$. ²отличие от положительного контроля, достоверно с $p < 0,05$.

Note. ¹The difference from negative control, significantly with $p < 0.05$. ²The difference from the positive control is significant with $p < 0.05$.

Иммуногистохимический анализ экспрессии матричных металлопротеиназ выявил существенную модуляцию их профиля под действием ММСК. В группе с трансплантацией ММСК зарегистрировано достоверное снижение количества MMP9-позитивных клеток на 30,78% ($p < 0,05$) по сравнению с положительным контролем. Учитывая, что при фиброзе печени MMP9 преимущественно

экспрессируется гепатоцитами под действием провоспалительных цитокинов, а также активированными клетками Купфера и звездчатыми клетками печени, наблюдаемое снижение может быть обусловлено противовоспалительным действием ММСК. Это подтверждается параллельным уменьшением инфильтрации CD45+ клеток и снижением сывороточных уровней ИЛ-1β и ФНО-α.

Таблица 4 / Table 4

Уровень матричных металлопротеиназ и тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ-1 в печени мышей через 5 недель после моделирования фиброза печени

The level of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 in the liver of mice 5 weeks after modeling liver fibrosis

Показатели Indicators	Негативный контроль Negative control	Положительный контроль (без клеток) Positive control (without cells)	Основная группа (ММСК) Main Group (MMSC)
Количество MMP9 позитивных клеток на 1 мм ² Number of MMP9 positive cells per 1 mm ²	28,43 ± 3,99	248,87 ± 17,28 ¹	172,26 ± 14,76 ^{1,2}
Количество MMP13 позитивных клеток на 1 мм ² Number of MMP13 positive cells per 1 mm ²	210,12 ± 18,24	328,52 ± 20,85 ¹	409,09 ± 15,12 ^{1,2}
Количество TIMP-1 позитивных клеток на 1 мм ² Number of TIMP-1 positive cells per 1 mm ²	303,88 ± 22,49	428,61 ± 33,65 ¹	348,81 ± 20,01 ^{1,2}
MMP9/TIMP-1	0,09 ± 0,01	0,58 ± 0,07 ¹	0,49 ± 0,05 ¹
MMP13/TIMP-1	0,70 ± 0,09	0,77 ± 0,09	1,18 ± 0,06 ^{1,2}

Примечание. ¹Отличие от негативного контроля, достоверно с $p < 0,05$. ²Отличие от положительного контроля, достоверно с $p < 0,05$.

Note. ¹The difference from negative control, significantly with $p < 0.05$. ²The difference from the positive control is significant with $p < 0.05$.

Парадоксальным образом отмечено увеличение количества ММР13-экспрессирующих клеток на 24,52% ($p < 0,05$). Современные данные свидетельствуют о том, что ММСК способны как непосредственно синтезировать ММР13 [15], так и индуцировать его продукцию резидентными клетками печени, вероятно, через механизмы паракриной регуляции. Важную роль в этом процессе может играть хемотаксический фактор SDF-1, опосредующий рекрутирование ММСК в зоны фиброза [16, 17]. Интересно, что часть ММР13-позитивных клеток морфологически идентифицировалась как гепатоциты, что указывает на возможную трансдифференцировку или активацию синтетической функции этих клеток под влиянием ММСК.

Одновременно зафиксировано снижение количества ТИМР-1-позитивных клеток на 18,62% ($p < 0,05$), что коррелирует с уменьшением популяции активированных миофибробластов. Особое значение имеет выявленное изменение баланса ММР-13/ТИМР-1 в сторону преобладания металлопротеиназной активности. Полученные данные позволяют предположить, что антифибротический эффект ММСК реализуется через сложный механизм, включающий подавление воспалительной реакции и связанной с ней продукции ММР-9, усиление деградации матрикса за счет индукции ММР-13 и снижение ингибиторного потенциала ТИМР-1. Такая комплексная модуляция протеолитического баланса создает благоприятные условия для ремоделирования фиброзной ткани.

Определение экспрессии факторов роста и уровня матриксных металлопротеиназ после введения ММСК позволило определить механизм действия ММСК на регресс соединительной ткани. Содержание TGF- β было снижено в группе животных, которым вводили ММСК, относительно положительного контроля, что было след-

ствием уменьшения количества α -SMA позитивных миофибробластов, продуцирующих данный фактор роста (табл. 5). Трансформирующий фактор роста – это один из ключевых механизмов самоактивации миофибробластов, продуцирующих фибриллярные коллагены в печени. Содержание фактора роста гепатоцитов, напротив, значительно увеличилось, что может быть обусловлено снижением дифференцировки клеток Ито в печени миофибробласты. Согласно современным данным, α -SMA – позитивные миофибробласты – это основной источник выработки TGF- β [18, 19]. Следует отметить, что ММСК способны продуцировать фактор роста гепатоцитов. Мы связываем увеличение экспрессии HGF в печени не только с продукцией аллогенных ММСК, но также и аутологических ММСК. Миграция аутологических ММСК в печень может быть обусловлена способностью этих клеток к выработке хемоаттрактанта SDF-1, stromal cell-derived factor-1, стромальный фактор, производный от клеток стромы [17].

При анализе биохимических показателей сыворотки крови через 5 недель после окончания введения тетрахлорметана отмечен повышенный уровень ферментов, характеризующих цитолиз гепатоцитов – АЛТ и АСТ, снижение альбумина и повышение содержания общего билирубина. После трансплантации ММСК произошло снижение активности трансаминаз, восстановление белково-синтетической функции печени, снижение уровня общего билирубина (табл. 6).

Обсуждение

Учитывая, что эффективность существующих терапевтических методов лечения фиброза ограничена, проводятся многочисленные исследования, направленные

Таблица 5 / Table 5

Содержание факторов роста в гомогенате печени мышей через 5 недель после моделирования фиброза печени

The content of growth factors in the liver homogenate of mice 5 weeks after modeling liver fibrosis

Показатели Indicators	Негативный контроль Negative control	Положительный контроль (без клеток) Positive control (without cells)	Основная группа (ММСК) Main Group (MMSC)
Количество HGF пг/г печени The amount of HGF pg/g of liver	1480,41 ± 135,11	610,98 ± 30,87 ¹	1051,32 ± 75,36 ^{1,2}
Содержание TGF- β нг/г печени The content of TGF- β ng/g of liver	12,27 ± 1,80	23,05 ± 1,40 ¹	19,09 ± 1,79 ^{1,2}

Примечание. ¹Отличие от негативного контроля, достоверно с $p < 0,05$. ²отличие от положительного контроля, достоверно с $p < 0,05$.

Note. ¹The difference from negative control, significantly with $p < 0.05$. ²The difference from the positive control is significant with $p < 0.05$.

на поиск новых способов лечения фиброза печени. Следует отметить, что в развитии фиброза печени принимают участие разные механизмы: выделение иммунокомпетентными клетками повышенного количества медиаторов и модуляторов воспаления, прогрессирующий ангиогенез и избыточное образование внеклеточного матрикса [19, 20]. Ключевым событием в развитии фиброза печени является дифференцировка клеток Ито и портальных фибробластов в миофибробласты, которые ответственны за избыточную продукцию соединительной ткани, качественно отличающейся от соединительной ткани интактной печени [2, 3]. В ранее проведенных исследованиях был продемонстрирован антифибротический потенциал ММСК, выделенных из костного мозга и жировой ткани. В настоящем исследовании показана способность ММСК, выделенных из хориона плаценты, вызывать регресс фиброзных изменений в печени. Результаты морфологического исследования показали снижение содержания коллагена I и III типов. При этом степень выраженности фиброза, которая была определена полуколичественным методом по шкале METAVIR, после введения плацентарных ММСК снизилась по сравнению с животными, которым не проводилась трансплантация клеток. У 50% мышей, получавших лечение, отмечено снижение степени тяжести фиброза, при этом у 20% мышей зарегистрирована минимальная активность фиброгенеза. Эти изменения могут быть обусловлены противовоспалительным действием ММСК – у лабораторных мышей в сыворотке крови после введения ММСК выявлено снижение уровня медиаторов воспаления, а в печени – уменьшение коли-

чества лейкоцитов. Это находит подтверждение в работах немецких исследователей, которые показали, что снижение степени выраженности фиброза связано с уменьшением площади воспаления [21].

Известно, что миофибробласты являются одним из основных источников TGF-β [18, 19]. В проведенном исследовании установлено снижение количества миофибробластов (α-SMA-положительных клеток), что привело к уменьшению экспрессии TGF-β. Этот фактор роста отвечает за дифференцировку перисинусоидальных клеток печени Ито в миофибробласты, формируя, таким образом, порочный круг в развитии фиброза печени. Снижение выработки ключевых профиброгенных факторов, в том числе TGF-β, и уменьшение количества миофибробластов приводит к подавлению образования избыточного количества внеклеточного матрикса. С другой стороны, в ходе проведенных исследований обнаружено, что после трансплантации ММСК уровень фактора роста гепатоцитов оказался выше, чем у животных без лечения. Эти изменения можно объяснить блокированием дифференцировки клеток печени Ито в миофибробласты. Данный фактор роста способствует пролиферации гепатоцитов, снижению апоптоза и, таким образом, стимуляции регенерации печени.

Выявленное нами увеличение соотношения MMP13/TIMP1 свидетельствует о смещении баланса в сторону деградации патологического коллагена, что является важным механизмом регресса фиброза. MMP13 играет ключевую роль в разрушении коллагена I типа и восстановлении нормальной архитектоники печени.

Таблица 6 / Table 6

Биохимические показатели сыворотки крови мышей через 5 недель после моделирования фиброза печени
Biochemical parameters of blood serum of mice 5 weeks after modeling liver fibrosis

Показатели Indicators	Негативный контроль Negative control	Положительный контроль (без клеток) Positive control (without cells)	Основная группа (ММСК) Main Group (MMSC)
АСТ, ед/л AST, unit/l	57,50 ± 14,89	133,20 ± 10,20 ¹	102,40 ± 11,52 ^{1,2}
АЛТ, ед/л ALT, unit/l	46,80 ± 11,55	140,90 ± 12,10 ¹	106,40 ± 13,31 ^{1,2}
Альбумин, г/л Albumin, g/l	38,05 ± 2,84	30,22 ± 2,19 ¹	36,99 ± 1,54 ^{1,2}
Общий билирубин, мкмоль/л Total bilirubin, mmol/l	5,04 ± 1,17	16,12 ± 1,65 ¹	12,84 ± 2,30 ^{1,2}

Примечание. ¹Отличие от негативного контроля, достоверно с $p < 0,05$. ²отличие от положительного контроля, достоверно с $p < 0,05$.

Note. ¹The difference from negative control, significantly with $p < 0.05$. ²The difference from the positive control is significant with $p < 0.05$.

Подтверждением комплексного положительного эффекта терапии служат результаты биохимического анализа крови: снижение уровней АЛТ, АСТ, билирубина и повышение уровня альбумина отражает улучшение функционального состояния печени. Предполагается, что снижение активности трансаминаз связано с ингибированием продукции провоспалительных цитокинов TNF- α и ИЛ-1 β .

Таким образом, полученные данные на модели т-трахлорметан-индуцированного фиброза демонстрируют высокий терапевтический потенциал плацентарных ММСК. Их использование представляет собой перспективный и неинвазивный метод лечения фиброза печени,

способный не только замедлять прогрессирование заболевания, но и вызывать регресс патологических изменений. Особенно важно, что у значительной части животных после терапии выявлена минимальная степень фиброза, что свидетельствует о возможности достижения клинически значимого эффекта.

Данная работа вносит существенный вклад в развитие клеточных технологий для лечения хронических заболеваний печени и открывает новые перспективы для разработки инновационных терапевтических стратегий, направленных на восстановление структуры и функции печени при фиброзе.

Литература

(п.п. 1–10; 12–13; 15–16; 18–21 см. References)

11. Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Гречина А.В., Крашенинников М.Е., Никольская А.О., Волкова Е.А. и др. Коррекция хронической печеночной недостаточности в эксперименте путем имплантации клеточно-инженерных конструкций: морфофункциональные характеристики. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24(4): 60–72. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-4-60-72>
14. Маклакова И.Ю., Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю. Изменение морфометрических и цитологических показателей селезенки при острой кровопотере на фоне введения стволовых клеток. *Успехи геронтологии*. 2015; 28(2): 218–221.
17. Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю., Ястребов А.П. Перспектива использования стволовых клеток для активации кроветворения в условиях возрастной инволюции на фоне воздействия ионизирующего излучения. *Успехи геронтологии*. 2014; 27(2): 348–352.

References

1. Lee Y.S., Seki E. In Vivo and In Vitro Models to Study Liver Fibrosis: Mechanisms and Limitations. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2023; 16(3): 355–67. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2023.05.010>
2. Lee Ch., Kim M., Han J., Yoon M., Jung Y. Mesenchymal Stem Cells Influence Activation of Hepatic Stellate Cells, and Constitute a Promising Therapy for Liver Fibrosis. *Biomedicines*. 2021; 9(11): 1598. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111598>
3. Lv Y.-F., Xie Ch.-Sh., Liu Z.-X., Kang M.-D., Liu Y., Liao Z.-Q. et al. Sevelamer Reverses Liver Fibrosis by Deactivation of Hepatic Stellate Cells. *Biochemical Pharmacology*. 2024; 8: 116121. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116121>
4. Beeravolu N., McKee C., Alamri A., Mikhael S., Brown Ch., Petez-Cruet M. et al. Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta. *Journal of Visualized Experiments*. 2017; 122: 55224. <https://doi.org/10.3791/55224>
5. Stamatopoulos A., Stamatopoulos T., Gamie Z., Kenanidis E., Ribeiro R., Rankin K. et al. Mesenchymal Stromal Cells for Bone Sarcoma Treatment: Roadmap to Clinical Practice. *Journal of Bone Oncology*. 2019; 16: 100231. <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2019.100231>
6. Peng Y.-Q., Wu Z.-C., Xu Z.-B., Fang S.-B., Chen D.-H., Zhang H.-Y. et al. Mesenchymal Stromal Cells-Derived Small Extracellular Vesicles Modulate DC Function to Suppress Th2 Responses via IL-10 in Patient with Allergic Rhinitis. *European Journal of Immunology*. 2022; 52(7): 1129–40. <https://doi.org/10.1002/eji.202149497>
7. Moslem M., Valojerdi R.M., Pourmasr B., Muhammadnejad H.B., Baharvand H. et al. Therapeutic Potential of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells in Mice with Lethal Fulminant Hepatic Failure. *Cell Transplantation*. 2013; 22(10): 1785–99. <https://doi.org/10.3727/096368912X662462>
8. Li W., Jiang H., Feng J.-M. Isogenic Mesenchymal Stem Cells Transplantation Improves a Rat Model of Chronic Aristolochic Acid Nephropathy via Upregulation of Hepatic Growth Factor and Downregulation of Transforming Growth Factor β 1. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2012; 368(1–2): 137–45. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1352-5>
9. El-Derany M.O., Said R.S., El-Demerdash E. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Reverse Radiotherapy-Induced Premature Ovarian Failure: Emphasis on Signal Integration of TGF- β , Wnt/ β -Catenin and Hippo Pathways. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2021; 17(4): 1429–45. <https://doi.org/10.1007/s12015-021-10135-9>
10. Xu Z., He B., Jiang Y., Zhang M., Tian Y., Zhou N. et al. Igfbp2 Knockdown Improves CCl4-Induced Liver Fibrosis and TGF- β -Activated Mouse Hepatic Stellate Cells by Regulating Tgfbp1. *International Immunopharmacology*. 2022; 110: 108987. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108987>
11. Shagidulin M., Onishchenko N., Grechina A.V., Krashennnikov M., Lyundup A., Nikolskaya A. et al. Experimental Correction of Chronic Liver Failure by Implantation of Cellular Engineering Structures: Morphofunctional Characteristics. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24(4): 60–72. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-4-60-72> (In Russian)

12. Shagidulin M., Onishchenko N., Sevastianov V., Krasheninnikov M., Lyundup A., Nikolskaya A. et al. Experimental Correction and Treatment of Chronic Liver Failure Using Implantable Cell-Engineering Constructs of the Auxiliary Liver Based on a Bioactive Heterogeneous Biopolymer Hydrogel. *Gels*. 2023; 9(6): 456. <https://doi.org/10.3390/gels9060456>
13. Maruyama M., Rhee C., Utsunomiya T., Zhang N., Ueno M., Yao Z. al. Modulation of the Inflammatory Response and Bone Healing. *Frontiers in Endocrinology*. 2020; 11: 386. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00386>
14. Maklakova I.Yu., Yastrebov A.P., Grebnev D.Yu. Changes in the morphometric and cytological indices of the spleen after acute blood loss followed by stem cell injection. *Advances in Gerontology*. 2015; 5(4): 231–233. <https://doi.org/10.1134/S2079057015040153>
15. Arai Y., Lee S.-H. MMP12-Overexpressing Mesenchymal Stem Cells Enhance Bone Tissue Formation in the Presence of Collagen Hydrogel. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2023; 20(3): 461–71. <https://doi.org/10.1007/s13770-023-00535-y>
16. Hakki S., Bozkurt B.S., Hakki E.E., Karaoz E., Unlu A., Kayis S.A. SDF-1 Modulates Periodontal Ligament-Mesenchymal Stem Cells (pdl-MSCs). *Journal of Periodontal Research*. 2021; 56(4): 774–81. <https://doi.org/10.1111/jre.12876>
17. Grebnev D.Yu., Maklakova I.Yu., Yastrebov A.P. The Prospect of Using Stem Cells to Activate Hematopoiesis in Conditions of Age-Related Involution Against the Background of the Exposure to Ionizing Radiation. *Advances in Gerontology*. 2014; 27(2): 151-155. <https://rucont.ru/efd/547795> (In Russian)
18. Zhang X., Sharma P., Maschmeyer P., Hu Y., Lou M., Kim J. et al. GARP on Hepatic Stellate Cells is Essential for the Development of Liver Fibrosis. *Journal of Hepatology*. 2023; 79(5): 1214–25. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.05.043>
19. Dhar D., Baglieri J., Kisseleva T., Brenner D.A. Mechanisms of Liver Fibrosis and Its Role in Liver Cancer. *Experimental Biology and Medicine*. 2020; 245(2): 96–108. <https://doi.org/10.1177/1535370219898141>
20. Roehien N., Crouchet E., Baumert T.F. Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives. *Cells*. 2020; 9(4): 875. <https://doi.org/10.3390/cells9040875>
21. Krenkel O., Puenge T., Govaere O., Abdallah A., Mossanen J.C., Kohlhepp M. et al. Therapeutic Inhibition of Inflammatory Monocyte Recruitment Reduces Steatohepatitis and Liver Fibrosis. *Hepatology*. 2018; 67(4): 1270–83. https://journals.lww.com/hep/abstract/2018/04000/therapeutic_inhibition_of_inflammatory_monocyte.20.aspx

Сведения об авторах:

Гребнев Дмитрий Юрьевич, доктор мед. наук, доцент, зав. кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, ст. науч. сотр. лаб. антивозрастных технологий ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»;

Маклакова Ирина Юрьевна, доктор мед. наук, зав. кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, ст. науч. сотр. лаб. антивозрастных технологий ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»;

Слаутин Василий Николаевич, аспирант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России; **Александрова Анастасия Дмитриевна**, ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России.

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092.18+577.115/616.69-008.6

Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Лабыгина А.В., Гребенкина Л.А., Колесникова Л.И.

Коррекция процессов окислительной модификации липидов и нуклеиновых кислот у мужчин с идиопатическим бесплодием: этилметилгидроксипиридина малат (Этоксидол)

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

Введение. Мужской фактор является причиной 50% случаев бесплодия, причем одним из основных звеньев его патогенеза является окислительный стресс, возникающий в результате усиления свободнорадикальных процессов в условиях снижения буферной емкости антиоксидантной защиты. Современные исследования свидетельствуют о возможной терапевтической ценности антиоксидантов в борьбе с мужским бесплодием, вызванным окислительным стрессом, однако существует необходимость в более всесторонних доказательных исследованиях. **Цель:** оценка содержания продуктов окислительного повреждения липидов и нуклеиновых кислот, а также состояния компонентов антиоксидантной защиты при применении этилметилгидроксипиридина малата у мужчин с идиопатическим бесплодием.

Методика. В исследовании приняли участие 80 мужчин с идиопатическим бесплодием (средний возраст $30,2 \pm 3,6$ лет). Контрольную группу составили 50 практически здоровых мужчин с реализованной репродуктивной функцией (средний возраст $30,9 \pm 4,5$ лет). В качестве материала для исследований использовали плазму, сыворотку крови и гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Взятие проб крови производили в утренние часы натощак из локтевой вены в две пробирки: вакуумную пробирку с добавлением антикоагулянта ЭДТА-К3 и пробирку с активатором свёртывания.

Результаты. После курсового приема этилметилгидроксипиридина малата (30 суток) в крови мужчин с идиопатическим бесплодием отмечалось статистически значимое снижение показателей липопероксидации и деградации ДНК на фоне повышения мощности антиоксидантной системы, выразившегося достоверным повышением уровня СОД и АОА.

Заключение. В результате исследования установлено, что антиоксидантный препарат этилметилгидроксипиридина малат снижает интенсивность окислительных процессов в крови мужчин с идиопатическим бесплодием.

Ключевые слова: окислительный стресс; идиопатическое мужское бесплодие; антиоксиданты; этилметилгидроксипиридина малат

Для цитирования: Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Лабыгина А.В., Гребенкина Л.А., Колесникова Л.И. Коррекция процессов окислительной модификации липидов и нуклеиновых кислот у мужчин с идиопатическим бесплодием: этилметилгидроксипиридина малат (Этоксидол). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 101–110

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.101-110

Для корреспонденции: Курашова Надежда Александровна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии, ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: nakurashova@yandex.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Колесникова Л.И.; сбор и обработка материала – Дашиев Б.Г., Лабыгина А.В.; подготовка иллюстративного материала – Курашова Н.А., Гребенкина Л.А.; статистическая обработка материала – Дашиев Б.Г., Курашова Н.А.; написание текста – Курашова Н.А., Колесников С.И.; редактирование – Лабыгина А.В., Колесников С.И. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Лабыгина А.В., Гребенкина Л.А., Колесникова Л.И.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственной темы № 121022500180-6 «Патологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах».

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

Поступила 25.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Labygina A.V., Grebenkina L.A., Kolesnikova L.I.

Correction of the processes of oxidative modification of lipids and nucleic acids in men with idiopathic infertility: ethylmethylhydroxypyridine malat (Ethoxidol)

Scientific centre for family health and human reproduction problems, 16 Timiryazev str., 664003, Irkutsk, Russian Federation

The male factor is the cause of 50% of cases of infertility, and one of the main factors of its pathogenesis is oxidative stress that occurs as a result of increased free radical processes and reduce the buffer capacity of antioxidant protection. Modern studies indicate the possible therapeutic value of antioxidants in the fight against male infertility caused by oxidative stress, but there is a need for deeper and more comprehensive evidence-based research. **Aim:** Assessment of the content of oxidative damage to lipids, nucleic acids and antioxidant protection components when using ethyl chemical hydroxypyridin in men with idiopathic infertility.

Methods. The study was attended by 80 men with idiopathic infertility (average age 30.2 ± 3.6 years). The control group of practically healthy men with a realized reproductive function was 50 volunteers (average age 30.9 ± 4.5 years). As a material for studies, plasma, blood serum and lizat of red blood cellswere used. Blood was made in the morning, on an empty stomach, from the elbow vein to two test tubes: a vacuum test tube with the addition of an anticoagulant Edta-K3 and a test tube with a clot activator.

Results. After the course of intake of the drug ethylmethylhydroxypyridine malat (30 days) in the blood of men with idiopathic infertility, there is a statistically significant decrease in lipoperoxidation and DNA destruction against the background of increasing the power of the antioxidant system, expressed in a reliable increase in the level of SOD and AOA. Conclusion. As a result of the study, it was found that the antioxidant drug ethylmethylhydroxypyridine Malat reduces the oxidative processes in the blood of men with idiopathic infertility.

Keywords: oxidative stress; idiopathic male infertility; antioxidants; ethylmethylhydroxypyridine malat

For citation: Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Labygina A.V., Grebenkina L.A., Kolesnikova L.I. Correction of the processes of oxidative modification of lipids and nucleic acids in men with idiopathic infertility: ethylmethylhydroxypyridine malat (Ethoxidol). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 101–110. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.101–110.

For correspondence: **Nadezhda A. Kurashova**, PhD, leading researcher at the laboratory of pathophysiology, FSPSI «Scientific centre for family health and human reproduction problems», e-mail: nakurashova@yandex.ru

Author's contribution: concept and design of the study – Kolesnikova L.I.; collection and processing of material – Dashiev B.G., Labygina A.V.; statistical processing – Dashiev B.G., Kurashova N.A.; writing the text – Kurashova N.A., Kolesnikov S.I.; editing the text – Labygina A.V., Kolesnikov S.I. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Labygina A.V., Grebenkina L.A., Kolesnikova L.I.

Information about the authors:

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

Dashiev B.G., <https://orcid.org/0000-0003-2698-0687>

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

Labygina A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8190-6143>

Grebenkina L.A., <https://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

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

Financing. The work was performed as part of the state budget topic No. 121022500180-6 "Pathophysiological mechanisms and genetic-metabolic predictors of preservation of reproductive health and longevity in various age, gender and ethnic groups".

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

Received 25.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Окислительный стресс (ОС) – усиление окислительных процессов в организме при недостаточном функционировании антиоксидантной системы, приводящее к смещению равновесия концентраций прооксидантных и антиоксидантных компонентов с последующей активацией процессов окисления. Соблюдение равновесного баланса между составляющими данной системы служит необходимым условием для поддержания нормального функционирования клетки. На настоящий момент можно считать полностью доказанным факт, что окислительный стресс сопровождается практически все патологические состояния организма и воздействие большинства стрессовых факторов [1–5].

Избыточный окислительный стресс рассматривается как одна из причин мужской infertility [4, 6]. Мужское бесплодие является глобальной проблемой современной системы здравоохранения. В различных странах мира оно выявляется в среднем у 15% мужчин репродуктивного возраста. В России число мужчин с бесплодием за последние два десятилетия увеличилось более чем в два раза. У каждого двадцатого молодого мужчины в настоящее время количество сперматозоидов недостаточно для нормального выполнения репродуктивной функции [6]. В большинстве случаев причины снижения фертильности остаются невыясненными, и, по различным оценкам, от 20 до 75% диагностированного мужского бесплодия считается идиопатическим [7–9]. По меньшей мере, у 40% пациентов наблюдается чрезмерная активация свободнорадикальных процессов, которые индуцируют перекисное окисление липидов и повреждение ДНК сперматозоидов с образованием 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина, представляющего собой конечную форму окисленных гуаниновых оснований, которая не подвергается дальнейшей утилизации. Последний обладает высокой мутагенностью и может способствовать появлению до 75% новых мутаций в мужских первичных половых клетках [10].

Исходя из существенной роли окислительного стресса в развитии мужского бесплодия, для улучшения качества спермы проводится лечение пациентов различными препаратами с антиоксидантным действием, которые представляют собой природные или синтетические биомолекулы, препятствующие повреждению клеток [7, 11–13]. Однозначного ответа о пользе или вреде применения антиоксидантных препаратов для репродуктивного потенциала мужчины в настоящее время нет, многочисленные исследования достаточно противоречивы [14–16].

Этилметилгидроксипиридина малат, известный как Этоксидол, является одним из немногих зарегистрирован-

ных в России антиоксидантных препаратов, разрешенных к применению в медицинской практике. Благодаря многостороннему действию препарата обеспечиваются интенсификация процессов клеточного метаболизма и обмена веществ, регенерация клеток и нормализация липидного обмена [17]. Препарат ингибирует перекисное окисление липидов (ПОЛ), повышает активность супероксиддисмутазы (СОД), уменьшает вязкость мембран.

В связи с вышеизложенным, целью исследования явилась оценка у мужчин с идиопатическим бесплодием изменений содержания продуктов окислительного повреждения липидов и нуклеиновых кислот, а также состояния компонентов антиоксидантной защиты при применении этилметилгидроксипиридина малата.

Методика

В исследовании участвовали 80 мужчин (средний возраст 30,2±3,6 лет) с идиопатическим бесплодием из бесплодных супружеских пар, проходивших обследование и лечение на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск). Контрольную группу составили 50 практически здоровых мужчин (средний возраст 30,9±4,5 лет) с реализованной репродуктивной функцией. Критериями включения пациентов в исследование являлись: отсутствие беременности у супруги более 12 месяцев при регулярной половой жизни без контрацепции; невынашивание беременности супругой при наличии патозооспермии у мужчины; нормальное развитие наружных половых органов по данным физикального обследования. Критерии включения в контрольную группу: наличие у супруги в анамнезе беременности, закончившейся родами в течение последних двух лет; нормозооспермия. Критерии исключения: возраст младше 20 или старше 45 лет; азооспермия, криптозооспермия, некрозооспермия; психосексуальная и эякуляторная дисфункция; наличие активных воспалительных процессов; лабораторные признаки воспалительных изменений придаточных половых желез; установленные генетические причины бесплодия; гипергонадотропный или гипогонадотропный гипогонадизм; варикоцеле; наличие иммунной формы бесплодия (MAR-test IgG > 50%); наличие выраженной соматической патологии.

Все пациенты подписывали информированное добровольное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, (последняя редакция принята на 75-ой Генеральной Ассамблее ВМА, Хельсинки, Финляндия, октябрь 2024 г. 75th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, October 2024). Исследование одобрено комите-

том по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (выписка из протокола заседания №5 от 07.11.2019 г.).

Всем пациентам проведено обследование, включающее: сбор жалоб и анамнеза, физикальное обследование, лабораторную и инструментальную диагностику согласно клиническим рекомендациям «Мужское бесплодие» Российского общества урологов. Исследования эякулята проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ.

Проведено нерандомизированное исследование влияния антиоксидантного препарата на показатели системы перекисного окисления липидов-антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ). Исходя из клинических рекомендаций «Мужское бесплодие» Российского общества урологов, всем пациентам с идиопатическим мужским бесплодием для улучшения показателей эякулята и повышения вероятности зачатия рекомендовано соблюдение здорового образа жизни, включающего отказ от курения и приема алкоголя, умеренную физическую активность, нормализацию сна и режима питания. Первая группа ($n = 40$) следовала рекомендациям по ведению здорового образа жизни без добавления в рацион антиоксидантов, а группа сравнения ($n = 40$) не только соблюдала рекомендации по ведению здорового образа жизни, но и получала антиоксидантный препарат этилметилгидроксипиридина малат (Этоксидол). Пациенты принимали антиоксидантный препарат в течение 30 дней по 100 мг (1 таблетка) три раза в день во время еды.

В качестве материала для биохимических исследований использовали плазму, сыворотку крови и гемолизат эритроцитов. Забор крови производился в утренние часы натощак из локтевой вены в вакуумную пробирку с добавлением антикоагулянта ЭДТА-К3 и пробирку с активатором свёртывания.

Содержание компонентов системы ПОЛ-АОЗ: субстраты с двойными связями (Дв.св.), диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряженные триены (КД-СТ), ТБК-активные продукты (ТБК-АП), общую антиокислительную активность (АОА), α -токоферол, ретинол, супероксиддисмутазу (СОД), восстановленный (GSH) и окисленный (GSSG) глутатион определяли в плазме крови и эритроцитарном гемолизате общепринятыми спектрофотометрическими и флуориметрическими методами. Регистрацию оптических плотностей и флуоресценции проводили на спектрофотометре BTS-350 (Испания), спектрофотометре СФ-2000 (Россия) и флюорате «Флюорат-02- АБФФ-Т» (Россия).

Продукты окислительной модификации ДНК определяли в сыворотке крови с использованием набора AssayDesigns DNA Damage ELISA Kit (США), основанного на быстром и чувствительном конкурентном имму-

ноферментном анализе с использованием моноклональных антител к 8-ОН-2-дезоксигуанозину (8-ОНдГ). Измерения проводили на анализаторе ELx808 (BioTek, США) при $\lambda = 450$ нм.

Использовали метод индивидуальной оценки окислительного стресса при помощи апробированного метода расчета коэффициента окислительного стресса (КОС) по соотношению про- и антиоксидантных факторов.

$$КОС = \frac{\left(\frac{ДК_i}{ДК_n}\right) \times \left(\frac{КДуСТ_i}{КДуСТ_n}\right) \times \left(\frac{ТБК-АП_i}{ТБК-АП_n}\right)}{\left(\frac{СОД_i}{СОД_n}\right) \times \left(\frac{GSH_i}{GSH_n}\right) \times \left(\frac{\alpha-токоферол_i}{\alpha-токоферол_n}\right) \times \left(\frac{ретинол_i}{ретинол_n}\right)}$$

где i – уровни показателей обследуемых пациентов, n – уровни показателей контрольной группы.

В норме коэффициент окислительного стресса стремится к условной единицы1 [8]. Чем больше величина коэффициента окислительного стресса, тем более интенсивны процессы липопероксидации и менее эффективна система антиоксидантной защиты (АОЗ).

Статистическую обработку данных проводили с помощью специализированного пакета статистических и прикладных программ STATISTICA 10 (Stat-Soft Inc., США). Проверка нормальности распределения количественных признаков осуществлялась с помощью критериев Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро–Уилка, а также визуально-графическим методом. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-критерий). Оценка различий количественных показателей между изучаемыми группами проводилась непараметрическими методами статистического анализа с использованием критерия Манна–Уитни для независимых выборок и критерия Уилкоксона для связанных (зависимых) выборок. Данные представлены в виде медианы (Me), 1-го и 3-го квартилей (Q1; Q3). Анализ взаимосвязей показателей проводили методом ранговой корреляции Спирмена. Различия сравниваемых показателей считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Авторы ряда клинических исследований и метаанализов, включающие в первоначальные выборки всех мужчин с идиопатическим бесплодием, неизбежно «усредняют» результаты и получают данные о невысокой эффективности антиоксидантов. Анализ ряда исследований позволяет предположить, что существует определенная группа мужчин, которые получают явную пользу от приема антиоксидантов при правильно выделенной целевой группе. В наше исследование включены мужчины с повышенным уровнем окислительного стресса в крови.

У мужчин с идиопатическим бесплодием, включенных в группу без приема антиоксидантов, коэффициент окислительного стресса выше в 4 раза по сравнению с фертильными мужчинами и составляет 4,4 и 1,1 ($p < 0,05$) соответственно. У мужчин с идиопатическим бесплодием, вошедших в группу сравнения с применением антиоксидантного препарата, коэффициент окислительного стресса выше в 5,3 раза по сравнению с фертильными мужчинами и составляет 5,8 и 1,1 ($p < 0,05$) соответственно. Представленное значение коэффициента окислительного стресса свидетельствует о значительном дисбалансе в системе ПОЛ-АОЗ в сторону усиления процессов перекисного окисления липидов у мужчин с идиопатическим бесплодием.

Сравнение показателей свободнорадикального окисления между мужчинами с идиопатическим бесплодием и контрольной группой демонстрирует изменение в системе «ПОЛ-АОЗ» в сторону большего содержания субстратов и продуктов липопероксидации и концентрации 8-OHdG у мужчин с идиопатическим бесплодием (табл. 1, 2). Причиной этого может быть длительное влияние повреждающего фактора, способствующее истощению ресурсов системы антиоксидантной защиты, в нашем случае – снижению концентрации α -токоферола и активности СОД.

В крови мужчин с бесплодием, не принимавших этилметилгидроксипиридина малат, установлено достоверное снижение уровня 8-OHdG (табл. 1), что, возможно, является следствием устранения стрессовых факторов посредством соблюдения рекомендаций по здоровому образу жизни.

После приема антиоксидантного препарата в крови мужчин с идиопатическим бесплодием отмечается достоверно значимое снижение концентрации субстратов с ненасыщенными двойными связями на 18%, уровня ТБК-активных продуктов на 48% и 8-OHdG на 27%, что свидетельствует о снижении деструктивного влияния продуктов липопероксидации на организм. После приема этилметилгидроксипиридина малата у мужчин с бесплодием установлено увеличение мощности антиоксидантной системы крови, выражающееся в достоверном повышении активности ее ферментативного звена – СОД на 7% и антиоксидантной активности (АОА) на 86% на фоне значимого снижения уровня GSSG на 18% (табл. 2).

Ранее нами было установлено положительное влияние курсового приема этилметилгидроксипиридина малата у мужчин с идиопатическим бесплодием на некоторые показатели сперматогенеза, в частности подвижность, жизнеспособность и количество морфологически нормальных форм сперматозоидов. Также нами выявлено сниже-

ние продуктов ПОЛ и повышение общей АОА и активности СОД в эякуляте мужчин с идиопатическим бесплодием [18]. Учитывая полученные ранее данные, мы провели корреляционный анализ и выявили у мужчин с идиопатическим бесплодием наличие двух отрицательных взаимосвязей: между концентрацией ретинола в крови и жизнеспособностью сперматозоидов ($r_s = -0,3$; $p \leq 0,05$) и между коэффициентом окислительного стресса в крови и объемом эякулята ($r_s = -0,4$; $p \leq 0,05$). После приема антиоксидантного препарата выявлено четыре взаимосвязи: положительные между концентрацией ретинола и объемом эякулята ($r_s = 0,4$; $p \leq 0,05$), между активностью СОД в крови и количеством морфологически нормальных сперматозоидов ($r_s = 0,4$; $p \leq 0,05$), между активностью СОД в крови и жизнеспособностью сперматозоидов ($r_s = 0,5$; $p \leq 0,05$) и между коэффициентом окислительного стресса в крови и концентрацией сперматозоидов ($r_s = 0,4$; $p \leq 0,05$).

У мужчин с идиопатическим бесплодием, не принимавших антиоксидантные препараты, также установлены четыре корреляционные взаимосвязи: отрицательные – между субстратами с двойными связями и объемом эякулята ($r_s = -0,3$; $p \leq 0,05$), между концентрацией GSSG и подвижностью сперматозоидов ($r_s = -0,3$; $p \leq 0,05$), концентрацией GSSG и количеством морфологически нормальных форм сперматозоидов ($r_s = -0,3$; $p \leq 0,05$). Положительная взаимосвязь установлена между концентрацией токоферола и жизнеспособностью сперматозоидов ($r_s = 0,4$; $p \leq 0,05$).

Корреляционный анализ показателей системы ПОЛ-АОЗ у мужчин с идиопатическим бесплодием в крови и эякуляте показал наличие одной взаимосвязи между общей АОА крови и активностью СОД в эякуляте ($r_s = 0,4$; $p \leq 0,05$). После приема этилметилгидроксипиридина малата выявлено пять положительных взаимосвязей: между ДС в крови и ДК в эякуляте ($r_s = 0,5$; $p \leq 0,05$), КД и СТ в крови и ДК в эякуляте ($r_s = 0,5$; $p \leq 0,05$), активностью СОД в крови и СОД в эякуляте ($r_s = 0,5$; $p \leq 0,05$), активностью СОД в крови и GSSG в эякуляте ($r_s = 0,4$; $p \leq 0,05$). У мужчин с идиопатическим бесплодием, не принимавших этилметилгидроксипиридина малат, выявлено три отрицательных взаимосвязи: между активностью СОД в крови и общей АОА в эякуляте ($r_s = -0,4$; $p \leq 0,05$), концентрацией ТБК-активных продуктов в крови и концентрацией GSSG в эякуляте ($r_s = -0,5$; $p \leq 0,05$), концентрацией GSSG в крови и α -токоферола в эякуляте ($r_s = -0,3$; $p \leq 0,05$).

Таким образом, динамика корреляционных взаимосвязей свидетельствует о положительном влиянии антиоксидантного препарата этилметилгидроксипиридина малата на параметры сперматогенеза и показатели си-

Таблица 1/Table 1

Показатели ПОЛ-АОЗ и деструкции ДНК в крови мужчин с идиопатическим бесплодием, не принимавших этилметилгидроксипиридина малат

Indicators POL-AOP and DNA destruction in the blood of men with idiopathic infertility who did not take ethylmethylhydroxypyridine malat

Показатели Indicators	Фертильные мужчины / fertile men n = 50	Мужчины с бесплодием / infertile men (n = 40)	Мужчины с бесплодием через 1 мес/ infertile men after 1 month (n = 40)	Уровень Значимости / level significance
	mediana [Q1; Q3]			
Дв. св., у.е. Dv.sv., units	3,04 [2,58; 3,88]	2,21 [1,63; 2,82]	2,05 [1,41; 2,44]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
ДК, мкмоль/л DK, mkmol/l	1,98 [1,38; 2,42]	1,86 [1,08; 2,68]	1,6 [1,12; 2,41]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
КД_СТ, у.е. KD_ST, units	0,34 [0,26; 0,4]	0,5 [0,37; 0,71]	0,48 [0,4; 0,65]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/л ТБК-АР, mkmol/l	0,77 [0,47; 1,48]	1,33 [1,0; 2,26]	1,52 [1,09; 1,98]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
АОА, у.е. AOA, units	17,69 [13,07; 21,44]	10,97 [8,07; 15,1]	9,91 [6,94; 15,37]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
α-токоферол, мкмоль/л α-tocopherol, mkmol/l	10,1 [7,77; 13,37]	6,06 [5,19; 6,99]	5,5 [4,29; 6,8]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
ретинол, мкмоль/л retinol, mkmol/l	0,58 [0,5; 1,05]	0,52 [0,45; 0,59]	0,54 [0,41; 0,63]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
СОД, у.е. SOD, units	1,75 [1,71; 1,84]	1,59 [1,56; 1,63]	1,57 [1,53; 1,61]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
GSH, ммоль/л GSH, μmol/l	2,13 [1,84; 2,27]	2,39 [2,08; 2,79]	2,5 [2,11; 2,66]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
GSSG, ммоль/л GSSG, μmol/l	1,79 [1,75; 1,97]	2,21 [1,98; 2,54]	2,18 [1,99; 2,67]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
8-OHdG, нг/мл 8-OHdG, ng/ml	3,1 [1,7; 4,4]	8,1 [6,71; 9,05]	7,91 [6,38; 8,92]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$

Примечание: P_U – уровень значимости U-критерия Манна–Уитни (непараметрический критерий для сравнения двух независимых переменных (группы 1 и 2)); P_W – уровень значимости критерия Уилкоксона (непараметрический критерий для сравнения двух зависимых переменных (группы 2 и 3)).

Note: P_U – the level of significance of the Mann–Whitney U-test (non-parametric criterion for comparing two independent variables (groups 1 and 2)); P_W is the level of significance of the Wilcoxon criterion (a non-parametric criterion for comparing two dependent variables (groups 2 and 3)).

стемы «перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита» на системном (кровь) и локальном (эякулят) уровнях.

Обсуждение

Полученные нами результаты согласуются с данными ведущих экспертов, установивших, что наиболее

распространенной причиной идиопатического бесплодия является окислительный стресс [17, 19]. Результаты исследований свидетельствуют, что признаки ОС выявляются у большинства мужчин, состоящих в бесплодном браке, причем у 80% пациентов с идиопатическим бесплодием и только у 20–30% мужчин с другими формами бесплодия [7–9]. Вследствие этого специали-

Таблица 2/ Table 2

Показатели ПОЛ-АОЗ и деструкции ДНК в крови мужчин с идиопатическим бесплодием до и после приема этилметилгидрокси-пиридина малата

Indicators POL-AOP and DNA destruction in the blood of men with idiopathic infertility before and after taking ethylmethylhydroxypyridine malat

Показатели/ Indicators	Фертильные мужчины/ fertile men n = 50	Мужчины с бесплодием до приема препарата/ Infertility men before taking the drug n = 30	Мужчины с бесплодием после приема препарата/ Infertility men after taking the drug n = 30	Уровень Значимости / level significance
	mediana [Q1; Q3]			
Дв. св., у.е. Dv.sv., units	3,04 [2,58; 3,88]	2,32 [1,88; 2,68]	1,98 [1,54; 2,36]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$
ДК, мкмоль/л DK, mkmol/l	1,98 [1,38; 2,42]	1,75 [1,12; 2,12]	1,6 [1,04; 2,06]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
КД_СТ, у.е. KD_ST, units	0,34 [0,26; 0,4]	0,56 [0,28; 0,56]	0,51 [0,36; 0,64]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/л TBK-AP, mkmol/l	0,77 [0,47; 1,48]	1,97 [1,74; 2,62]	1,13 [0,81; 1,51]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$
АОА, у.е. AOA, units	17,69 [13,07; 21,44]	8,22 [6,97; 9,4]	14,96 [11,52; 16,9]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$
α-токоферол, мкмоль/л α-tocopherol, mkmol/l	10,1 [7,77; 13,37]	6,9 [6,32; 7,46]	6,24 [5,51; 7,9]	$P_U < 0,05$ $P_W > 0,05$
ретинол, мкмоль/л retinol, mkmol/l	0,58 [0,5; 1,05]	0,48 [0,42; 0,54]	0,58 [0,51; 0,65]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
СОД, у.е. SOD, units	1,75 [1,71; 1,84]	1,62 [1,58; 1,66]	1,69 [1,65; 1,76]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$
GSH, ммоль/л GSH, μmol/l	2,13 [1,84; 2,27]	2,21 [1,98; 2,36]	2,19 [1,99; 2,5]	$P_U > 0,05$ $P_W > 0,05$
GSSG, ммоль/л GSSG, μmol/l	1,79 [1,75; 1,97]	2,46 [2,26; 2,8]	2 [1,87; 2,33]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$
8-OHdG, нг/мл 8-OHdG, ng/ml	3,1 [1,7; 4,4]	7,52 [6,15; 8,36]	5,26 [4,19; 6,39]	$P_U < 0,05$ $P_W < 0,05$

сты по репродуктивному здоровью мужчин предложили рассматривать мужское бесплодие, вызванное ОС (MOSI: male oxidative stress infertility), в качестве самостоятельной классификационной категории и активизировать работу по стандартизации способов его диагностики и коррекции [9].

Современные исследования демонстрируют значимую роль антиоксидантов в повышении качества спермы, в частности в увеличении количества, подвижности, жизнеспособности и улучшении морфологии. А. Nadjarzadeh и соавторы выявили положительную корреляцию между нормальной морфологией сперматозоидов и увеличением

активности СОД при приеме коэнзима Q10 [8]. Антиоксиданты играют решающую роль в защите ДНК сперматозоидов от окислительного повреждения, обеспечивая сохранение целостности генетического материала. С. Abad и соавт. сообщили о значительном улучшении целостности ДНК сперматозоидов у инфертильных мужчин при пероральном приеме антиоксидантов [20].

По данным метаанализа А. Agarwal и соавторов, прием антиоксидантов (как моно-, так и в сочетании) значительно улучшает концентрацию сперматозоидов, прогрессивную и общую подвижность, а также морфологию сперматозоидов. Использование антиоксидантных препаратов в целом оказывает положительное влияние на параметры анализа спермы, независимо от используемой добавки [21]. Имеются данные о благоприятном терапевтическом эффекте при пероральном употреблении витамина Е у инфертильных мужчин. Так, после приёма и повышения его уровня в крови функциональный тест прикрепления спермиев к zona pellucida неоплодотворённой яйцеклетки человека становился положительным. Также сообщалось о повышении частоты наступления беременности после введения витамина Е в рацион мужчин, состоящих в бесплодном браке [22]. Такие антиоксиданты, как витамин С, коэнзим Q10, мелатонин, L-карнитин и глутатион, продемонстрировали уменьшение ОС и улучшение качества спермы, однако научный консенсус относительно их окончательной эффективности в плане успешного зачатия и деторождения у бесплодных супружеских пар остается неубедительным из-за различных проблем в методологиях исследований [8].

Нами установлено, что после приема антиоксидантного препарата этилметилгидроксипиридина малата в крови мужчин с идиопатическим бесплодием отмечается значимое снижение показателей ПОЛ и деструкции ДНК на фоне повышения мощности антиоксидантной системы, выражающееся в достоверном повышении уровня СОД и АОА, что свидетельствует об эффективном снижении выраженности ОС у мужчин с идиопатическим бесплодием.

Ранее нами также было показано, что одним из механизмов патогенеза репродуктивных нарушений у мужчин является развитие ОС с накоплением ТБК-активных продуктов в крови и эякуляте на фоне снижения активности СОД [4, 19]. Основным ТБК-активным продуктом является МДА, который способен вступать в реакции с основаниями гуанозина и, тем самым, может быть причиной

повышенного уровня 8-OHdG у мужчин с бесплодием. При этом, после устранения стрессового фактора либо подбора адекватного лечения, приводящего к стойкой ремиссии, уровень 8-OHdG в ДНК быстро снижается до базовых значений. Это обусловлено наличием специфической гликозилазы OGG1, которая распознает и удаляет это соединение. Фермент последовательно катализирует гидролиз N-гликозидной связи (ДНК-гликозилазная активность) и разрыв цепи ДНК с 3'-стороны от повреждения по механизму β-элиминирования [1, 15].

К сожалению, факт существования оксидативно-го стресса (ОС) у инфертильных мужчин игнорируется большинством специалистов в области лечения мужского бесплодия. Вместо этого обычно предлагаются рутинные способы коррекции мужской инфертильности, а в случаях тяжёлой патоспермии стали широко применять вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ). Так как избыток АФК приводит к индуцированному апоптозу сперматозоидов и повреждению их ДНК, методы ВРТ, по мнению некоторых авторов, не могут считаться альтернативой патогенетической терапии в случаях развития ОС в репродуктивной системе мужчины, поскольку не устраняют повреждающий фактор и, таким образом, повышают риск выкидышей и нарушений развития плода. Кроме того, есть данные, что использование ВРТ само по себе способно повышать уровень ОС в сперматозоидах [23].

Заключение

Поиск и разработка способов коррекции окислительного стресса являются крайне актуальной проблемой современной медицины. Одним из способов, который может быть эффективен в клинических условиях, является применение антиоксидантов. Антиоксиданты, уменьшая окислительный стресс и улучшая качество спермы, могут повысить вероятность успешного зачатия у пар, столкнувшихся с бесплодием. Однако крайне важно подходить к антиоксидантной терапии разумно, учитывая вариабельность индивидуальных реакций и потенциальное взаимодействие с другими методами лечения. Разработка показаний к измерению показателей окислительного стресса необходима на уровне клинических рекомендаций.

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

Литература

(п.п. 1; 2; 4; 8-16; 19-23 см. References)

3. Семенова Н.В., Бричагина А.С., Никитина О.А. и др. Параметры карбонильного стресса и окислительная модификация ДНК при возрастной менопаузе у женщин русской и бурятской этнических групп. *Экология человека*. 2022; 6: 415–23. <https://doi.org/10.17816/humeco105578>
4. Лабыгина А.В., Колесникова Л.И., Гребенкина Л.А., Даренская М.А., Курашова Н.А., Долгих М.И. др. Содержание ретинола и репродуктивные нарушения у жителей Восточной Сибири (обзор литературы). *Экология человека*. 2018; 4: 51–8. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-4-51-58>
5. Корнеев И.А. Мужское бесплодие при оксидативном стрессе: пути решения проблемы. *Урология*. 2022; 1: 102–8. <https://doi.org/10.18565/urology.2022.1.102-8>
6. Виноградов И.В., Габля М.Ю., Рогозин Д.С. Лечение infertility у мужчин с патоспермией на фоне оксидативного стресса. *Урология*. 2023; 2: 73–9. <https://doi.org/10.18565/urology.2023.2.73-79>
17. Дадашева М.Н., Тараненко Н.Ю., Агафонов Б.В., Чудаков С.Ю. Патогенетическая терапия новым отечественным антиоксидантом Этоксидолом при цереброваскулярной болезни. *Вестник семейной медицины*. 2015; 1-2: 12–6.
18. Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Лабыгина А.В., Колесникова Л.И. Окислительный стресс и показатели сперматогенеза у мужчин с идиопатическим бесплодием до и после приема этилметилгидроксипиридин малата. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(3): 23–30. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2024.03.23-30>

References

1. Semenova N.V., Madaeva I.M., Brichagina A.S., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as an oxidative stress marker in insomnia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171(3): 384–7. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05233-0>
2. Darenskaya M.A., Belenkaya L.V., Atalyan A.V., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadelyaeva Ya.G., Kolesnikova L.I. Oxidative stress reactions in women of reproductive age with metabolic syndrome. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 174(5): 601–4. <https://doi.org/10.1007/s10517-023-05754-w>
3. Semenova N.V., Brichagina A.S., Nikitina O.A., Madaeva I.M., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. Carbonil stress parameters and DNA oxidative modification in russian and buryat women with age-related menopause. *Ekologiya cheloveka*. 2022; 6: 415–23. <https://doi.org/10.17816/humeco105578> (in Russian)
4. Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. Oxidative stress, telomere length and telomerase activity in spermatogenesis disorders (review of scientific activity). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 176(2): 115–22. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-05979-3>
5. Labygina A.V., Kolesnikova L.I., Grebenkina L.A., Darenskaya M.A., Kurashova N.A., Dolgikh M.I. et al. Retinol content and reproductive disorders in residents of Eastern Siberia (literature review). *Ekologiya cheloveka*. 2018; 4: 51–8. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-4-51-58> (in Russian)
6. Korneev I.A. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Urologiya*. 2022; 1: 102–8. <https://doi.org/10.18565/urology.2022.1.102-108> (in Russian)
7. Vinogradov I.V., Gabliya M.Ju., Rogozin D.S. Treatment of infertility in men with pathospermia associated with oxidative stress. *Urologiya*. 2023; 2: 73–9. <https://doi.org/10.18565/urology.2023.2.73-79> (in Russian)
8. Nadjarzadeh A., Shidfar F., Amirjannati N., Vafa M.R., Motevalian S.A., Gohari M.R. et al. Effect of Coenzyme Q10 Supplementation on Antioxidant Enzymes Activity and Oxidative Stress of Seminal Plasma: A Double-blind Randomised Clinical Trial. *Andrologia*. 2014; 46: 177–83.
9. Agarwal A., Parekh N., Panner Selvam M.K., Henkel R., Shah R., Homa S. et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World. J. Mens. Health*. 2019; 37(3): 296–312. <https://doi.org/10.5534/wjmh.190055>
10. Lord T., Aitken R. Fertilization stimulates 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine repair and antioxidant activity to prevent mutagenesis in the embryo. *Developmental Biology*. 2015; 406: 1–13.
11. De Ligny W., Smits R.M., Mackenzie-Proctor R., Jordan V., Fleischer K., de Bruin J.P. et al. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022; 5(5): CD007411. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007411.pub5>
12. Smits R.M., Mackenzie-Proctor R., Yazdani A., Stankiewicz M.T., Jordan V., Showell M.G. et al. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019; 3(3): CD007411. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007411.pub4>
13. Kaltsas A. Oxidative Stress and Male Infertility: The Protective Role of Antioxidants. *Medicina (Kaunas)*. 2023; 59(10): 1769. <https://doi.org/10.3390/medicina59101769>
14. Dutta S., Sengupta P., Roychoudhury S. et al. Antioxidant Paradox in Male Infertility: 'A Blind Eye' on Inflammation. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11(1): 167. <https://doi.org/10.3390/antiox11010167>
15. Agarwal A., Finelli R., Panner Selvam M.K., Leisegang K., Majzoub A., Tadros N. et al. A Global Survey of Reproductive Specialists to Determine the Clinical Utility of Oxidative Stress Testing and Antioxidant Use in Male Infertility. *World J. Mens. Health*. 2021; 39(3): 470–88. <https://doi.org/10.5534/wjmh.210025>
16. Beygi Z., Forouhari S., Mahmoudi E., Hayat S.M.G., Nourimand F. Role of Oxidative Stress and Antioxidant Supplementation in Male Fertility. *Curr Mol Med*. 2021; 21(4): 265–82. <https://doi.org/10.2174/1566524020999200831123553>
17. Dadasheva M.N., Taranenko N.Ju., Agafonov B.V., Chudakov S.Ju. Pathogenetic therapy with the new domestic antioxidant Ethoxidol for cerebrovascular disease. *Vestnik semeynoy meditsiny*. 2015; 1-2: 12–6. (in Russian)

18. Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Labigina A.V., Kolesnikova L.I. Oxidative stress and indicators of spermatogenesis in men with idiopathic infertility before and after taking ethylmethylhydroxypyridine malat. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2024; 68(3): 23–30. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2024.03.23-30> (in Russian)
19. Kurashova N.A., Dashiev B.G., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. Indicators of the lipid peroxidation-antioxidant protection system as important metabolic markers of reproductive potential in men. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171(6): 685–90. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05295-0>
20. Abad C., Amengual M.J., Gosálvez J., Coward K., Hannaoui N., Benet J. et al. Effects of Oral Antioxidant Treatment upon the Dynamics of Human Sperm DNA Fragmentation and Subpopulations of Sperm with Highly Degraded DNA. *Andrologia*. 2013; 45: 211–6.
21. Agarwal A., Cannarella R., Saleh R., Harraz A.M., Kandil H., Salvio G. et al. Impact of Antioxidant Therapy on Natural Pregnancy Outcomes and Semen Parameters in Infertile Men: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *World J Mens Health*. 2023; 41(1): 14–48. <https://doi.org/10.5534/wjmh.220067>
22. Gvozdjakova A., Kucharska J., Lipkova J., Bartolcicova B., Dubravicky J., Vorakova M. et al. Importance of the assessment of coenzyme Q10, alpha-tocopherol and oxidative stress for the diagnosis and therapy of infertility in men. *Bratislava Medical Journal*. 2013; 114(11): 607–9.
23. Borghet M., Wyna C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*. 2018; 62: 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>

Сведения об авторах:

Курашова Надежда Александровна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. патофизиологии репродукции ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: nakurashova@yandex.ru

Дашиев Баир Гомбоевич, канд. мед. наук, мл. науч. сотр., врач уролог-андролог, лаб. патофизиологии репродукции ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: bairdashiev@mail.ru

Колесников Сергей Иванович, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, гл. науч. сотр. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: sikolesnikov1@rambler.ru

Лабыгина Альбина Владимировна, доктор мед. наук, науч. сотр. лаб. гинекологической эндокринологии ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: albinalab2212@mail.ru

Гребенкина Людмила Анатольевна, доктор биол. наук, науч. сотр. лаб. патофизиологии ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Колесникова Любовь Ильинична, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, науч. руководитель ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

УДК 577.3:618.3-06:616.61-002-07

© Коллектив авторов, 2025

Холименко И.М.¹, Шатохин М.Н.², Конопля Н.А.³, Кравцов А.Ю.²

Состояние оксидантно-антиоксидантной системы при остром гестационном пиелонефрите на различные триместры беременности

¹Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Курская областная многопрофильная клиническая больница» Министерства здравоохранения Курской области, 305007, Курск, ул. Сумская, д. 45 А., Российская Федерация;

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, Российская Федерация;

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305004, Курск, ул. Карла Маркса, д. 3, Российская Федерация

Введение. Несоответствие внутри сбалансированной в норме оксидантно-антиоксидантной системы лежит в основе патогенеза многих болезней беременных женщин, при этом значимую роль отводят оксидативному стрессу и системному воспалительному ответу. В настоящее время острый пиелонефрит при беременности является одним из наиболее частых заболеваний органов мочевыводящей системы. В литературе практически отсутствуют данные по изучению состояния про- и антиоксидантной системы при остром пиелонефрите в динамике на различных триместрах гестации. Цель исследования: изучение состояния про- и антиоксидантной системы на системном и локальном уровне при остром серозном пиелонефрите на различных триместрах гестации.

Методика. В исследование были включены 130 женщин (средний возраст $25,1 \pm 4,3$ года), разделенных на группы: сравнения (20 здоровых женщин), (20 пациенток с верифицированным диагнозом острый серозный пиелонефрит), (по 15 женщин на 1, 2 и 3 триместрах гестации); основные группы (по 15 женщин в каждой) с острым пиелонефритом на 1, 2 и 3 триместре беременности. Изучены показатели оксидантно-антиоксидантной системы в плазме и эритроцитах периферической крови и моче.

Результаты. При остром пиелонефрите на всех триместрах гестации, в большей степени на втором и третьем, установлено развитие системного воспаления, оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции, так как на системном (плазма периферической крови) и локальном (эритроциты и моча) уровне увеличено содержание малонового диальдегида, ацилгидроперекисей, неоптерина, С-реактивного белка, стабильных метаболитов оксида азота, снижение факторов антиоксидантной защиты и уровня эндотелина-1.

Ключевые слова: гестационный пиелонефрит; нарушение параметров оксидантно-антиоксидантной системы

Для цитирования: Холименко И.М., Шатохин М.Н., Конопля Н.А., Кравцов А.Ю., Состояние оксидантно-антиоксидантной системы при остром гестационном пиелонефрите на различные триместры беременности. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 111–122.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.111-122

Для корреспонденции: Холименко Иван Михайлович, канд. мед. наук, врач-уролог. ОБУЗ «КОМКБ» Минздрава Курской области, Курск, Российская федерация e-mail: kholimenko@yandex.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Холименко И.М., Шатохин М.Н.; сбор и обработка материала – Холименко И.М., Конопля Н.А.; подготовка иллюстративного материала – Кравцов А.Ю.; статистическая обработка материала – Холименко И.М.; написание текста – Холименко И.М.; редактирование – Шатохин М.Н. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Kholimenko I.M.¹, Shatokhin M.N.², Konoplya N.A.³, Kravcov A.Ju.²

The state of the oxidant-antioxidant system in acute gestational pyelonephritis at different trimesters of pregnancy

¹Regional budgetary healthcare institution "Kursk regional multidisciplinary clinical hospital" of the Ministry of Health of the Kursk region. st. Sumskaya, 45 A., 305007, Kursk, Russian Federation;

²Federal State Budgetary Educational Institution of Continuing Professional Education "Russian Medical Academy of Continuous Professional Education" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 125993, Moscow, Barrikadnaya St., 2/1, building 1, Russian Federation;

³Kursk State Medical University, 305004, Kursk, Karl Marx Street, Building 3, Russian Federation

Introduction. In the pathogenesis of many diseases of pregnant women, a significant role is given to the systemic inflammatory response and oxidative stress, due to the imbalance between prooxidants and the antioxidant defense system. Currently, acute pyelonephritis during pregnancy is one of the most common diseases of the urinary system. In the literature, there are practically no data on the study of the state of the pro- and antioxidant system in acute pyelonephritis in dynamics in each trimester of pregnancy.

Objective of the study: study of the state of the pro- and antioxidant system at the systemic and local level in acute serous pyelonephritis in different trimesters of gestation.

Material and methods. The study included 130 women (mean age 25.1±4.3 years), divided into groups: comparison (20 healthy women), (20 patients with a verified diagnosis of acute serous pyelonephritis), (15 women in the 1st, 2nd and 3rd trimesters of gestation); main groups (15 women in each) with acute pyelonephritis in the 1st, 2nd and 3rd trimesters of pregnancy. The oxidant-antioxidant system parameters in plasma and erythrocytes of peripheral blood and urine were studied.

Results. In acute pyelonephritis in all trimesters of gestation, to a greater extent in the second and third, the development of systemic inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction has been established, since at the systemic (peripheral blood plasma) and local (erythrocytes and urine) level, the content of malondialdehyde, acyl hydroperoxides, neopterin, C-reactive protein, stable metabolites of nitric oxide is increased, antioxidant defense factors and endothelin-1 levels are reduced.

Keywords: gestational pyelonephritis; disturbance of the parameters of the oxidant-antioxidant system

For citation: Kholimenko I.M., Shatokhin M.N., Konoplya N.A., Kravcov A.Ju. The state of the oxidant-antioxidant system in acute gestational pyelonephritis at different trimesters of pregnancy. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 111–122.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.111-122

For correspondence: Ivan M. Kholimenko – Ph.D. urologist, RBHI "KRMCH" MOH of Kursk region, Kursk, Russian Federation, e-mail: kholimenko@yandex.ru

Author's contribution: concept and design of the study – Kholimenko I.M., Shatokhin M.N.; collection and processing of material – Kholimenko I.M., Konoplya N.A.; preparation of illustrative material – Kravtsov A.Yu.; statistical processing of material – Kholimenko I.M.; writing of the text – Kholimenko I.M.; editing – Shatokhin M.N. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Information about the authors:

Ivan M. Kholimenko, <https://orcid.org/0000-0003-2945-6821>

Shatokhin M. Nikolaevich, <https://orcid.org/0000-0002-1285-7357>

Konoplya N. Alexandrovich, <https://orcid.org/0000-0003-4512-5002>

Kravtsov A. Yurievich, <https://orcid.org/0009-0005-3503-8150>

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interests.

Received 27.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Острый гестационный пиелонефрит занимает центральное место среди заболеваний беременных женщин и является серьезной опасностью для физиологического течения беременности и нормального течения родов, так как данная нозология ведет к патологическому функционированию ряда витальных функций организма, а сама беременность значительно усиливает нагрузку на почки. В последнее десятилетие в мире выявлена стойкая тенденция к увеличению частоты гестационного пиелонефрита. Возникающие при данной патологии у беременных женщин осложнения резко повышают заболеваемость матери и плода, увеличивают их смертность, что безусловно требует решения в изменениях профилактики, ранней диагностики, акушерской тактики и выборе рационального лечения [1, 2].

Несоответствие внутри сбалансированной в норме оксидантно-антиоксидантной системы лежит в основе патогенеза многих болезней беременных женщин, при этом существенную роль отводят возникающему при этом оксидативному стрессу (ОС) и системному воспалительному ответу. На этом основании всегда был, а сейчас значительно возрос интерес к их роли в развитии гестационного пиелонефрита. Также не подлежит сомнению значительная роль нарушения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в возникновении акушерской патологии. Активация реакций свободно-радикального окисления с одновременным снижением факторов антиоксидантной защиты (АОЗ), как считают многие исследователи, является пусковым моментом возникновения острого и хронического пиелонефрита беременных. При воспалении в условиях гестационного пиелонефрита АОЗ организма рассматривается в качестве многокомпонентной системы, проявляющей как специфическую, так и неспецифическую активность. Исходя из этого, дальнейшее исследование особенностей оксидантно-антиоксидантной системы при остром пиелонефрите беременных женщин является явно практически значимым [3, 4, 5].

Важной точкой зрения является значимость изучения связи между содержанием пероксидов и свободными радикалами, позволяющей оценить характер поврежденных клеток и тканей при остром гестационном пиелонефрите, включая, помимо липидов, нуклеиновые кислоты, белки и другие высокомолекулярные соединения. Так как увеличение образования пероксидов, является реакцией организма на возникновение острого пиелонефрита, то данные соединения участвуют в патогенезе возникновения акушерских осложнений при гестации [6, 7, 8].

Таким образом, дальнейшие углубленные исследования в данном аспекте могут определить ключевые функциональные изменения, возникающие при остром гестационном пиелонефрите, и дать научно обоснованные возможности для изменения профилактики и лечения данной патологии. Работ по данному направлению практически нет. Разнонаправленные и порой противоречивые исследования в таком аспекте не позволяют раскрыть изменения про- и антиоксидантного статуса по каждому триместру беременности по отдельности.

Учитывая вышесказанное, целью исследования стало изучение состояния про- и антиоксидантной системы на системном и локальном уровне при остром серозном пиелонефрите на различных триместрах гестации.

Методика

Исследование проведено в соответствии с действующими в Российской Федерации нормативными документами, регламентирующими порядок проведения исследований с привлечением добровольцев. От всех участников исследования было получено добровольное информированное согласие. Выписка из протокола заседания независимого этического комитета № 2 от 17 февраля 2025 года.

В исследование были включены 130 женщин (средний возраст $25,1 \pm 4,3$), давших письменное согласие на участие. Первая группа сравнения состояла из 20 здоровых женщин. Критериями включения в нее были: отсутствие гинекологической и урологической патологии в анамнезе.

Вторая группа сравнения состояла из 20 пациенток с верифицированным диагнозом «острый серозный пиелонефрит». Критерии включения в эту группу: отсутствие акушерско-гинекологической патологии в анамнезе, подтвержденный диагноз «острый серозный пиелонефрит», вовлечение в процесс одной почки.

В третью группу сравнения вошло 45 женщин в равных количествах на 1-м, 2-м и 3-м триместрах физиологической беременности без патологии почек. Критериями включения в данную группу: первая одноплодная беременность, отсутствие акушерско-гинекологической и урологической патологии в анамнезе, физиологическое течение беременности.

В основные группы исследования включили 45 беременных пациенток (по 15 женщин в каждой) с верифицированным диагнозом «острый гестационный серозный пиелонефрит», подтвержденный клиническими и лабораторно-инструментальными методами обследования, рандомизированных по возрасту и минимальному количеству сопутствующей патологии в стадии ремиссии, находившихся на лечении в урологическом отделении ОБ-

УЗ «Курская областная многопрофильная клиническая больница» в период 2018 – 2022 гг.

Критериями включения беременных женщин с патологией почек в исследование являлись: первая одноплодная беременность, отсутствие акушерско-гинекологической патологии в анамнезе, вовлечение в процесс одной почки.

Критериями диагностики пиелонефрита у исследуемых больных стали: наличие синдрома системной воспалительной реакции (температура тела, озноб, частота дыхательных движений, пульс); местная реакция организма (боли в поясничной области); повышение уровня лейкоцитов со сдвигом лейкоцитарной формулы влево в общем анализе крови; лейкоцитурия в общем анализе мочи; бактериологическое исследование мочи с результатом более 104 КОЕ/мл.

Получение биологического материала (периферическая кровь и моча), необходимого для определения биохимических лабораторных показателей, выполнялось до начала медикаментозной терапии при поступлении в стационар.

Эритроциты и плазму получали из 10 мл гепаринизированной крови, для чего после центрифугирования и отделения плазмы эритроцитарную массу отстаивали дважды в 20 мл 10 мМ Na-фосфатного буфера (рН = 7,4), содержащего 0,9% хлорида натрия и 3% декстрана Т-500, в течение 30 минут при температуре 37° С. После центрифугирования удаляли надосадочную жидкость аспирацией, а эритроцитарную массу подвергали дополнительной очистке на хроматографической колонке через HBS-целлюлозу.

Интенсивность процессов ПОЛ оценивали по содержанию в утренней порции мочи, плазме крови и эритроцитах продуктов деградации полиненасыщенных жирных кислот – производных тиобарбитуровой кислоты (ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА) с помощью набора «ТБК-Агат» («Агат-Мед», Россия) на спектрофотометре «Апель-330» (Япония) при диапазоне волн 535 нм и 570 нм.

Состояние антиоксидантной системы определяли методом прямого/конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа с детекцией продуктов реакции в диапазоне длин волн 405–630 нм с применением готовых коммерческих наборов: активность супероксиддисмутазы (СОД) «Bender Medsystems» (Австрия) и каталазы «Cayman Chemical» (США). Общую антиокислительную активность (ОАА) выявляли методом, основанным на степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА. Уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМ_{NO}) определяли спектрофотометрическим методом при помощи реактива Грисса и детекцией образовавшихся продуктов при спектре длине

волны 540 нм после 5 минутной инкубации при комнатной температуре.

Кроме этого, в плазме крови определяли иммуноферментным анализом уровень неоптерина «IBL» (Германия), эндотелина-1 «Biomedica» (Словакия). Концентрацию церулоплазмина (ЦП) выявляли методом иммунотурбидиметрии с помощью набора «Сентинель» (Испания), а С-реактивный белок (СРБ) тем же методом, используя набор «Вектор-Бест» (Россия) на полуавтоматическом анализаторе «BTS-350» (BioSystems, Испания).

Регистрация всех результатов иммуноферментного анализа осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise» (Tecan, Австрия).

Статистическая обработка данных. При работе с данными применяли методы описательной статистики. Определяли точечные оценки среднего (М) и стандартного отклонения (m). Анализ принадлежности зарегистрированных значений рассматриваемых показателей к нормальному закону распределения осуществляли согласно рекомендациям графически (визуально) и с помощью критерия Шапиро-Уилка. Оценку статистической значимости различий значений показателей в рассматриваемых группах, представленных количественными метриками, осуществляли с помощью U-критерия Манна-Уитни и критерия Вилкоксона. За пороговый уровень достоверности принимали уровень $p \leq 0,05$. В качестве инструментария применяли надстройку в Excel Atte Stat, версия 12.0.5 (Excel 2010).

Результаты

На системном уровне в плазме крови женщин с острым серозным пиелонефритом выявлена активация ПОЛ (повышена концентрация АГП и МДА), разнонаправленно изменены значения АОЗ (снижена ОАА, уровень ЦП, увеличена активность каталазы, но не изменена СОД), повышены маркеры воспаления (неоптерин и СРБ), изменены показатели эндотелиальной дисфункции (снижено содержание эндотелина-1 и повышено СМ_{NO}) (табл. 1).

В плазме периферической крови женщин без патологии почек на 1-м триместре беременности установлена активация ПОЛ и АОЗ (повышена активность антиоксидантных ферментов – СОД и каталазы) с повышением уровня СМ_{NO}. Все остальные исследованные лабораторные показатели остались на уровне здоровых женщин. При остром гестационном пиелонефрите на 2-м триместре, по сравнению с группой пациенток с острым пиелонефритом на 1-м триместре беременности, более высокими оказалось содержание продуктов ПОЛ и активность каталазы. На 3-м триместре беременности, по сравне-

Таблица 1 / Table 1

Состояние оксидантно-антиоксидантной системы у пациенток с острым пиелонефритом на разных триместрах беременности на системном уровне (M±m)

The state of the oxidant-antioxidant system in patients with acute pyelonephritis in different trimesters of pregnancy at the systemic level (M±m)

Показатели. Единицы Измерения Indicators. Units Measurements	1	2	3	4	5	6	7	8
	Здоровые Небеременные Healthy non-pregnant women n=20	Небеременные с острым пиелонефритом Non-pregnant women with acute pyelonephritis n=20	1 триместр 1st trimester		2 триместр 2nd trimester		3 триместр 3rd trimester	
			без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15	без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15	без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15
МДА , мкмоль/л MDA , μmol/L	0,26±0,01	1,5±0,1 ^{*1}	0,7±0,06 ^{*1}	2,0±0,2 ^{*1-3}	0,93±0,05 ^{*1,3}	2,9±0,3 ^{*1,2,4,5}	1,1±0,04 ^{*1,3,5}	2,8±0,2 ^{*1,2,4,7}
АГП , усл.ед Асул-ООН , conventional units	0,12±0,01	0,27±0,02 ^{*1}	0,16±0,02 ^{*1}	0,36±0,03 ^{*1-3}	0,22±0,02 ^{*1,3}	0,47±0,02 ^{*1,2,4,5}	0,23±0,02 ^{*1,3}	0,51±0,02 ^{*1,2,4,7}
СОД , усл.ед. SOD , conventional units	16,1±1,1	15,8±1,2	19,1±1,2 ^{*1}	21,2±1,1 ^{*1,2}	20,1±1,1 ^{*1}	23,8±1,2 ^{*1,2,4,5}	22,5±0,9 ^{*1,3,5}	24,7±1,3 ^{*1,2,4,7}
Каталаза , мкат/л Catalase , mkat/l	11,5±0,2	15,3±0,3 ^{*1}	14,1±0,8 ^{*1}	15,9±0,4 ^{*1}	15,8±0,4 ^{*1,3}	18,9±0,3 ^{*1,2,5}	16,1±0,3 ^{*1,3}	18,3±0,5 ^{*1,2,4,7}
ОАА , % Antioxidant Activity , %	40,2±2,4	35,1±2,1 ^{*1}	39,6±2,0	34,4±1,3 ^{*1,3}	41,1±2,3	30,7±3,7 ^{*1,2,4,5}	42,1±2,1	28,4±2,5 ^{*1,2,4,7}
Неоптерин , нмоль/л Neopterin nmol/L	4,5±0,4	5,3±0,2 ^{*1}	4,7±0,3	7,1 ±0,3 ^{*1-3}	4,8±0,2	7,8±1,1 ^{*1,2,5}	4,6±0,3	6,7±0,9 ^{*1,2,7}
ЦП , мг/дл Ceruplasmin , mg/dL	0,7±0,02	0,55±0,03 ^{*1}	0,66±0,03	0,51±0,04 ^{*1,3}	0,72±0,03	0,41±0,04 ^{*1,2,4,5}	0,71±0,04	0,4±0,07 ^{*1,2,4,7}
Эндотелин-1 , fmol/ml Endothelin 1 , fmol/ml	2,4±0,07	2,2±0,1 ^{*1}	2,5±0,08	2,0±0,1 ^{*1,3}	2,51±0,08	1,34±0,05 ^{*1,2,4,5}	2,47±0,08	1,26±0,04 ^{*1,2,4,7}
СМ_{NO} , мкмоль/л СМ_{NO} , μmol/L	0,76±0,05	1,4±0,2 ^{*1}	0,91±0,03 ^{*1}	1,8±0,1 ^{*1-3}	0,94±0,04 ^{*1}	2,9±0,2 ^{*1,2,4,5}	0,95±0,03 ^{*1}	3,1±0,4 ^{*1,2,4,7}
СРБ , мг/мл CRP , mg/ml	3,1±0,2	19,5±2,4 ^{*1}	3,2 ±0,3	23,1±1,7 ^{*1-3}	3,5 ±0,3	32,1±2,4 ^{*1,2,4,5}	3,6 ±0,4	35,7±4,5 ^{*1,2,4,7}

Примечание. 1. На этой и в таблице 2 звездочкой отмечены достоверные различия M (p < 0,05); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

Note. 1. In this table and in Table 2, reliable differences M (p < 0.05) are marked with an asterisk; the numbers next to the asterisk indicate in relation to the indicators of which group these differences are given.

нию со 2-м, повышен уровень МДА и активность СОД (табл. 1).

При остром пиелонефрите на 1-м триместре гестации, по сравнению с беременными женщинами без патологии почек, выявлен более значительный рост концентрации МДА, АГП, неоптерина, SM_{NO} и СРБ, снижение ОАА, содержания ЦП и эндотелина-1, при этом активность антиоксидантных ферментов СОД и каталазы остались на том же уровне. У пациенток с острым гестационным пиелонефритом на 2-м и 3-м триместре, по сравнению с женщинами на том же периоде беременности, на системном уровне установлены более значительные изменения всех исследованных параметров. Следует отметить более выраженные изменения лабораторных показателей при остром гестационном пиелонефрите на 2-м и 3-м триместре по сравнению с 1-м триместром беременности (табл. 1).

На местном уровне (в моче) пациенток с острым серозным пиелонефритом все исследованные лабораторные параметры оказались повышенными (МДА, АГП, СОД, каталаза, неоптерин и SM_{NO}) при сравнении с соответствующими параметрами здоровых женщин. У женщин без патологии почек на 1-м триместре гестации не выявлено изменений в исследованных показателях по сравнению со здоровыми женщинами, на 2-м и 3-м триместре беременности установлено повышение активности антиоксидантных ферментов – СОД и каталазы (табл. 2).

При наличии острого пиелонефрита на всех триместрах гестации, по сравнению с беременными женщинами без патологии почек, в моче установлено увеличение концентрации продуктов ПОЛ (МДА, АГП), ферментов АОЗ (СОД, каталаза), неоптерина и SM_{NO} (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Состояние оксидантно-антиоксидантной системы у пациенток с острым пиелонефритом на разных триместрах беременности местном уровне (M±m)

The state of the oxidant-antioxidant system in patients with acute pyelonephritis in different trimesters of pregnancy at the local level (M±m)

Показатели. Единицы Измерения Indicators. Units Measurements	1	2	3	4	5	6	7	8
	Здоровые Небеременные Healthy non-pregnant women n=20	Небеременные с острым пиелонефритом Non-pregnant women with acute pyelonephritis n=20	1 триместр 1st trimester		2 триместр 2nd trimester		3 триместр 3rd trimester	
			без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15	без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15	без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15
моча / urine								
МДА, мкмоль/л MDA, μmol/L	0,3±0,02	0,5±0,03 ^{*1}	0,28±0,02	0,67±0,04 ^{*1,3}	0,31±0,02	1,9±0,1 ^{*1,2,4,5}	0,27±0,02	2,1±0,2 ^{*1,2,4,7}
АГП, усл.ед Acyl-ООН, conventional units	0,12±0,01	0,22±0,02 ^{*1}	0,13±0,02	0,29±0,02 ^{*1,3}	0,14±0,02	1,1±0,04 ^{*1,2,4,5}	0,13±0,02	0,97±0,06 ^{*1,2,4,7}
СОД, усл.ед. SOD, conventional units	3,4±0,3	7,4±0,2 ^{*1}	3,8±0,2	7,9±0,3 ^{*1,3}	5,3±0,2 ^{*1,3}	9,0±0,8 ^{*1,2,4,5}	4,9±0,2 ^{*1,3}	9,9±1,2 ^{*1,2,4,7}
Каталаза, мкат/л Catalase, mkat/l	8,1±0,8	12,4±1,4 ^{*1}	9,2±0,7	14,1±1,2 ^{*1,3}	10,9±0,9 ^{*1,3}	10,4±1,1 ^{*1,2,4,5}	11,2±0,8 ^{*1,3}	9,2±0,4 ^{*1,2,4,7}

	1	2	3	4	5	6	7	8
Показатели. Единицы Измерения. Indicators. Units Measurements	Здоровые Небеременные Healthy non-pregnant women n=20	Небеременные с острым пиелонефритом Non-pregnant women with acute pyelonephritis n=20	1 триместр 1st trimester		2 триместр 2nd trimester		3 триместр 3rd trimester	
			без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15	без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15	без острого пиелонефрита without acute pyelonephritis n=15	с острым пиелонефритом with acute pyelonephritis n=15
Неоптерин, нмоль/л Neopterin nmol/L	2,1±0,2	3,2±0,2 ^{*1}	2,4±0,2	3,9±0,2 ^{*1-3}	2,4±0,2	4,3±0,1 ^{*1,2,4,5}	2,5±0,22	4,6±0,2 ^{*1,2,4,7}
СМ_{NO}, ммоль/л СМ_{NO}, mmol/L	0,28±0,02	1,2±0,1 ^{*1}	0,25±0,03	1,5±0,07 ^{*1-3}	0,29±0,03	2,4±0,2 ^{*1,2,4,5}	0,28±0,03	2,1±0,1 ^{*1,2,4,7}
эритроциты / red blood cells								
МДА, мкмоль/л MDA, μmol/L	0,34±0,02	0,63±0,03 ^{*1}	0,4±0,01 ^{*1}	0,76±0,03 ^{*1-3}	0,45±0,02 ^{*1,3}	0,86±0,03 ^{*1,2,4,5}	0,48±0,02 ^{*1,3}	0,88±0,03 ^{*1,2,4,7}
АГП, усл.ед Асуl-ООН, conventional units	0,17±0,01	0,31±0,02 ^{*1}	0,21±0,01 ^{*1}	0,46±0,02 ^{*1-3}	0,25±0,02 ^{*1,3}	0,59±0,02 ^{*1,2,4,5}	0,27±0,01 ^{*1,3}	0,57±0,02 ^{*1,2,4,7}
ОАА, % Antioxidant Activity, %	31,4±2,1	27,2±1,1 ^{*1}	30,4±0,9	26,4±1,1 ^{*1,3}	41,4±2,1 ^{*1,3}	27,3±1,2 ^{*1,5}	42,3±1,9 ^{*1,3}	26,4±1,1 ^{*1,7}
СОД, усл.ед. SOD, conventional units	12,4±0,5	15,6±0,6 ^{*1}	14,4±0,5 ^{*1}	15,8±0,6 ^{*1,3}	18,4±0,7 ^{*1,3}	16,9±0,8 ^{*1,5}	19,4±0,5 ^{*1,3}	15,8±0,7 ^{*1,7}
Каталаза, мкат/л Catalase, mkat/l	8,9±0,4	11,4±0,5 ^{*1}	10,9±0,4 ^{*1}	12,9±0,3 ^{*1,3}	11,0±0,4 ^{*1}	12,4±0,7 ^{*1,5}	12,1±0,9 ^{*1}	12,8±0,5 ^{*1}

При изучении оксидантно-антиоксидантной системы на локальном уровне (эритроциты) у пациенток с острым серозным пиелонефритом определена активация ПОЛ (повышенный уровень МДА и АГП) и неоднозначное изменение показателей АОЗ (повышение активности СОД, каталазы и снижение ОАА). У женщин при отсутствии острого пиелонефрита на 1-м триместре беременности выявлено повышение концентрации продуктов ПОЛ и активности ферментов АОЗ, без изменения ОАА. По срав-

нению с женщинами на 1-м триместре гестации, на 2-м и 3-м триместрах установлено повышение ОАА, активности СОД и содержания продуктов ПОЛ, активность каталазы не изменялась. У пациенток с острым гестационным пиелонефритом на 1-м, 2-м и 3-м триместрах, по сравнению с беременными на те же периоды гестации без патологии почек, выявлено повышение содержания МДА, АГП, активности СОД и снижение ОАА, при этом активность каталазы не изменена (табл. 2).

Таким образом, при физиологической беременности на системном уровне (плазма крови) установлена активация ПОЛ и АОЗ, более выраженная на поздних этапах гестации. На локальном уровне в моче на 2-м и 3-м триместрах беременности выявлено повышение активности антиоксидантных ферментов, а в эритроцитах – увеличение продуктов ПОЛ и факторов ОАЗ.

Анализируя изменения лабораторных показателей плазмы и эритроцитов периферической крови, мочи при остром гестационном пиелонефрите, можно сделать вывод о наличии значительных нарушений биохимических параметров до начала лечения как на системном, так и на местном уровне, которые можно рассматривать как ОС, системное воспаление и эндотелиальную дисфункцию, более выраженные на 2-м и 3-м триместрах беременности.

Следует особенно отметить важный факт более измененных изученных лабораторных параметров как на системном (плазма периферической крови), так и на местном (моча, эритроциты) уровне, у пациенток с острым пиелонефритом на 1-м, 2-м и 3-м триместрах беременности по сравнению с показателями женщин только с острым пиелонефритом. Исключениями стали идентичные показатели в плазме крови: активность каталазы, концентрация ЦП и эндотелина-1, в моче – активность СОД и каталазы на 1-м триместре и в эритроцитах на всех триместрах беременности – показателей АОЗ (ОАА, СОД, каталаза) (табл. 1).

Заключение

ОС возникает, когда в клетке нарушается равновесие между прооксидантами и антиоксидантами в пользу первых, что приводит к избыточному окислению и повреждению клеточных структур. В ходе жизнедеятельности организм в клетках и межклеточной среде постоянно протекает один из наиболее распространенных процессов – формирование свободных радикалов и окислителей. Эти вещества представляют собой особую категорию химических соединений, которые могут отличаться по составу, но их объединяет общая особенность – наличие в молекуле неспаренного электрона. Наибольшее значение имеют свободные радикалы (активные формы) кислорода (АФК) и азота (АФА): супероксидный анион – радикал (O_2^-), пероксидный анион (O_2^{2-}), гидроксильный радикал (ОН), оксид азота (NO), пероксинитрит (ONOO⁻), ди- и триоксид азота (NO_2 , N_2O_3). Перекись водорода (H_2O_2), гипохлорная кислота (HOCl), липидные радикалы – не являются радикалами, но обладают сильными окислительными свойствами. АФК и АФА могут вызывать цитотоксическое повреждение протеинов, липидов и ДНК, а для баланса этих побочных эффектов в организме имеются необходимые

ферментативные (каталаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза (Se), трансферрин (Fe), Коэнзим Q_{10}) и неферментативные антиоксиданты (витамины С, Е, β-Каротин, ликопен, цинк, кальций, жирные кислоты) [9, 10, 11].

При физиологическом течении беременности закономерно возрастает потребление кислорода, увеличивает основную обмен, в крови повышается содержание липидов, активируется ПОЛ, компенсаторно увеличивается активность АОЗ и, в первую очередь, синтез ферментов, в том числе и энзима первой линии защиты – СОД, защищающего организм матери и плода от токсического действия одного из агрессивных представителей АФК – супероксидного радикала. На этом фоне также возрастает активность каталазы, необходимой для обезвреживания перекиси водорода, которая в значительных количествах образуется под воздействием СОД. Поддержание равновесия в активности этих компонентов лежит в основе предотвращения многих патологических состояний при физиологической беременности [12, 13, 14].

Таким образом, течение физиологической гестации сопровождается перестройкой защитных и регуляторных систем женщины, поэтому показатели их оксидантно-антиоксидантного статуса превалируют над аналогичными значениями здоровых небеременных женщин во все периоды наблюдения, что также установлено в нашем исследовании.

Иначе обстоит дело, как мы показали, при остром гестационном пиелонефрите на все периоды беременности, особенно на 2-м и 3-м триместрах, где обнаружены нарушения равновесия между про- и антиоксидантами, при котором существенно, даже по сравнению с группой пациенток только с острым пиелонефритом, преобладают прооксиданты, т.е. наличие ОС, а также системной воспалительной реакции, о чем говорят следующие изменения на системном и местном уровне: возрастание в плазме крови, эритроцитах и моче концентрации продуктов ПОЛ (МДА, АГП), SM_{NO} , снижение активности ключевых ферментов АОЗ (каталазы, СОД).

Отдельно следует выделить снижение на поздних триместрах гестации в плазме крови и моче ОАА, так как этот показатель характеризует суммарную антиоксидантную способность компонентов плазмы крови как ферментативного действия (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и др.), так и неферментативного (альбумин, трансферрин, липоевая кислота, глутатион, убихинон, витамины С и Е, каратиноиды и др.). Также следует отметить, что при остром пиелонефрите беременных нами выявлено снижение в плазме крови антиоксиданта ЦП, являющегося медной оксидазой, од-

ним из гликопротеинов «острой фазы», эндогенным модулятором воспалительного ответа. Данное соединение является активным ингибитором при образовании АФК через удаление супероксиданиона, ингибирование синтеза стабильной H_2O_2 и окисления липидов клеточных мембран [15, 16].

При ОС преодолевается защитная функция АОЗ клеток, что является токсичным фактором, способным повреждать мембраны митохондрий, высокомолекулярные соединения, аэробное окисление, окислительное фосфорилирование и, что в конечном итоге, приводит к неконтролируемому продолжению образования АФК и АФА [17, 18].

Кроме этого, в плазме и моче пациенток с острым пиелонефритом на всех триместрах беременности обнаружено повышение маркеров системной воспалительной реакции: СРБ и неоптерина. В настоящее время не вызывает сомнений факт о том, что СРБ является не только «острофазным» белком. Увеличение его концентрации является маркером развития воспаления, наличия инфекции, повреждения тканей, при этом доказано, что его уровень коррелирует с тяжестью процесса. Повышение базового содержания СРБ в сыворотке крови наблюдается уже при слабом воспалительном ответе и среди других показателей внутрисосудистого воспаления (эндотелин-1, CM_{NO} , цитокины IL-6, IL-10) наиболее рано и в большей степени реагирует СРБ. [19, 20]. Кроме этого, СРБ связывает фактор повреждения с защитными механизмами, участвуя в иммунорегуляции за счет воздействия на систему врожденного иммунитета. [21, 22].

Неоптерин, в основном, синтезируется моноцитами, макрофагами, дендритными и эндотелиальными клетками, активированными IFN γ , также является маркером воспаления, и повышение его содержания связано с системным воспалительным ответом. Он участвует в патогенезе многих заболеваний, связанных с активацией клеточного звена иммунитета, в частности известно, что его избыточная концентрация напрямую сопряжена с активаторным влиянием уровня IFN γ и TNF α на метаболизм иммунцитов. Повышение содержания неоптерина в сыворотке крови отражает взаимосвязь различных цитокинов на по-

пуляцию моноцитов/макрофагов, стимулированных IFN γ . Данное соединение таким образом представляется и служит маркером активации клеточного иммунного ответа при различных патологических состояниях. [23, 24, 25].

Кроме этого, о наличии у пациенток с острым пиелонефритом на 2-м и 3-м триместрах беременности, эндотелиальной дисфункции свидетельствуют дисбаланс между продукцией вазодилатирующего (ON) и вазоконстрикторного (эндотелин-1) факторов, а также повышенный уровень маркеров системной воспалительной реакции (неоптерина и СРБ) [26, 27, 28].

Изложенные факты показывают высокую важность анализа значений метаболических лабораторных параметров у женщин с гестационным пиелонефритом, что будет способствовать созданию других подходов к предсказанию течения данной нозологии, характеристике степени тяжести воспалительных поражений паренхимы почки, а также мониторингу эффективности терапии, поиску новых средств и методов медикаментозной коррекции системного воспаления, оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции [29, 30].

Выводы

При остром серозном пиелонефрите на всех триместрах гестации, в большей степени на втором и третьем триместре беременности, установлено развитие системного воспаления, оксидативного стресса, эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствует повышение на системном и локальном уровне продуктов ПОЛ, содержания $CMNO$, снижение АОЗ, дисбаланс между продукцией вазодилатирующего (ON) и вазоконстрикторного (эндотелин-1) факторов, повышенный уровень маркеров системной воспалительной реакции (неоптерин и СРБ). Изучение свободно-радикальных процессов окисления представляет научный интерес в контексте выявления патогенетических механизмов развития почечной дисфункции у беременных женщин и подтверждает необходимость патогенетической терапии препаратами с антиоксидантным и мембранопротекторным действием во втором и третьем триместрах беременности при гестационном пиелонефрите.

Литература

1. Неймарк А.И., Капсаргин Ф.П., Синдеева Л.В., Дугаржапова Т.О., Фирсов М.А. Клинико-антропометрические параллели в диагностике пиелонефрита беременных. *Урологические ведомости*. 2022; 12(1): 21–32. <https://doi.org/10.17816/uroved101478>
2. Шульженко Е.В. Беременность, роды и послеродовый период у женщин с заболеваниями почек. *Учебное пособие*. Благовещенск.: 2019.
3. Жамбалова Б.А., Носикова И.Н., Малушенко С.В., Максина А.Г., Ганковская Л.В., Доброхотова Ю.Э. и др. Показатели оксидативного стресса у здоровых беременных женщин и беременных женщин с урогенитальной инфекцией на ранних сроках гестации. *Акушерство и гинекология*. 2017; 9: 40–6. <https://doi.org/10.18565/aig.2017.9.40-6>

4. Ефремова О.А., Камышникова Л.А., Вейсалов С.Э., Свиридова М.С., Киселевич М.М. Состояние системы оксидативный стресс – антиоксидантная защита у больных с хроническим пиелонефритом. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация.* 2019; 42(2): 158–66.
5. Граф А.В., Байжуманов А.А., Маслова М.В., Крушинская Я.В., Маклакова А.С., Соколова Н.А. и др. Активность антиоксидантной системы при беременности в норме и при гипоксии. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология.* 2021; 76(3): 126–33.
6. Минасян А.М., Хрипунова Г.И., Шляхова И.Ю. Активность перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты у беременных с хроническим пиелонефритом в фазе ремиссии, осложненным преэклампсией. *Международный журнал экспериментального образования.* 2015; 2(1): 40–1.
7. Залозная И.В., Коптева Е.В., Милютин Ю.П., Корневский А.В., Арутюнян А.В., Шелаева Е.В. и др. Оценка содержания маркеров оксидативного стресса в материнской и пуповинной крови беременных с сахарным диабетом в аспекте перераспределения кровотока в венозной системе плода. *Акушерство и гинекология.* 2024; 10: 41–51. <https://doi.org/10.18565/aig.2024.178>
8. Спиридонова Е.В. Прогностическая ценность оценки показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной активности амниотической жидкости в развитии осложнений беременности плацентарного генеза. *Мать и дитя в Кубассе.* 2015; 2(61): 82–6.
9. Бахарева И.В. Роль антиоксидантов при беременности высокого риска. *Гинекология.* 2014; 16(1): 90–6.
10. Кирпатовский В.И., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Кудряцева Л.В., Фролова Е.В., Векилян М.А. Оксидантный стресс и тканевая гипоксия как факторы, способствующие развитию дисфункции предстательной железы и мочевого пузыря при метаболическом синдроме. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2021; 14(2): 14–22. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-2-14-22>
11. Денисюкова А.С., Павлюченко И.И., Иванова Л.А., Попов З.С., Попов В.И. Особенности изменений в системе антиоксиданты/прооксиданты у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, осложненным дистальной нейропатией и синдромом диабетической стопы. *РМЖ.* 2023; 2: 3–6.
12. Павлюченко И.И., Безрукова О.С., Зобенко В.Я., Есауленко Е.Е., Басов А.А., Сторожук А.П. Состояние системы антиоксидантной защиты и цитокиновый профиль крови в различные сроки физиологически протекающей беременности. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2020; 10(2): 40–7.
13. Пестряева Л.А., Мальгина Г.Б., Смирнова Е.Е., Третьякова Т.Б., Даныкова И.В., Борисова С.В. Антиоксидантный статус крови у женщин старшего репродуктивного возраста при индуцированной беременности. *Проблемы репродукции.* 2020; 26(1): 13–7. <https://doi.org/10.17116/герго20202601113>
14. Боголепова А.Н. Роль оксидантного стресса в развитии сосудистых когнитивных расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020; 120(8): 133–9. <https://doi.org/10.17116/jnevro2020120081133>
15. Федорова Н.Д., Сумбатьян Д.А., Соколов А.В., Филатов М.В., Трашков А.П., Варфоломеева Е.Ю. Влияние белков острой фазы воспаления на активность нейтрофилов периферической крови. *Биофизика.* 2023; 68(3): 522–8. <https://doi.org/10.31857/S0006302923030146>
16. Заморский И.И., Унгурян Т.Н., Мельничук С.П., Заморский И.И. Антиоксидантная активность церулоплазмينا в условиях рабдомиолиз-индуцированного острого повреждения почек. *Биофизика.* 2019; 64(6): 1221–4. <https://doi.org/10.1134/S000630291905022X>
17. Паршевникова А.С. Активные формы кислорода и пути их обезвреживания в организме. *Бюллетень Северного государственного медицинского университета.* 2022; 1(47): 55–7.
18. Шестакова М.А., Проскурнина Е.В., Щербакова Л.Н., Панина О.Б., Клетки гранулезы как источники активных форм кислорода. *Акушерство и гинекология.* 2019; 1: 42–9. <https://doi.org/10.18565/aig.2019.1.42-49>
19. Галимова С.Ш., Абдрахманова Н.И., Себякина И.Д., Галимов Ш.Н., Мочалов К.С., Галимов К.Ш. и др. Тромбоцитопения и С-реактивный белок как маркеры геморрагической лихорадки с почечным синдромом, осложненной острой почечной недостаточностью. *Вестник современной клинической медицины.* 2024; 17(6): 13–8. [https://doi.org/10.20969/VSKM.2024.17\(6\).13-18](https://doi.org/10.20969/VSKM.2024.17(6).13-18)
20. Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Покровский С.Н. С-реактивный белок: патогенетические свойства и возможная терапевтическая мишень. *Российский кардиологический журнал.* 2021; 26(6): 128–34. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4138>
21. Елеукина А.А., Коржумбаев А.Н., Акшалов А.Р., Капезов К.Е., Абдихалилов У.Н. Изменение С-реактивного белка в сыворотке крови при коронавирусной и бактериальной пневмонии. *Тенденции развития науки и образования.* 2021; 74(1): 43–8. <https://doi.org/10.18411/lj-06-2021-09>
22. Галимова С.Ш., Литвицкий П.Ф., Галимова Э.Ф., Мочалов К.С., Галимов Ш.Н. Молекулярные аспекты патогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(2): 106–11. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.02.106-111>
23. Алиева А.М., Пинчук Т.В., Воронкова К.В., Шнахова Л.М., Эттингер О.А., Ахмедова М.Ф. и др. Неоптерин – биомаркер хронической сердечной недостаточности (обзор современной литературы). *Consilium Medicum.* 2021; 23(10): 756–9. <https://doi.org/10.26442/20751753.2021.10.201113>
24. Каткова Н.Ю., Бодрикова О.И., Сергеева А.В., Андосова Л.Д., Шахова К.А., Безрукова И.М. и др. Состояние локального иммунного статуса, содержание неоптерина и кортизола при различных вариантах преждевременных родов. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2017; 66(3): 60–70. <https://doi.org/10.17816/JOWD66360-70>
25. Левкович М.А., Крукиер И.И., Ерджян Л.Л., Калинина А.В. Значение медиаторов воспаления в патогенезе преждевременных родов. *Российский иммунологический журнал.* 2019; 22(2–1): 365–7.
26. Дорофиев Н.Н. Роль сосудистого эндотелия в организме и универсальные механизмы изменения его активности (обзор литературы). *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2018; 68: 107–16. https://doi.org/10.12737/article_5b1a0351210298.18315210
27. Гребенчиков О.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д. Эндотелиальная дисфункция как важнейший патогенетический фактор развития критического состояния. *Вестник СуГМУ. Медицина.* 2021; 3(49): 51–60. <https://doi.org/10.34822/2304-9448-2021-3-51-60>
28. Иванов А.Н., Попыхова Э.Б., Терешкина Н.Е., Степанова Т.В., Злобина О.В., Норкин И.А. Вазомоторная функция эндотелия. *Успехи*

- физиологических наук. 2020; 51(4): 82–104. <https://doi.org/10.31857/S0301179820030066>
29. Друккер Н.А., Селюткина С.Н., Ермолова Н.В., Чикин А.Л., Палиева Н.В. Значение оксида азота и кахектина в патогенезе преэклампсии. *Акшерство и гинекология*. 2020; 3: 72–8. <https://doi.org/10.18565/aig.2020.3.72-78>
30. Прокопенко Е.И., Никольская И.Г., Ватазин А.В., Ветчинникова О.Н. *Хроническая болезнь почек и беременность. Монография*. М.: Издательский дом ООО «Буки Веди»; 2018.

References

1. Neimark A.I., Kapsargin F.P., Sindeeva L.V., Dugarzhapova T.O., Firsov M.A. Clinical and anthropometric parallels in the diagnosis of pyelonephritis in pregnant women. *Urologicheskie vedomosti*. 2022; 12(1): 21–32. <https://doi.org/10.17816/uroved101478> (in Russian)
2. Shulzhenko E.V. Pregnancy, childbirth and the postpartum period in women with kidney diseases. Study guide. [*Beremennost', rody i poslerodovyy period u zhenshhin s zabolevaniyami pochek. Uchebnoe posobie*]. Blagoveshchensk: 2019 (in Russian)
3. Zhambalova B.A., Nosikova I.N., Malushenko S.V., Maksina A.G., Gankovskaya L.V., Dobrokhotova Yu.E. et al. Oxidative stress indicators in healthy pregnant women and pregnant women with urogenital infection in early gestation. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2017; 9: 40–6. <https://doi.org/10.18565/aig.2017.9.40-6> (in Russian)
4. Efremova O.A., Kamyshnikova L.A., Veysalov S.E., Sviridova M.S., Kiselevich M.M. The state of the oxidative stress – antioxidant defense system in patients with chronic pyelonephritis. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmacija*. 2019; 42(2): 158–66. (in Russian)
5. Graf A.V., Baizhumanov A.A., Maslova M.V., Krushinskaya Ya.V., Maklakova A.S., Sokolova N.A., et al. Activity of the antioxidant system during pregnancy under normal conditions and under hypoxia. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16: Biologiya*. 2021; 76(3): 126-33 (in Russian)
6. Minasyan A.M., Khripunova G.I., Shlyakhova I.Yu. Activity of lipid peroxidation and antioxidant defense system in pregnant women with chronic pyelonephritis in the remission phase complicated by preeclampsia. *Mezhdunarodnyy zhurnal jeksperimental'nogo obrazovaniya*. 2015; 2(1): 40-1 (in Russian)
7. Zaloznyaya I.V., Kopteeva E.V., Milyutina Yu.P., Korenevsky A.V., Arutyunyan A.V., Shelaeva E.V., et al. Evaluation of the content of oxidative stress markers in the maternal and umbilical cord blood of pregnant women with diabetes mellitus in terms of blood flow redistribution in the venous system of the fetus. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2024; 10: 41-51. <https://doi.org/10.18565/aig.2024.178> (in Russian)
8. Spiridonova E.V. Prognostic value of assessing lipid peroxidation indices, antioxidant activity of amniotic fluid in the development of pregnancy complications of placental genesis. *Mat' i ditja v Kuzbasse*. 2015; 2(61): 82–6 (in Russian)
9. Bakhareva I.V. The role of antioxidants in high-risk pregnancy. *Ginekologiya*. 2014; 16(1): 90–6 (in Russian)
10. Kirpatovskiy V.I., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Kudryavtseva L.V., Frolova E.V., Vekilyan M.A. Oxidative stress and tissue hypoxia as factors contributing to the development of dysfunction of the prostate gland and bladder in metabolic syndrome. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja urologiya*. 2021; 14(2): 14–22. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-2-14-22> (in Russian)
11. Denisukova A.S., Pavlyuchenko I.I., Ivanova L.A., Popov Z.S., Popov V.I. Features of changes in the antioxidant/prooxidant system in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus complicated by distal neuropathy and diabetic foot syndrome. *RMZh*. 2023; 2: 3–6 (in Russian)
12. Pavlyuchenko I.I., Bezrukova O.S., Zobenko V.Ya., Esauenko E.E., Basov A.A., Storozhuk A.P. The state of the antioxidant defense system and the cytokine profile of the blood at different stages of physiologically proceeding pregnancy. *Krymskij zhurnal jeksperimental'noj i klinicheskoy mediciny*. 2020; 10(2): 40–7. (in Russian)
13. Pestryaeva L.A., Malgina G.B., Smirnova E.E., Tretyakova T.B., Dankova I.V., Borisova S.V. Antioxidant status of blood in women of advanced reproductive age during induced pregnancy. *Problemy reprodukcii*. 2020; 26(1): 13–7. <https://doi.org/10.17116/repro20202601113> (in Russian)
14. Bogolepova A.N. The role of oxidative stress in the development of vascular cognitive disorders. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. C.C. Korsakova*. 2020; 120(8): 133–9. <https://doi.org/10.17116/jnevro2020120081133> (in Russian)
15. Fedorova N.D., Sumbatyan D.A., Sokolov A.V., Filatov M.V., Trashkov A.P., Varfolomeeva E.Yu. The influence of acute phase proteins of inflammation on the activity of peripheral blood neutrophils. *Biofizika*. 2023; 68(3): 522–8. <https://doi.org/10.31857/S0006302923030146> (in Russian)
16. Zamorsky I.I., Unguryan T.N., Melnichuk S.P., Zamorsky I.I. Antioxidant activity of ceruloplasmin under conditions of rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Biofizika*. 2019; 64(6): 1221–4. <https://doi.org/10.1134/S000630291905022X> (in Russian)
17. Parshevnikova A.S. Active forms of oxygen and ways of their neutralization in the body. *Bjulleten' Severnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2022; 1(47): 55–7 (in Russian)
18. Shestakova M.A., Proskurnina E.V., Shcherbakova L.N., Panina O.B., Granulosa cells as sources of reactive oxygen species. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2019; 1: 42–9. <https://doi.org/10.18565/aig.2019.1.42-9> (in Russian)
19. Galimova S.Sh., Abdrakhmanova N.I., Sebyakina I.D., Galimov Sh.N., Mochalov K.S., Galimov K.Sh., et al. Thrombocytopenia and C-reactive protein as markers of hemorrhagic fever with renal syndrome complicated by acute renal failure. *Vestnik sovremennoj klinicheskoy mediciny*. 2024; 17(6): 13–8. [https://doi.org/10.20969/VSKM.2024.17\(6\).13-18](https://doi.org/10.20969/VSKM.2024.17(6).13-18) (in Russian)
20. Utkina E.A., Afanasyeva O.I., Pokrovskiy S.N. C-reactive protein: pathogenetic properties and possible therapeutic target. *Rossiyskij*

- kardiologicheskij zhurnal*. 2021; 26(6): 128–34. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4138> (in Russian)
21. Eleukina A.A., Korzhumbaev A.N., Akshalov A.R., Kapezov K.E., Abdikhalilov U.N. Changes in C-reactive protein in blood serum in coronavirus and bacterial pneumonia. *Tendencii razvitiya nauki i obrazovaniya*. 2021; 74(1): 43–8. <https://doi.org/10.18411/lj-06-2021-09> (in Russian)
 22. Galimova S.Sh., Litvitsky P.F., Galimova E.F., Mochalov K.S., Galimov Sh.N. Molecular aspects of the pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2023; 67(2): 106–11. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.02.106-111> (in Russian)
 23. Aliyeva A.M., Pinchuk T.V., Voronkova K.V., Shnahova L.M., Ettinger O.A., Akhmedova M.F., et al. Neopterin as a biomarker of chronic heart failure (review of current literature). *Consilium Medicum*. 2021; 23(10): 756–9. <https://doi.org/10.26442/20751753.2021.10.201113> (in Russian)
 24. Katkova N.Yu., Bodrikova O.I., Sergeeva A.V., Andosova L.D., Shahova K.A., Bezrukova I.M., et al. Local immune status, neopterin and cortisol content in different variants of preterm labor. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej*. 2017; 66(3): 60–70. <https://doi.org/10.17816/JOWD66360-70> (in Russian)
 25. Levkovich M.A., Krukier I.I., Erdzhanyan L.L., Kalinina A.V. The importance of inflammatory mediators in the pathogenesis of premature birth. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*. 2019; 13(2–1(22)): 365–7. (in Russian)
 26. Dorofienko N.N. The role of vascular endothelium in the body and universal mechanisms of changing its activity (literature review). *Bjulleten' fiziologii i patologii dyhaniya*. 2018; 68: 107–16. https://doi.org/10.12737/article_5b1a0351210298.18315210 (in Russian)
 27. Grebenchikov O.A., Dolgikh V.T., Prokofiev M.D. Endothelial dysfunction as the most important pathogenetic factor in the development of critical condition. *Vestnik SurGU. Medicina*. 2021; 3(49): 51–60. <https://doi.org/10.34822/2304-9448-2021-3-51-60> (in Russian)
 28. Ivanov A.N., Popykhova E.B., Tereshkina N.E., Stepanova T.V., Zlobina O.V., Norkin I.A. Vasomotor function of the endothelium. *Uspehi fiziologicheskikh nauk*. 2020; 51(4): 82–104. <https://doi.org/10.31857/S0301179820030066> (in Russian)
 29. Drukker N.A., Selyutina S.N., Ermolova N.V., Chikin A.L., Palieva N.V. The importance of nitric oxide and cachectin in the pathogenesis of premature birth. *Akusherstvo i ginekologija*. 2020; 3: 72–8. <https://doi.org/10.18565/aig.2020.3.72-78> (in Russian)
 30. Prokopenko E.I., Nikolskaya I.G., Vatazin A.V., Vetchinnikova O.N. *Chronic kidney disease and pregnancy. Monograph. [Hronicheskaja bolezni' pochek i beremennost'. Monografija]*. Moscow: Publishing house ООО «Buki Vedi»; 2018 (in Russian)

Сведения об авторах:

Холименко Иван Михайлович, канд. мед. наук, врач уролог ОБУЗ «КОМКБ» Минздрава Курской области, Курск, Российская федерация, e-mail: kholimenko@yandex.ru

Шатохин Максим Николаевич, доктор мед. наук., проф. кафедры эндоскопической урологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Российская федерация, e-mail: sh.77@mail.ru

Конопля Николай Александрович, доктор мед. наук, проф. кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, e-mail: konoplya51@mail.ru

Кравцов Алексей Юрьевич, зав. хирургическим отделением (стационар), врач-уролог, Медицинский центр «Мэйджор Клиник», Москва. e-mail: kraftsoff@mail.ru

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616.831-005.4-085.21

Осиков М.В.^{1,2}, Шеломенцев А.В.^{1,3}, Шишкова Ю.С.¹, Бойко М.С.¹, Федосов А.А.⁴, Агеева А.А.¹

Ингибирование перекисного окисления липидов как механизм нейропротекторного действия мелатонина при экспериментальной острой ишемии головного мозга

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454092, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64г;

²ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», 454080, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 70;

³ГБУЗ «Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн», 454080, Челябинск, Россия, ул. Медгородок, д. 8г;

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», 117198, Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, д. 6г

Введение. В связи с ограниченной эффективностью и безопасностью методов лечения ишемического инсульта, мелатонин (МТ) в составе оригинальных ректальных суппозиториях, обладая плеiotропными свойствами, может являться перспективным нейропротектором. Цель: изучить влияние мелатонина в составе оригинальных ректальных суппозиториях на показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) сыворотки крови в динамике экспериментальной острой ишемии головного мозга (ЭОИГМ).

Методика. 40 крыс-самцов Wistar (220-240 г.) разделены на 4 группы: I – ложнооперированные, II – ЭОИГМ, III – ЭОИГМ на фоне применения оригинальных ректальных суппозиториях каждые 24 часа на протяжении 7 суток, IV – ЭОИГМ на фоне применения цитиколина (100 мг/кг в/брюшинно) каждые 24 ч. Моделирование ЭОИГМ выполняли по методу S.T. Chen и соавт. На 3-и и 7-е сутки оценивали неврологический статус по шкале Garcia J.H., Placing test, содержание продуктов ПОЛ в липидном экстракте сыворотки (гептановая и изопропанольная фазы).

Результаты. При ЭОИГМ на 3-и и 7-е сутки отмечалось снижение показателей по шкале Garcia J.H. и Placing test и повышение уровня продуктов ПОЛ в липидном экстракте сыворотки. Применение ректальных суппозиториях с МТ приводило к повышению показателей по шкале Garcia J.H. и Placing test на 3-и и 7-е сутки и снижению содержания ДК, КД и СТ, ШО в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови, но не достигало показателей ложнооперированных животных. Происходит восстановление показателей по шкале Garcia J.H., Placing test по мере уменьшения содержания продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови. По сравнению с цитиколином применение МТ приводило к повышению показателей по шкале Garcia J.H., Placing test и менее выраженному снижению содержания в изопропанольной фазе КТ и СТ, ШО и в гептановой фазе ДК, КТ и СТ, ШО.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о нейропротективном эффекте МТ в составе оригинальных ректальных суппозиториях, обусловленном его ПОЛ-ограничивающим свойством.

Ключевые слова: мелатонин; цитиколин; перекисное окисление липидов; острая экспериментальная ишемия головного мозга.

Для цитирования: Осиков М.В., Шеломенцев А.В., Шишкова Ю.С., Бойко М.С., Федосов А.А., Агеева А.А. Ингибирование перекисного окисления липидов как механизм нейропротекторного действия мелатонина при экспериментальной острой ишемии головного мозга. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(4): 123–132.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.123-132

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Осиков М.В., Шеломенцев А.В., Шишкова Ю.С.; сбор и обработка материала – Шеломенцев А.В., Агеева А.А.; статистическая обработка материала – Шеломенцев А.В., Бойко М.С.; написание текста – Осиков М.В., Шеломенцев А.В., Шишкова Ю.С., Бойко М.С., Федосов А.А., Агеева А.А., редактирование – Осиков М.В., Шеломенцев А.В., Агеева А.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Шеломенцев Алексей Викторович, e-mail: avshelomenzew18@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Osikov M.V.^{1,2}, Shelomentsev A.V.^{1,3}, Shishkova Yu.S.¹, Boyko M.S.¹, Fedosov A.A.⁴, Ageeva A.A.¹

Inhibition of lipid peroxidation as a mechanism of neuroprotective action of melatonin in experimental acute cerebral ischemia

¹South Ural State Medical University, 64 Vorovskiy St., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation;

²The State Budgetary Healthcare Institution Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, 70 Vorovskiy str., Chelyabinsk, 454080, Russian Federation;

³State Budgetary Healthcare Institution Chelyabinsk Regional Clinical Therapeutic Hospital for War Veterans, 8 Medgorodok St., Chelyabinsk, 454080, Russian Federation;

⁴Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russian Federation

Background. Due to the limited efficacy and safety of ischemic stroke treatment methods, melatonin (MT) in the original rectal suppositories, having pleiotropic properties, may be a promising neuroprotector. Objective: to study the effect of melatonin contained in original rectal suppositories on lipid peroxidation (LPO) in blood serum during experimental acute cerebral ischemia (EACI).

Methods. 40 male Wistar rats (220-240 g) were divided into 4 groups: I – falsely operated, II – EACI, III – EACI against the background of the use of original rectal suppositories every 24 hours for 7 days, IV – EACI against the background of the use of citicoline (100 mg/kg intravenously) Every 24 hours, EACI modeling was performed according to the method of S.T. Chen et al. On days 3 and 7, the neurological status was assessed according to the Garcia J.H. scale, Placing test, the content of LPO products in serum lipid extract (heptane and isopropanol phases).

Results. With EACI, on days 3 and 7, there was a decrease in the Garcia J.H. and Placing test scores and an increase in the level of LPO products in the serum lipid extract. The use of rectal suppositories with MT led to an increase in the Garcia J.H. and Placing test scores on days 3 and 7 and a decrease in the content of diene conjugates, ketodienes and conjugated trienes, and Schiff bases in the heptane and isopropanol phases of the serum lipid extract, but did not reach the values of the falsely operated animals. The indicators on the Garcia J.H scale, Placing test, are restored as the content of LPO products in the heptane and isopropanol phases of the blood serum lipid extract decreases. Compared with citicoline, the use of MT led to an increase in the Garcia J.H scale, the Placing test, and a less pronounced decrease in the content of ketodienes and conjugated trienes, Schiff bases and the heptane phase of diene conjugates, ketodienes and conjugated trienes, and Schiff bases in the isopropanol phase.

Conclusion. The results obtained indicate the neuroprotective effect of MT in the original rectal suppositories due to its LPO-limiting property.

Keywords: melatonin; citicoline; lipid peroxidation; acute experimental cerebral ischemia

For citation: Osikov M.V., Shelomentsev A.V., Shishkova Yu.S., Boyko M.S.1, Fedosov A.A., Ageeva A.A. Inhibition of lipid peroxidation as a mechanism of neuroprotective action of melatonin in experimental acute cerebral ischemia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; (4): 123–132. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.123-132

Author's contribution: research concept and design – Osikov M.V., Shelomentsev A.V., Shishkova Yu.S.; collection and processing of material – Shelomentsev A.V., Ageeva A.A.; statistical processing of material – Shelomentsev A.V., Boyko M.S.; writing the text – Osikov M.V., Shelomentsev A.V., Shishkova Yu.S., Boyko M.S., Fedosov A.A., Ageeva A.A., editing the text – Osikov M.V., Shelomentsev A.V., Ageeva A.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Alexey V. Shelomentsev, Assistant of the Department of Pathophysiology of the South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 64, Vorovskiy St., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation, e-mail: avshelomenzew18@mail.ru

Information about the authors:

Osikov M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

Shelomentsev A.V., <https://orcid.org/0009-0002-1710-3922>

Shishkova Yu.S., <https://orcid.org/0000-0002-9221-7500>

Boyko M.S., <https://orcid.org/0000-0002-4046-2424>

Fedosov A.A., <https://orcid.org/0000-0003-2224-5175>

Ageeva A.A., <https://orcid.org/0000-0002-3061-7621>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 03.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Ишемический инсульт (ИИ) является серьезной медико-социальной проблемой, определяющей высокую смертность и инвалидизацию трудоспособного населения во всем мире [1]. В РФ на протяжении последних 5 лет ежегодно регистрируется 450 тыс. случаев инсульта в год, летальность составляет 20,7 %, что подчеркивает необходимость дальнейшего изучения патогенеза ИИ и разработки новых терапевтических стратегий [2]. Патогенез ИИ представлен сложным каскадом патохимических реакций в очаге ишемического повреждения головного мозга, включая глутаматергическую эксайтотоксичность, нейровоспаление и окислительный стресс [3]. Глутаматергическая эксайтотоксичность инициируется длительной и чрезмерной активацией рецепторов к глутамату, который избыточно синтезируется в очаге повреждения головного мозга в ответ на острую ишемию, приводя к дисфункции дыхательной цепи митохондрий с массивной генерацией активных форм кислорода (АФК) [4]. Гиперпродукция АФК усиливает ПОЛ мембран нейронов с образованием высокоактивных альдегидов, которые оказывают прямое цитотоксическое действие на нейроны очага ишемического повреждения головного мозга [5]. Глутаматергическая эксайтотоксичность и АФК через активацию микроглии и астроцитов приводят к избыточному синтезу провоспалительных цитокинов и инфильтрации очага ишемического повреждения нейтрофилами. Избыточное поступление нейтрофилов в очаг ишемического повреждения потенцирует генерацию АФК и индуцирует синтез матриксных металлопротеиназ, которые оказывают прямое повреждающее действие на нейроны [6]. Нейропротекция – один из ведущих подходов в терапии ИИ, включающий фармакологические и интервенционные методы, направленные на сохранение нейронов в зоне пенумбры при ИИ [7]. Однако обнадеживающие данные доклинических исследований и значительное число клинических исследований не смогли подтвердить эффективность потенциальных нейропротекторов, влияющих на несколько звеньев патогенеза ИИ [8]. Среди потенциальных нейропротекторов особый интерес представляет мелатонин (МТ), обладающий широким спектром эффектов, включая антиоксидантный, противовоспалительный и антиапоптотический, что делает его перспективным нейропротектором при ИИ [9]. Применение ректальных суппозиториев является альтернативным способом введения лекарственных средств. Продемонстрировано, что липофильная основа ректального суппозитория, обеспечивая его плавление при физиологической температуре те-

ла человека и выход действующего вещества в просвет прямой кишки с последующим всасыванием в системный кровоток [10]. Ректальные суппозитории с МТ могут служить эффективной альтернативой пероральным и парентеральным лекарственным формам современных нейропротекторов.

Цель исследования – изучить влияние мелатонина в составе оригинальных ректальных суппозиториев на показатели перекисного окисления липидов сыворотки крови в динамике экспериментальной острой ишемии головного мозга.

Методика

Исследование выполнено на 40 половозрелых крысах-самцах Wistar массой 220–240 г в соответствии с требованиями Европейской конвенции по содержанию, уходу и использованию в эксперименте лабораторных животных и одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 5 от 10.06.2024 г.) [11]. Животные методом простой рандомизации разделены на 4 группы: I группа ($n = 10$) – ложнооперированные; II группа ($n = 10$) – животные с ЭОИГМ; III группа ($n = 10$) – животные с ЭОИГМ в условиях применения оригинальных ректальных суппозиториев массой 100 мг, содержащих 2,5 мг МТ, каждые 24 часа на протяжении 7 суток (патент № 2819721 от 07.06.2024 г.); IV группа ($n = 10$) – животные с ЭОИГМ в условиях применения раствора цитиколина 100 мг/кг, вводимого внутривентриально каждые 24 часа на протяжении 7 суток. Моделирование ЭОИГМ выполнялось по методу S.T. Chen [12]. Для анестезии применяли препарат «Золетил-100» (МНН: тилетамин гидрохлорид, Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 20 мг/кг. Животным II–IV групп выполняли рассечение кожи и подлежащих мягких тканей между лобно-теменным и затылочно-лобным швами длиной до 2 см слева с формированием трепанационного отверстия диаметром 5 мм в левой теменной области черепа с помощью высокоточного бора. Рассекали твердую мозговую оболочку и выполняли одномоментную диатермокоагуляцию пиальных сосудов в проекции трепанационного отверстия с последующим ушиванием раны. Животным I группы выполняли все последовательные оперативные вмешательства без диатермокоагуляции пиальных сосудов.

Для верификации модели ЭОИГМ оценивали неврологический статус, ранее установленные данные доплерографической флоуметрии церебрального кровотока и гистологических срезов очага ишемического повреждения головного мозга [13].

Неврологический статус оценивали на 3-и и 7-е сутки исследования с помощью шкалы Garcia J.H. и Placing test (теста постановки лапки), результаты которых выражали в баллах [14, 15].

Содержание продуктов ПОЛ в липидном экстракте сыворотки крови животных оценивали с помощью экстракционно-спектрофотометрического метода на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-Спектр», Санкт-Петербург, Россия). Измеряли оптическую плотность в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови при 220 нм (содержание изолированных двойных связей), 232 нм (содержание диеновых конъюгатов – ДК), 278 нм (содержание кетодиенов и сопряженных триенов – КД и СТ), 400 нм (содержание оснований Шиффа – ОШ). Относительное содержание продуктов ПОЛ выражали в единицах индекса окисления (е.и.о.): E232/E220 (ДК), E278/E220 (КД и СТ) и E400/E220 (ОШ) [16, 17].

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с использованием программы IBM SPSS Statistics 19 (США). Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q1; Q3)», где Me – медиана, Q1 и Q3 – значения нижнего и верхнего квартилей соответственно. Для оценки значимости различий между двумя группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни при условии, что межгрупповые различия значимы по критерию Краскела – Уоллиса. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (ρ). Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты

При ЭОИГМ у животных клинически регистрировался очаговый прогрессирующий неврологический дефицит в виде правостороннего гемипареза, правосторонней гемигипестезии и статокоординаторных нарушений. На 3-и сутки при оценке неврологического статуса по сравнению с ложнооперированными животными фиксировалось значимое снижение баллов по шкале Garcia J.H. и Placing test в 2,4 раза; на 7-е сутки – соответственно в 4 и 5 раз (**табл. 1**). В динамике исследования у животных с ЭОИГМ на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками регистрировалось значимое снижение баллов по шкале Garcia J.H. и Placing test.

При оценке содержания продуктов ПОЛ в липидном экстракте сыворотки крови животных с ЭОИГМ по сравнению с ложнооперированными животными на 3-и сутки регистрировалось значимое увеличение в гептановой и изопропанольной фазах содержания ДК соответственно в 24,3 и 88 раз, КД и СТ в 36 и 24 раза и ШО.

На 7-е сутки отмечалось значимое увеличение в гептановой и изопропанольной фазах содержания ДК соответственно в 3,2 и 4,4 раза, КД и СТ в 36 раз и 16 раз и ШО (**табл. 2**). В динамике ЭОИГМ на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками фиксировалось значимое увеличение в гептановой и в изопропанольной фазах содержания ДК, КТ и СТ, ШО.

Применение суппозитория с МТ при ЭОИГМ приводило к изменению клинической картины: уменьшалась глубина правостороннего гемипареза, выраженность правосторонней гемигипестезии и статокоординаторных нарушений. На 3-и сутки по сравнению с животными с ЭОИГМ фиксировалось значимое увеличение баллов по шкале Garcia J.H. и Placing test в 1,5 раза; на 7-е сутки – соответственно в 3,3 раза и в 4,1 раза (**табл. 1**). В динамике исследования у животных, получавших МТ, на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками, регистрировалось значимое увеличение баллов по шкале Garcia J.H. и по Placing test. На 3-и и 7-е сутки при оценке неврологического статуса у животных, получавших МТ, по сравнению с ложнооперированными животными, фиксировалось не значимое снижение баллов по шкале Garcia J.H. и по Placing test, что позволяет говорить только о частичном восстановлении неврологического дефицита в условиях применения МТ (**табл. 1**).

При оценке содержания продуктов ПОЛ в сыворотке крови животных, получавших суппозитории с МТ, по сравнению с животными с ЭОИГМ, на 3-и сутки фиксировалось значимое снижение в гептановой и изопропанольной фазах содержания ДК в 1,3 и 1,9 раза, КД и СТ в 1,8 и 1,3 раза, и ШО в 2 и 1,4 раза. На 7-е сутки отмечалось значимое снижение в гептановой и изопропанольной фазах содержания ДК соответственно в 1,5 и 3,8 раза, КД и СТ в 1,5 и 1,6 раза, и ШО в 1,8 и 1,3 раза (**табл. 2**). В динамике исследования у животных, получавших суппозитории с МТ, на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками фиксировалось увеличение содержания ДК, КД и СТ, и уровня ШО в гептановой фазе, а также снижение содержания ДК и увеличение содержания КД и СТ, ШО в изопропанольной фазе (**табл. 2**).

Внутрибрюшинное введение цитиколина при ЭОИГМ клинически уменьшало глубину правостороннего гемипареза, выраженность правосторонней гемигипестезии и статокоординаторных нарушений. На 3-и сутки по сравнению с животными с ЭОИГМ значимые отличия по шкале Garcia J.H. отсутствовали, при этом отмечалось значимое увеличение баллов по Placing test в 1,5 раза. На 7-е сутки отмечалось увеличение баллов по шкале Garcia J.H. и по Placing test в 3,3 и 3 раза соответственно (**табл. 1**). У животных, получавших цитико-

Влияние мелатонина на неврологический статус при ЭОИГМ, (Me [Q₁; Q₃])The effect of melatonin on neurological status in experimental acute cerebral ischemia, (Me [Q₁; Q₃])

Показатели Indicators	Группа I Group I		Группа II Group II		Группа III Group III		Группа IV Group IV	
	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)
Шкала Garcia J.H., баллы Garcia J.H. scale, points	18,00 [18,00; 18,00]	18,00 [18,00; 18,00]	7,50 [7,00; 8,00] *	4,50 [3,00; 6,00] *&	11,50 [10,00; 13,00] **	15,00 [14,00; 16,00] **&	7,00 [6,00; 8,00] *\$	15,00 [11,00; 15,00] **\$
Шкала Placing test, баллы Placing test scale, points	9,50 [9,00; 10,00]	9,50 [9,00; 10,00]	4,00 [3,00; 4,00] *	2,00 [1,00; 2,00] *&	6,00 [6,00; 7,00] **	8,50 [8,00; 9,00] **&	6,00 [6,00; 7,00] **	6,00 [5,00; 7,00] **\$

Примечание: * – значимые ($p < 0,05$), согласно критерию Манна – Уитни, различия с группой I на соответствующие сутки, # – с группой II на соответствующие сутки; \$ – с группой III на соответствующие сутки; & – отличия в группах между 3 и 7 сутками.

Note: * – significant ($p < 0,05$), according to the Mann – Whitney criterion, differences with group I on the corresponding day, # – with group II on the corresponding day; \$ – with group III on the corresponding day; & – differences in groups between 3 and 7 days.

лин, на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками по шкале Garcia J.H. и по Placing test значимые различия не обнаружены (**табл. 1**).

На 3-и и 7-е сутки у животных, получавших цитиколин, по сравнению с ложнооперированными животными регистрировалось значимое снижение баллов по шкале Garcia J.H. и по Placing test, что позволяет говорить только о частичном восстановлении неврологического дефицита в условиях применения цитиколина (**табл. 1**).

При оценке содержания продуктов ПОЛ сыворотки крови у животных, получавших цитиколин, по сравнению с животными с ЭОИГМ на 3-и сутки регистрировалось значимое снижение содержания ДК в 1,8 и 3,9 раза, КД и СТ в 3,6 и 1,9 раза, ШО в 3 и 2,2 раза в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта соответственно. На 7-е сутки – значимое снижение содержания ДК в 1,8 и 3,8 раза, КД и СТ в 3,3 и в 2,4 раза, ШО в 3 и в 2,7 раза в гептановой и изопропанольной фазах соответственно. В динамике наблюдения у животных, получавших цитиколин, на 7-е сутки по сравнению с 3-ми, регистрировалось значимое повышение содержания ДК, КД и СТ, ШО (**табл. 2**).

Сравнительный анализ влияния МТ с цитиколином на неврологический статус при ЭОИГМ выявил значимые различия на 3-и сутки: у животных, получавших МТ, по сравнению с животными, получавшими цитиколин, баллы по шкале Garcia J.H. были выше в 1,6 раза,

по Placing test разница отсутствовала; на 7-е сутки баллы по шкале Garcia J.H. значимо не отличались, однако фиксировалось повышение баллов по Placing test в 1,4 раза (**табл. 1**).

При исследовании содержания продуктов ПОЛ в плазме крови животных, получавших МТ, по сравнению с животными, получавшими цитиколин, на 3-и сутки регистрировалось увеличение в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови содержания ДК в 1,4 и 2,1 раза, КД и СТ в 2 и 1,5 раза, ШО в 1,5 и 1,6 раза соответственно; на 7-е сутки – значимое увеличение в гептановой фазе содержания ДК в 1,2 раза, в изопропанольной и гептановых фазах содержания КД и СТ в 2,1 и 1,5 раза, ШО в 1,7 и 2 раза соответственно (**табл. 2**).

Проведен корреляционный анализ между содержанием продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови и неврологическим статусом по шкале Garcia J.H., Placing test на фоне применения оригинальных ректальных суппозиторий с МТ при ЭОИГМ (**табл. 3**). Установлено наличие отрицательных корреляционных связей.

Обсуждение

Полагаем, что одномоментная диатермокоагуляция пиальных сосудов головного мозга приводит к критическому снижению церебрального кровотока и активации

Таблица 2 / Table 2

Влияние мелатонина в составе оригинальных ректальных суппозиториях на содержание продуктов ПОЛ в липидном экстракте сыворотки при ЭОИГМ (Ме [Q1; Q3])

The effect of melatonin in the original rectal suppositories on the content of LPO products in serum lipid extract in experimental acute cerebral ischemia, (Me [Q1; Q3])

Показатели Indicators	Группа I Group I		Группа II Group II		Группа III Group III		Группа IV Group IV	
	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)	3 сутки Day 3 (n = 10)	7 сутки Day 7 (n = 10)
ДК (г), е.и.о. Diene conjugates (h), u.o.i.	0,03 [0,03; 0,03]	0,04 [0,04; 0,04]	0,79 [0,79; 0,81] *	0,97 [0,96; 1,02] *&	0,61 [0,59; 0,61] **	0,64 [0,63; 0,65] **&	0,43 [0,43; 0,44] **\$	0,52 [0,52; 0,53] **\$&
КД и СТ (г), е.и.о. Ketodienes and conjugate trienes (h), u.o.i.	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,02]	0,22 [0,21; 0,23] *	0,36 [0,35; 0,36] *&	0,12 [0,11; 0,13] **	0,24 [0,24; 0,24] **&	0,06 [0,05; 0,06] **\$	0,11 [0,11; 0,12] **\$&
Schiff bases (h), u.o.i.	0,00 [0,00; 0,00]	0,01 [0,01; 0,01]	0,24 [0,21; 0,27] *	0,45 [0,43; 0,46] *&	0,12 [0,11; 0,12] **	0,25 [0,24; 0,26] **&	0,08 [0,07; 0,08] **\$	0,15 [0,14; 0,16] **\$&
ДК (и), е.и.о. Diene conjugates (i), u.o.i.	0,02 [0,02; 0,02]	0,01 [0,01; 0,02]	0,62 [0,62; 0,65] *	0,88 [0,87; 0,88] *&	0,33 [0,32; 0,34] **	0,23 [0,22; 0,23] **&	0,16 [0,16; 0,17] **\$	0,23 [0,21; 0,24] **&
КД и СТ (и), е.и.о. Ketodienes and conjugate trienes (i), u.o.i.	0,03 [0,02; 0,03]	0,02 [0,01; 0,02]	0,29 [0,27; 0,31] *	0,48 [0,47; 0,49] *&	0,22 [0,22; 0,22] **	0,30 [0,29; 0,30] **&	0,15 [0,14; 0,15] **\$	0,20 [0,19; 0,21] **\$&
ШО (и), е.и.о. Schiff bases (i), u.o.i.	0,01 [0,01; 0,02]	0,02 [0,01; 0,02]	0,11 [0,11; 0,12] *	0,32 [0,32; 0,33] *&	0,08 [0,08; 0,09] **	0,24 [0,23; 0,24] **&	0,05 [0,04; 0,05] **\$	0,12 [0,11; 0,12] **\$&

Примечание: г – гептановая фаза, и – изопропанольная фаза; * – значимые ($p < 0,05$) различия с группой I, (согласно критерию Манна-Уитни), # – с группой II на соответствующие сутки; \$ – с группой III на соответствующие сутки; & – отличия в группах между 3-ми и 7-ми сутками.

Note: h – heptane phase, i – isopropanol phase; u.o.i. – units of the oxidation index, * – significant ($p < 0.05$), according to the Mann-Whitney criterion, differences with group I, # – with group II on the corresponding day; \$ – with group III on the corresponding day; & – differences in groups between 3 and 7 days.

окислительного стресса, обусловленного дисфункцией дыхательной цепи митохондрий нейронов с последующей утечкой электронов и образованием АФК, которые способны взаимодействовать с основными структурными компонентами нейронов (липидами, белками, нуклеиновыми кислотами) в очаге ишемического повреждения головного мозга [18]. АФК, взаимодействуя с полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) мембран нейронов, образуют липидные радикалы, которые вызывают перегруппировку двойных связей в молекуле ПНЖК с последующим формированием ДК. Липидные радикалы запускают цепную реакцию ПОЛ с образованием КД и СТ, представляющих собой вторичные продукты ПОЛ, содержащие кетогруппы и системы сопряженных двойных связей. Конечные продукты ПОЛ – малоновый диальдегид и 4-гидроксиноненаль, взаимодействуя с аминокислотами белков, нуклеиновых кислот и фосфолипидов, приводят к образованию ШО. Первичные и вторичные продукты ПОЛ (ДК, КД и СТ) способны оказывать прямое цитотоксическое влияние на нейроны в зоне пенумбры, приводя к их гибели и расширению ядра инфаркта головного мозга, и, как следствие, усугублению тяжести

неврологического дефицита. АФК посредством активации матриксных металлопротеиназ приводят к снижению синтеза и разрушению белков плотных контактов эндотелиоцитов (окклюдинов и зоннулинов), тем самым повышают проницаемость гематоэнцефалического барьера, с последующим выходом продуктов ПОЛ в плазму крови, что в совокупности может служить основанием для использования их в качестве биомаркеров, отражающих степень тяжести ишемического повреждения головного мозга [19, 20]. Таким образом, окислительный стресс, являясь одним из ведущих механизмов патогенеза ИИ, может служить ключевой мишенью для нейропротекторной терапии.

В проведенном нами исследовании продемонстрировано, что применение МТ в составе оригинальных ректальных суппозиториев при ЭОИГМ приводило к повышению баллов по шкале Garcia J.H. на 3-и сутки и по Placing test на 7-е сутки в сравнении с раствором цитиколина. Однако снижение содержания продуктов ПОЛ липидного экстракта сыворотки крови в условиях применения МТ в составе ректальных суппозиториев менее выражено, чем при применении раствора цити-

Таблица 3 / Table 3

Корреляция между содержанием продуктов ПОЛ в сыворотке крови и показателями неврологического статуса на фоне применения оригинальных ректальных суппозиториев с МТ при ЭОИГМ.

Correlation between the content of LPO products in blood serum and indicators of neurological status against the background of the use of original rectal suppositories with melatonin in experimental acute cerebral ischemia

Показатели Indicators	ДК (г) е.и.о Diene conjugates (h), u.o.i.	КД и СТ (г) е.и.о Ketodienes and conjugate trienes (h), u.o.i.	ШО (г) е.и.о Schiff bases (h), u.o.i.	ДК (и) е.и.о Diene conjugates (i), u.o.i.	КД и СТ (и) е.и.о Ketodienes and conjugate trienes (i), u.o.i.	ШО (и) е.и.о Schiff bases (i), u.o.i.
Шкала Garcia J.H., баллы Garcia J.H. scale, points	$\rho = -0,72$	$\rho = -0,81$	$\rho = -0,81$	$\rho = -0,83$	$\rho = -0,76$	$\rho = -0,77$
Шкала Placing test, баллы Placing test scale, points	$\rho = -0,68$	$\rho = -0,59$	$\rho = -0,63$	$\rho = -0,62$	$\rho = -0,61$	$\rho = -0,67$

Примечание: Приведены статистически значимые значения коэффициента корреляции Спирмена (ρ) с показателями неврологического статуса при болезни; г – гептановая фаза, и – изопропанольная фаза.

Note: Statistically significant values of Spearman’s correlation coefficient (ρ) with indicators of the neurological status of the disease are given; h – heptane phase, i – isopraponol phase; u.o.i. – units of the oxidation index.

колина по всем фракциям в гептановой и изопропанольной фазах (кроме содержания ДК в изопропанольной фазе). Полагаем, что данные изменения могут быть связаны с плейотропными эффектами МТ в составе оригинальных ректальных суппозиториях, включая ПОЛ-ограничивающий, противовоспалительный, антиапоптотический эффекты и его высокой биодоступностью. Показано, что биодоступность МТ в составе ректальных суппозиториях превышала биодоступность других лекарственных форм МТ, что может быть обусловлено его липофильными свойствами, обеспечивающими быстрое и полное проникновение МТ через слизистую оболочку прямой кишки в общий кровоток [21]. Транспорт МТ в кровотоке осуществляется посредством его обратимого связывания с альбумином [22]. МТ, обладая относительно низкой молекулярной массой и высокой степенью растворимости в липидах, способен беспрепятственно проникать через гематоэнцефалический барьер головного мозга и распространяться по центральной нервной системе [23, 24]. МТ, взаимодействуя с АФК, такими как гидроксильный радикал и супероксид-анион-радикал, приводит к их инактивации, тем самым ингибируя окислительный стресс. Кроме того, МТ способен ингибировать митоген-активируемую протеинкиназу и повышать активацию компонентов антиоксидантной системы (в частности, системы Nrf2/НО-1/Trx), а также посредством собственных метаболитов (6-гидроксимелатонин, N1-ацетил-N2-формил-5-метоксикинурамин, N1-ацетил-5-метоксикинурамин) ингибировать окислительный стресс путем их прямого связывания с АФК [25, 26]. Противовоспалительный эффект МТ может быть связан с активацией пути STAT-6, который приводит к усилению синтеза белка STAT-6 и снижению синтеза провоспалительных цитокинов (IL-4) в очаге ишемического повреждения головного мозга. Также было продемонстрировано, что МТ ингибирует апоптоз нейронов в области пенумбры через фактор транскрипции

STAT-3, активация которого опосредована тирозинкиназой. Усиленный синтез STAT-3 приводит к ингибированию внешнего и внутреннего пути апоптоза нейронов [27]. Цитиколин представляет собой экзогенную форму цитидин-5-дифосфохолина, обладающую мембраностабилизирующим и антиоксидантным эффектом. Мембраностабилизирующий эффект обусловлен подавлением активности фосфолипазы А2 с последующим восстановлением арахидоновой кислоты и фосфатидилхолина, а также стабилизацией клеточной мембраны и мембраны митохондрий. Кроме того, цитиколин способен увеличивать содержание α-токоферола в клеточной мембране и снижать образование гидроперекисей жирных кислот, обуславливая его антиоксидантное действие [28].

Выводы

1. При ЭОИГМ на 3-и и 7-е сутки регистрировался неврологический дефицит по шкале Garcia J.H., Placing test, а в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови увеличивалось содержание ДК, КД и СТ, ШО.

2. В динамике ЭОИГМ применение оригинальных ректальных суппозиториях с МТ приводило к повышению показателей по шкале Garcia J.H., Placing test и снижению содержания ДК, КД и СТ, ШО в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови, но не достигало показателей ложнооперированных животных. Отмечается восстановление показателей по шкале Garcia J.H., Placing test по мере уменьшения содержания продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта сыворотки крови.

3. В динамике ЭОИГМ применение МТ в составе оригинальных ректальных суппозиториях по сравнению с раствором цитиколина приводило к повышению показателей по шкале Garcia J.H., Placing test и менее выраженному снижению содержания в изопропанольной фазе КТ и СТ, ШО и гептановой фазе ДК, КТ и СТ, ШО.

Литература

(п.п. 1; 3-7; 9-12; 14-15; 18-22; 25-27 см. References)

- Игнатьева В.И., Вознюк И.А., Шамалов Н.А., Резник А.В., Виницкий А.А., Деркач Е.В. Социально-экономическое бремя инсульта в Российской Федерации. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2023; 123(8-2): 5-15. <https://doi.org/10.17116/jnevro20231230825>
- Кулеш А.А. Нейропротективная терапия в остром периоде ишемического инсульта. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2021; 13(4): 94-102. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2021-4-94-102>
- Осиков М.В., Бойко М.С., Шеломенцев А.В., Макейкина И.А. Нейропротективный эффект мелатонина в составе оригинальных ректальных суппозиториях при экспериментальной острой ишемии головного мозга у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2025; 179(4): 431-6. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2025-179-4-431-436>
- Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов. *Вопросы медицинской химии*. 1991; 37(4): 92-3.

17. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В., Фомина Н.В., Терентьев А.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях. Патент RU 2524667 С1, 2014.
23. Евсюкова И.И. Роль мелатонина в пренатальном онтогенезе. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2021; 57(1): 33–43. <https://doi.org/10.31857/S0044452921010022>
24. Канарский М.М., Некрасова Ю.Ю., Курова Н.А., Редкин И.В. Механизмы регуляции циркадианных ритмов у человека. *Физиология человека*. 2022; 48(3): 328-39. <https://doi.org/10.1134/s0362119722020098>
28. Соловьева Э.Ю., Карнеев А.Н., Чеканов А.В., Баранова О.А. Индивидуальные и комбинированные антиоксидантные эффекты цитиколина и этилметилгидроксипиридина сукцината. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016; 116(11): 78-85. <https://doi.org/10.17116/jnevro201611611178-85>

References

1. Feigin V.L., Norrving M.B.B., Martins S., Sacco R.L., Hacke W., et al. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *International Journal of Stroke*. 2022; 17(1): 18-29. <https://doi.org/10.1177/17474930211065917>
2. Ignatyeva V.I., Voznyuk I.A., Shamalov N.A., Reznik A.V., Vinitskiy A.A., Derkach E.V. Social and economic burden of stroke in Russian Federation. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2023; 123(8 2):5 15. <https://doi.org/10.17116/jnevro20231230825> (In Russian)
3. Cao Y., Yue X., Jia M., Wang J. Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for ischemic stroke. *Heliyon*. 2023; 9(7): e17972. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17972>
4. Shen Z., Xiang M., Chen C., Ding F., Wang Y., Shang C., et al. Glutamate excitotoxicity: Potential therapeutic target for ischemic stroke. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022; 151: 113125. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113125>
5. Elsayed W.A., Mesallam E.H., El-Serafy D., Tamer. The relationship between oxidative stress and acute ischemic stroke severity and functional outcome. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2020; 56(1): 74. <https://doi.org/10.1186/s41983-020-00206-y>
6. Jayaraj R.L., Azimullah S., Beyram R. et al. Neuroinflammation: friend and foe in ischemic stroke. *J Neuroinflammation*. 2019; 16: 142. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1516-2>
7. Ghosi S., Reda A., Varney J., Elhavari A.S., Shah J. et al. Neuroprotection in acute ischemic stroke: combating the consequences of the biology of nature. *Front. Neurol*. 2022; 13: 870141. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.870141>
8. Kulesh A.A. Neuroprotective therapy in the acute period of ischemic stroke. *Nevrologiya. neyropsikhiatriya. psikhosomatika*. 2021; 13(4): 94–102. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2021-4-94-102> (In Russian)
9. Tozihhi M., Shademan B., Youssef H., Avci K.B., Nurazaryan A., et al. Melatonin: a promising neuroprotector in ischemic-reperfusion injury of the brain. *Front. Aging and neuroscience*. 2023; 15:1227513. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1227513>
10. Hua S. Physiological and Pharmaceutical Considerations for Rectal Drug Formulation. *Front. Pharmacol*. 2019; 10: 1196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01196>
11. Parliament, European & Council, European. 2010. DIRECTIVE 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. *EU Official Journal*. L276
12. Chen S.T., Hsu C.Y., Hogan E.L. Maricq H., Balentine J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat: Reproducible extensive cortical infarction. *Stroke*. 1986; 17(4): 738-43. <https://doi.org/10.1161/01.str.17.4.738>
13. Osikov M.V., Boyko M.S., Shelomentsev A.V., Makeikina I.A. Neuroprotective effect of melatonin in original rectal suppositories in experimental acute cerebral ischemia in rats. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2025; 4: 431-6. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2025-179-4-431-436> (In Russian)
14. Garcia J.H. Early reperfusion as a rationale form of therapy in ischemic stroke. *Revista de Neurologia*. 1995; 23(123): 1067-73.
15. Schallert T., Woodlee M.T. Orienting and Placing. In: Whishaw I.Q., Kolb B., eds. *The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook with Tests*. online ed. New York: Oxford Academic; 2004; 129-40. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195162851.003.0012>
16. Lvovskaya E.I., Volchegorsky I.A., Shemyakov S.E., Lifshits R.I. Spectrophotometric determination of the end products of lipid peroxidation. *Voprosy Meditsinskoi Khimii*. 1991; 37(4): 92-3 (In Russian)
17. Fomina M.A., Abalenikhina Ju.V., Fomina N.V., Terent'ev A.A. A method for complex assessment of the content of products of oxidative modification of proteins in tissues and biological fluids. Patent 2524667 C1, RF 2014 (In Russian)
18. Gao L., Peng L., Wang J., Zhang J.H., Xia Y. Mitochondrial stress: A key role of neuroinflammation in stroke. *Journal of Neuroinflammation*. 2024; 21(1): 44. <https://doi.org/10.1186/s12974-024-03033-7>
19. Yang C, Hawkins KE, Doré S, Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019; 316(2): 135-153. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00136.2018>
20. Qin C., Yang S., Chu Y.H., Zhang H., Pang X.W., Chen L., et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: Molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022; 7(1): 215. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01064-1>
21. Zetner D., Andersen L.P.H., Alder R., Jessen M.L., Tolstrup A., Rosenberg J. Pharmacokinetics and safety of intravenous, intravesical, rectal, transdermal, and vaginal melatonin in healthy female volunteers: A cross-over study. *Pharmacology*. 2021; 106(3-4): 169-76. <https://doi.org/10.1159/000510252>
22. Liu L., Labani N., Cecon E., Jockers R., Zawilska J.B. Melatonin target proteins: Too many or not enough? *Frontiers in Endocrinology*. 2019; 10: 791. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00791>

23. Evsyukova I.I. The role of melatonin in prenatal ontogenesis. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2021. 57(1) 33–43. <https://doi.org/10.31857/S0044452921010022> (In Russian)
24. Kanarsky M.M., Nekrasova Yu.Y., Kurova N.A., Redkin I.V. Mechanisms of regulation of circadian rhythms in humans. *Fiziologiya cheloveka*. 2022. 48(3): 328-39. <https://doi.org/10.1134/s0362119722020098> (In Russian)
25. Wang J., Gao S., Lenahan C., Gu Y., Wang X., Fang Y., et al. Melatonin as an antioxidant in stroke: an updated review. *Aging Dis*. 2022; 13(6): 1823-44. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.0405>
26. Kiliç E., Çağlayan B., Çağlar Beker M. The physiological and pharmacological role of melatonin in the pathophysiological components of cellular damage after ischemic stroke. *Turk J Med Sci*. 2020; 50(SI-2): 1655-64. <https://doi.org/10.3906/sag-2008-32>
27. Tozihi M., Shademan B., Yusef H., Avci K.B., Nurazaryan A., et al. Melatonin: a promising neuroprotector in ischemic reperfusion injury of the brain. *Front. Aging and neuroscience*. 2023; 15: 1227513. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1227513>
28. Solovyeva E.Yu., Karneev A.N., Chekanov A.V., Baranova O.A. Individual and combined antioxidant effects of citicoline and ethylmethylhydroxypyridine succinate. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2016; 116(11): 78-85. <https://doi.org/10.17116/jnevro201611611178-85> (In Russian)

Сведения об авторах:

Осиков Михаил Владимирович, доктор мед. наук, проф., проф. РАН, зав. каф. патофизиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; начальник отдела научной работы, ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», e-mail: osikovmv@susmu.su

Шеломенцев Алексей Викторович, ассистент каф. патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-невролог отделения специалистов терапевтического профиля, ГБУЗ «Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн»;

Шишкова Юлия Сергеевна, доктор мед. наук, проф., проф. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Бойко Маргарита Сергеевна, канд. мед. наук, доцент каф. патофизиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Федосов Алексей Анатольевич, канд. мед. наук, доцент, доцент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии, ФГАОУ ВО «РУДН им. Патриса Лумумбы»;

Агеева Анна Алексеевна, канд. мед. наук, доцент каф. патофизиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092

Попова И.А.¹, Литвицкий П.Ф.¹, Вуколова М.Н.¹, Мальцева Л.Д.¹, Бойко А.А.², Аполлонова И.А.², Силаева А.С.¹

Цифровое моделирование процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией

¹МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Российская Федерация, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2;

²МГТУ им. Н.Э. Баумана, 105005, Россия, Москва, ул. 2-я Бауманская, д. 5

Введение. В условиях активного внедрения цифровых технологий в здравоохранение особое внимание уделяется концепции цифрового двойника – виртуальной модели пациента или патологического процесса, которая позволяет анализировать динамику заболевания, прогнозировать исход и подбирать наиболее эффективные схемы лечения. Цель работы – осуществить цифровое моделирование и создать цифрового двойника процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией.

Методика. В исследовании, основанном на ретроспективных данных пациентов, разработана математическая модель, включающая клинические параметры, лабораторные показатели, выраженность симптомов и реакцию на терапию. На основе этой модели создан цифровой двойник патологического процесса, позволивший провести сценарное моделирование течения болезни и оценить эффективность различных подходов к лечению.

Результаты. В результате моделирования выявлена высокая эффективность комбинированной терапии (валацикловир + аминодигидрофталазиндион натрия) в снижении выраженности симптомов. Также установлены статистически значимые корреляции между вирусной нагрузкой, температурной реакцией и клиническими проявлениями, что подтверждает диагностическую и прогностическую ценность цифрового моделирования.

Выводы. Таким образом, применение цифровых двойников при ХТФ демонстрирует потенциал в разработке персонализированных лечебных стратегий и оптимизации медицинских решений.

Ключевые слова: цифровое моделирование; цифровой двойник; искусственный интеллект; хронический тонзиллофарингит; субфебрилитет; герпесвирусная инфекция

Для цитирования: Попова И.А., Литвицкий П.Ф., Вуколова М.Н., Мальцева Л.Д., Бойко А.А., Аполлонова И.А., Силаева А.С. Цифровое моделирование процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 133–149.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.133-149

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Попова И.А.; сбор и обработка материала – Мальцева Л.Д.; подготовка иллюстративного материала – Силаева А.С.; статистическая обработка материала – Бойко А.А.; написание текста – Литвицкий П.Ф.; редактирование – Аполлонова И.А., Вуколова М.Н. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Попова Инга Александровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: popova_i_a_2@staff.sechenov.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Popova I.A.¹, Litvitskiy P.F.¹, Vukolova M.N.¹, Maltseva L.D.¹, Boiko A.A.², Apollonova I.A.², Silaeva A.S.¹

Digital modeling of the chronic tonsillopharyngitis process with low-grade fever associated with herpesvirus infection

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University), 119991, Russia, Moscow, Trubetskaya str., 8, p. 2;

²Bauman Moscow State Technical University (BMSTU, Bauman MSTU), 105005, Russia, Moscow, 2nd Baumanskaya str., 5

Background. In the context of active integration of digital technologies into healthcare, particular attention is given to the concept of the digital twin – a virtual model of a patient or pathological process that allows for analysis of disease dynamics, outcome prediction, and selection of the most effective treatment strategies. The aim -to perform digital modeling and create a digital twin of the process of chronic tonsillopharyngitis with subfebrile temperature, associated with herpesvirus infection.

Methods. Based on retrospective patient data, a mathematical model was developed incorporating clinical parameters, laboratory findings, symptom severity, and therapeutic response. Using this model, a digital twin of the pathological process was created, enabling scenario-based simulations of disease progression and evaluation of various treatment approaches.

Results. The modeling revealed a high effectiveness of combination therapy (valacyclovir + aminodihydrophthalazinedione sodium) in reducing symptom severity. Statistically significant correlations were also identified between viral load, temperature response, and clinical manifestations, confirming the diagnostic and prognostic value of digital modeling. **Conclusion.** Thus, the use of digital twins in CTP demonstrates strong potential for the development of personalized therapeutic strategies and optimization of clinical decision-making.

Keywords: digital modeling; digital twin; artificial intelligence; chronic tonsillopharyngitis tonsillitis; subfebrile temperature; herpesvirus infections

For citation: Popova I.A., Litvitskiy P.F., Vukolova M.N., Maltseva L.D., Boiko A.A., Apollonova I.A., Silaeva A.S. Digital modeling of the chronic tonsillopharyngitis process with low-grade fever associated with herpesvirus infection. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 133–149. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.133-149

Author's contribution: concept and design of the study – Popova I.A.; collection and processing of material – Maltseva L.D.; preparation of illustrative materials – Silaeva A.S.; statistical processing – Boiko A.A.; text writing – Litvitskiy P.F.; editing – Apollonova I.A., Vukolova M.N. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Popova Inga Aleksandrovna*, candidate of medical sciences, associate professor of the Department of Pathophysiology of Institute of Biodesign and Modeling of Live Systems I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: popova_i_a_2@staff.sechenov.ru

Information about the authors:

Popova Inga Aleksandrovna, <https://orcid.org/0000-0002-6899-9012>

Litvitskiy Petr Frantsevich, <https://orcid.org/0000-0003-0151-9114>

Vukolova Marina Nikolaevna, <https://orcid.org/0000-0002-9046-169X>

Maltseva Larisa Dmitrievna, <https://orcid.org/0000-0002-4380-4522>

Boiko Andrey Alekseevich, <https://orcid.org/0000-0003-3037-1390>

Apollonova Irina Anatolyevna, <https://orcid.org/0000-0003-2908-6541>

Silaeva Aleksandra Sergeevna, <https://orcid.org/0000-0003-1671-0990>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 25.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Система здравоохранения является приоритетным направлением внедрения искусственного интеллекта (ИИ) в Российской Федерации. Такая стратегия представляет собой концептуально новый подход к оказанию медицинской помощи населению. Одним из направлений развития ИИ в Российской Федерации является цифровое моделирование, которое позволяет с помощью цифровой вычислительной машины анализировать данные о реальных объектах, явлениях, процессах, системах, основанное на изучении их математических моделей – цифровых двойников (ЦД) (Digital twin) [1–4]. Впервые такой термин предложил профессор Мичиганского университета Майкл Гривс в 2002 году [5]. Согласно его концепции, цифровой двойник состоит из трёх основных компонентов: физического продукта в реальном пространстве; виртуального продукта в виртуальном пространстве; совокупности информации, которая связывает виртуальные и реальные продукты вместе. Использование данных цифрового двойника позволяет создать виртуальную копию любого объекта, процесса или системы, что создает широкие перспективы для ее применения в различных сферах деятельности [6].

Официально представление о цифровом двойнике впервые было использовано в отчете NASA о моделировании и симуляции за 2010 год. В нем речь шла о виртуальной копии космического корабля, которая моделировала этапы его строительства, испытаний и полетов, что позволило рационально использовать время и ресурсы для достижения результата [7]. В настоящее время цифровой двойник используется не только в промышленных и инженерных учреждениях, но и становится популярным в системе здравоохранения и медицины. Отмечается также рост интереса к использованию роботизированной техники и ИИ. Кроме того, человек часто работает с большими объемами информации, которая нуждается в обработке и последующей структуризации. Соответственно, используя возможности данного направления, можно провести цифровую трансформацию здравоохранения и более тщательно анализировать информацию о болезни и пациенте, предсказывать ее развитие, разрабатывать оптимальные стратегии лечения, сокращать риски и минимизировать вероятность врачебных ошибок. Уже сейчас можно увидеть примеры цифрового двойника в таких социально значимых сферах медицины, как кардиология, онкология, общая хирургия [8, 9, 10].

Создание цифрового двойника процесса и/или объекта в медицине включает в себя следующие этапы:

- 1) сбор и интеграция данных;
- 2) построение цифровой модели;
- 3) связь с реальными данными;
- 4) применение.

При этом в качестве цифровой модели может использоваться статистическая модель, основанная на анализе данных о пациенте [11].

Важной проблемой здравоохранения являются хронические инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей. Они широко распространены среди населения и регистрируются во всех возрастных группах, занимая лидирующие позиции (до 90% случаев) по обращаемости пациентов к врачу [12]. Более того, эти заболевания являются причиной свыше 500 000 случаев смерти ежегодно [13]. Одной из актуальных форм патологии является хронический тонзиллофарингит, ассоциированный с герпесвирусной инфекцией. Это заболевание может сопровождаться субфебрильной лихорадкой, болью в горле, а также увеличением подчелюстной группы лимфоузлов.

Механизм развития хронического тонзиллофарингита (ХТФ) включает несколько звеньев. Одним из проявлений патологического процесса является развитие субфебрильной температуры [14]. Коррекция подобных состояний вызывает трудности в силу того, что ХТФ имеет множество факторов, способствующих его возникновению и развитию. За последнее время большинство руководств и учебно-методических материалов все чаще стали подчеркивать, что ХТФ является полиэтиологичным заболеванием [15, 16]. Доказана существенная роль вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) [17] и других герпесвирусов [18] в развитии патологического процесса и поддержании воспаления небных миндалин и слизистой оболочки ротоглотки, которое в конечном итоге приобретает хроническое и рецидивирующее течение [19].

Взаимодействие вируса Эпштейна-Барр (EBV) и герпесвируса 6 типа (HHV-6), а также их роль в развитии субфебрилитета – актуальная проблема современной медицины, особенно в контексте хронических инфекций, иммуногенных нарушений и синдрома хронической усталости. Это обусловлено, в первую очередь, тем, что вирусы обладают тропизмом к слизистым оболочкам и способны персистировать в них. Во время острой фазы инфекции вирус циркулирует в крови, вызывая активацию иммунной системы. Клетки этой системы выделяют пирогенные вещества (интерлейкины, фактор некроза опухоли и др.), которые воздействуют на нейроны терморегуляторного центра гипоталамуса, вызывая повышение температуры тела. При персистенции вируса в организме возможна хроническая активация иммунной системы,

что поддерживает состояние субфебрилитета. Так, при реактивации HHV-6 и EBV (например, на фоне стресса или других инфекций) вновь инициируется иммунный ответ, сопровождающийся субфебрильной температурой. HHV-6 может способствовать реактивации EBV и наоборот, что приводит к более выраженным клиническим проявлениям. Оба вируса существенно влияют на иммунную систему, в том числе снижая активность Т-клеток и изменяя продукцию цитокинов, что способствует развитию хронического воспаления и поддержанию субфебрилитета [20–22].

При проникновении инфекционного агента в организм человека инициируется реакция окислительного стресса, способствующая элиминации возбудителя инфекции. Однако в случае герпесвирусной инфекции эта реакция может сопровождаться активацией условно-патогенной и патогенной микрофлоры, а также дополнительной реактивацией вируса [23]. При этом эндогенные антиоксидантные и противовоспалительные факторы у пациентов с хроническими воспалительными формами патологии ротоглотки в значительной мере инактивируются [24, 25]. Таким образом, эндогенные реакции могут поддерживать “порочный круг” воспаления, а также приводить к нарушениям в системе иммунобиологического надзора (ИБН) организма за его постоянным и индивидуальным антигенным составом. В связи с этим необходима специфическая коррекция этих реакций, обеспечивающая блокаду ключевых звеньев патогенеза хронического и формирования «порочных кругов» рецидивирующего воспаления. Достижение этих целей в значительной мере возможно при применении лекарственного препарата Аминодигидрофталазиндиона натрия (Galavit). Этот препарат ингибирует избыточный синтез гиперактивированными макрофагами цитокинов с провоспалительным действием, а также активных форм кислорода. Помимо этого, препарат потенцирует синтез широкого спектра цитокинов, в том числе интерферонов (ИНФ), ингибирующих жизненный цикл большинства известных вирусов [26].

Высокая терапевтическая активность при герпесвирусной инфекции орофарингеальной области выявлена у противовирусных средств группы ациклических нуклеозидов. Представителем этой группы является препарат Валациклоvir [27]. Попадая в организм, он превращается в ациклоvir, который целенаправленно проникает в пораженные вирусом клетки, где через цепочку химических реакций превращается в активный трифосфат. Трифосфат подавляет активность ДНК-полимеразы и таким образом блокирует репликацию ДНК вируса. Именно в связи с этим валациклоvir с успехом применяется при лечении опоясывающего герпеса [28], форм патологии глаза

и других органов, вызванных вирусом herpes zoster [29], и ряда других форм патологии.

Проблема инфекционно-воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей также требует строгого соблюдения принципов этиотропного и патогенетического лечения. Применение цифрового моделирования и создание цифровых двойников этих форм патологии поможет систематизировать, структурировать и анализировать полученные данные, а с помощью ИИ разрабатывать оптимальную тактику лечения пациентов с хроническим тонзиллофарингитом и субфебрилитетом, ассоциированных с герпесвирусной инфекцией.

Цель настоящей работы – осуществить цифровое моделирование и создать цифрового двойника процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией.

Методика

Исследование проведено с использованием материалов от пациентов в соответствии с Хельсинкской декларацией и выполнялось по международным правилам работы с биоматериалом человека. Все пациенты предоставили письменное информированное согласие перед включением в исследование. На данное исследование получено одобрение локального этического комитета Сеченовского университета (протокол №14-25 от 19.06.2025 г.).

Характеристика пациентов

В основу работы по моделированию и созданию цифрового двойника *пациента* с хроническим тонзиллофарингитом легли результаты обследования и лечения 150 пациентов, обратившихся в клинику ООО «КЛИНИКА ЦЕНТРАЛЬНАЯ» (Москва, Россия) в период с 2018 по 2022 г. Критериями включения были: наличие установленных клинических диагнозов у пациентов согласно Стандартам оказания медицинской помощи населению по профилю «оториноларингология» (приказ Министерства Здравоохранения Российской Федерации № 905н от 12.11.2012 г.): хронический тонзиллофарингит (ХТФ), положительное ПЦР-исследование на предмет выявления герпесвируса 6 типа и/или ВЭБ, а также наличие субфебрильной лихорадки.

Критерии исключения:

- пациенты, не достигшие 18 лет и старше 74 лет;
- пациенты с хроническим тонзиллитом токсико-аллергической формы 2 степени;
- пациенты с ангинами чаще одного раза в три года;
- пациенты с тяжелыми соматическими заболеваниями;

- пациенты, имеющие противопоказания к лечению, проводимому в настоящем исследовании;
- после получения результатов бактериологического исследования, из исследования были исключены пациенты, у которых выявлялся бета-гемолитический стрептококк группы А;
- беременность;
- пациенты, принимающие психотропные препараты;
- а также невозможность или нежелание больного дать добровольное информированное согласие на участие в исследовании или на выполнение требований.

Данные клинического обследования

Диагностические мероприятия проводились в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Пациенты с ХТФ жаловались на субфебрильную температуру и субъективные признаки этого заболевания: боль в горле, першение в горле и увеличение лимфатических узлов в подчелюстной области. С учетом этого определялась степень выраженности указанных симптомов по шкале оценки выраженности признаков соответствующих нозологических форм. Проводилась динамическая оценка температуры тела на 1-е и 14-е сутки от начала лечения для оценки эффективности апробируемого лечения и спустя 6 месяцев после – для выявления частоты рецидивов. При этом, на основании заключений специалистов (терапевт, онколог) исключались другие причины субфебрильной лихорадки.

Анализировали показатели шкал выраженности признаков ХТФ по 3-х балльной шкале, где оценивали выраженность симптомов боли и дискомфорта в горле: 0 баллов – отсутствие признаков, 1 балл – слабые признаки, 2 балла – выраженные признаки, 3 балла – сильно выраженные признаки.

Данные лабораторной диагностики

Идентификация герпесвирусов методом ПЦР в режиме реального времени Real time

Методом PCR-диагностики Real-time у пациентов с ХТФ определяли наличие одного типа герпесвирусной инфекции или их сочетание: герпесвируса 6 типа (HSV-6) и вируса Эпштейна-Барр (EBV) – на 1, 14 сутки исследования и через 6 месяцев после окончания лечения. Соскобы проводились с небных миндалин и с участков наиболее выраженных изменений слизистой оболочки ротоглотки (зоны артериальной и венозной гиперемии, отёка слизистой оболочки ротоглотки,

с гипертрофированных участков лимфоидной ткани глотки – лимфоидных гранул и боковых валиков глотки). Биоматериал хранили в холодильнике при температуре +2...+8°C не более 10–12 часов перед проведением исследования. Исследуемый материал, взятый с помощью одноразовых стерильных зондов, перенесли в пробирку с физиологическим раствором хлорида натрия. Пробирки с биологическим материалом доставляли в молекулярно-биологическую лабораторию. ДНК герпесвирусов различных типов выделяли с помощью набора реагентов «РеалБест» методом ПЦР в режиме реального времени.

Клиническое исследование и лабораторная диагностика соответствовали первому этапу создания цифрового двойника («сбор и интеграция данных»).

Лечебная тактика

Лечение воспалительных форм патологии верхних дыхательных путей проводилось в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи Министерства здравоохранения Российской Федерации. При выполнении ПЦР-диагностики Real time пациентам проводился персонализированный подбор противовирусного лечения.

В исследование включено 150 пациентов, которые были разделены на 3 группы в зависимости от схемы лечения: Первую группу (А) составили 50 больных (33, 33%), лечившихся валацикловиром.

Вторую группу (В) - 48 (32%) пациентов, получавших аминодигидрофталазиндиона натрия.

В третью группу (С) включены 52 (34,67%) больных, при лечении которых применялась комбинация лекарственных средств: валацикловир и аминодигидрофталазиндион натрия.

Лечение проводилось в течение 10 суток. Всем пациентам проводили промывание лакун небных миндалин растворами антисептиков.

Статистический анализ полученных данных

Для выполнения статистического анализа использовали непараметрические методы: для сравнения двух независимых выборок – U-критерий Манна-Уитни, для оценки корреляционной взаимосвязи вычислялся коэффициент корреляции Спирмена, для оценки степени корреляционной взаимосвязи применяли шкалу Чеддока [30]. Для анализа таблиц сопряженности использовали критерий χ^2 и критерий Макнемара (для зависимых наблюдений).

Работа по статистическому анализу данных соответствует второму и третьему этапам создания цифрового двойника – построению статистической модели на основе реальных данных.

Этапы цифрового моделирования и создания цифрового двойника процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией

Суть этого этапа заключается в определении цели и постановке задач моделирования. На этом этапе формулируются ключевые вопросы, на которые помогут ответить результаты моделирования: уточнение диагноза, прогноз возможных осложнений, разработка индивидуального лечения и его дальнейшая оптимизация.

Далее следует построение концептуальной модели, включающей описание ее основных компонентов: анатомических, физиологических, иммунологических, вирусологических и их параметров. При этом учитываются взаимодействия между хроническим тонзиллофарингитом, субфебрилитетом и герпесвирусной инфекцией.

На этапе сбора и интеграции данных происходит накопление клинической информации и лабораторных показателей о пациенте. Затем осуществляется математическая формализация – перевод концептуальной модели в систему математических уравнений, алгоритмов и логических правил. На основе этих алгоритмов выполняется реализация модели с помощью цифровых вычислительных средств. Следующим шагом является проведение экспериментов: в цифровой модели симулируются различные клинические сценарии – изменение схемы лечения, развитие осложнений, реакция на проводимую терапию. Результаты анализируются и визуализируются для удобства клинической интерпретации. После этого проводится валидация и интерпретация данных моделирования – сравнение её прогнозов с реальными клиническими данными пациента. При необходимости модель корректируется для повышения ее адекватности и достоверности.

На заключительном этапе происходит применение цифрового двойника: он используется для более точной диагностики, персонализированного планирования лечения, прогнозирования развития заболевания, а также для виртуального тестирования новых схем применения лекарственных препаратов и лечебных процедур без риска для пациента (рис. 1).

Результаты исследования

Выявление вируса Эпштейна-Барр (Epstein Barr virus, EBV)

Данные о наличии вируса Эпштейна-Барр у пациентов на 1, 14 сутки исследования и через 6 месяцев после окончания лечения приведены в **таблице 1**.

Таблица 1 / Table 1

Данные о наличии вируса Эпштейна-Барр
Evidence of Epstein-Barr virus presence

Группа Group	EBV	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
A	+	44	23	9
	-	6	27	41
B	+	46	20	12
	-	2	28	36
C	+	48	11	1
	-	4	41	51

Следует отметить, что при инфицировании вирусом Эпштейна-Барр рецидивов не наблюдалось то есть, ни у одного из пациентов, у которых вирус Эпштейна-Барр отсутствовал изначально или в процессе лечения, данный вирус не был обнаружен в последующих точках наблюдения.

В **таблице 2** приведены p-value теста Макнемара для анализа данных о наличии вируса Эпштейна-Барр при сравнении точек наблюдения «на 1 сутки – на 14 суток», «на 14 суток – через 6 месяцев» и «на 1 сутки – через 6 месяцев». Поскольку рассматривается 3 сравнения, исходный уровень значимости уменьшен втрое и составил 0,017.

Таким образом, в каждой группе и на каждом сроке сравнения уменьшение доли пациентов, у которых обнаружен вирус Эпштейна-Барр, является значимым.

Данные о наличии вируса Эпштейна-Барр с группировкой пациентов по времени наблюдения приведены на рисунке 2, а с группировкой по используемой тактике лечения – на **рис. 3**.

Таблица 2 / Table 2

Результаты теста Макнемара для вируса Эпштейна-Барр
McNemar test results for Epstein-Barr virus

Группа Group	На 1 сутки – на 14 суток In 1 day – In 14 days	На 14 суток – через 6 месяцев In 14 days – In 6 months	На 1 сутки – через 6 месяцев In 1 day – In 6 months
A	<0,001	<0,001	<0,001
B	<0,001	0,008	<0,001
C	<0,001	0,002	<0,001

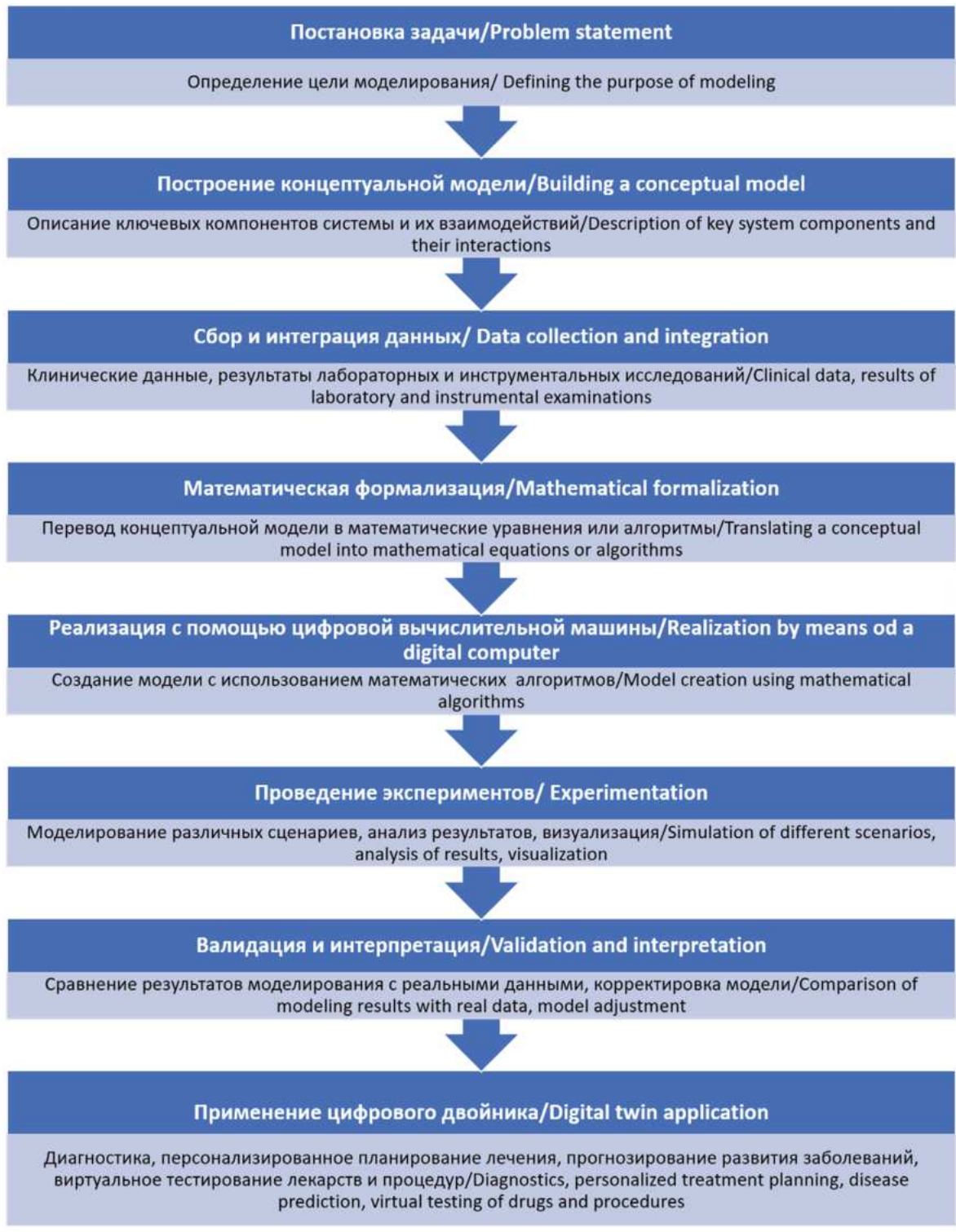


Рис. 1. Основные этапы цифрового моделирования и создания цифрового двойника формы патологии.

Fig. 1. Main stages of digital modeling and creation of a digital twin of the pathology form.



Рис. 2. Данные о наличии вируса Эпштейна-Барр с группировкой пациентов по времени наблюдения.

Fig. 2. Data on Epstein-Barr virus presence with grouping of patients by observation time.

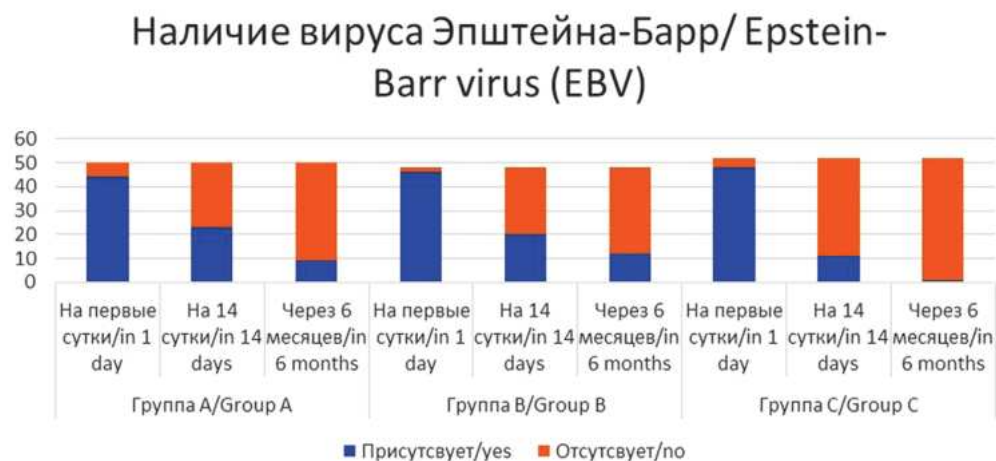


Рис. 3. Данные о наличии вируса Эпштейна-Барр с группировкой по используемой тактике лечения.

Fig. 3. Data on Epstein-Barr virus presence with grouping of patients by treatment tactics used.

Для примера проанализируем временную точку «на 14 сутки». Рассмотрим данные тех пациентов, у которых на 1 сутки был выявлен вирус Эпштейна-Барр. Тогда во временной точке «на 14 сутки» состояние пациента может улучшиться (т.е., вирус не будет выявлен) или остаться без изменений (т.е., вирус по-прежнему будет выявляться). С учётом этих допущений сравним эффективность трёх тактик лечения с помощью критерия χ^2 . P-value, полученное в результате применения критерия χ^2 , составляет 0,011, что меньше используемого уровня значимости α (0,05). Это позволяет утверждать наличие статистически значимых различий в доле пациентов, у которых был обнаружен вирус EBV во временной точ-

ке «на 14 сутки». Наибольшее сокращение наблюдается в группе C, затем следуют группы В и А (рис. 2).

Анализ наличия герпес-вируса человека 6 типа (Human herpesvirus 6, HHV-6)

Данные о наличии герпес-вируса человека 6 типа на 1, 14 сутки исследования и через 6 месяцев после окончания лечения приведены в таблице 3.

По наличию герпес-вируса человека 6 типа наблюдались отдельные случаи нового обнаружения вируса. Так, в группе А между точками наблюдения «на 14-е сутки» и «через 6 месяцев» вирус герпеса человека 6 типа был выявлен у 2 пациентов, у которых ранее он не обнаружи-

Таблица 3 / Table 3

Данные о наличии герпес-вируса человека 6 типа
Evidence of Human herpesvirus 6 presence

Группа Group	HHV-6	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
А	+	29	18	10
	-	21	32	40
В	+	36	25	24
	-	12	23	24
С	+	22	9	14
	-	30	43	38

Таблица 4 / Table 4

Результаты теста Макнемара для герпес-вируса человека 6 типа
McNemar test results for Human herpesvirus 6

Группа	На 1 сутки – на 14 суток In 1 day – In 14 days	На 14 суток – через 6 месяцев In 14 days – In 6 months	На 1 сутки – через 6 месяцев In 1 day – In 6 months
А	<0,001	0,039	<0,001
В	<0,001	1,000	0,002
С	<0,001	0,125	0,133

вался. В группе В между точками наблюдения «на 14-е сутки» и «через 6 месяцев» вирус был выявлен у 1 пациента. В группе С между точками наблюдения «на 1-е сутки» и на «14-е сутки» вирус появился у 1 пациента, а между точками наблюдения «на 14-е сутки» и «через 6 месяцев» – дополнительно ещё у 6 пациентов.

В **таблице 4** приведены p-value теста Макнемара для анализа данных о наличии вирус герпеса человека при сравнении точек наблюдения «на 1 сутки – на 14 сутки», «на 14-е сутки – через 6 месяцев» и «на 1-е сутки – через 6 месяцев». Поскольку рассматривается 3 сравнения, исходный уровень значимости уменьшен втрое и составил 0,017.

При сравнении точек наблюдения «на 1-е сутки – на 14-е сутки» наблюдается статистически значимое уменьшение доли пациентов, у которых обнаружен герпес-вирус человека 6 типа. При сравнении точек наблюдения «на 14-е сутки – через 6 месяцев» ни в одной из групп не наблюдается статистически значимого изменения доли пациентов, у которых выявлен герпес-вирус человека 6 типа. При сравнении точек наблюдения «на 1-е сутки – через 6 месяцев» статистически значимое уменьше-

ние доли пациентов с герпес-вирусом человека 6 типа наблюдается только в группах А и В.

Данные о наличии герпес-вируса человека 6 типа с группировкой по времени наблюдения приведены на **рис. 4**, а с группировкой по используемой тактике лечения – на **рис. 5**.

По аналогии с вирусом Эпштейна-Барр дополнительно проанализируем временную точку «на 14-е сутки» для герпес-вируса человека 6 типа. Будем рассматривать только тех пациентов, у которых на 1-е сутки был выявлен герпес-вирус человека 6 типа. Тогда во временной точке «на 14-е сутки» состояние пациента может улучшиться (т.е., HHV-6 не будет выявлен) или остаться без изменений (т.е., вирус HHV-6 по-прежнему будет выявляться). С учётом этих допущений сравним эффективность трёх тактик лечения с помощью критерия χ^2 . P-value, полученное в результате применения критерия χ^2 , составляет 0,041, что незначительно, но тем не менее меньше используемого уровня значимости α (0,05). Это позволяет утверждать наличие статистически значимых различий в доле пациентов, у которых был обнаружен вирус HHV-6 во временной точке «на 14-е сут-

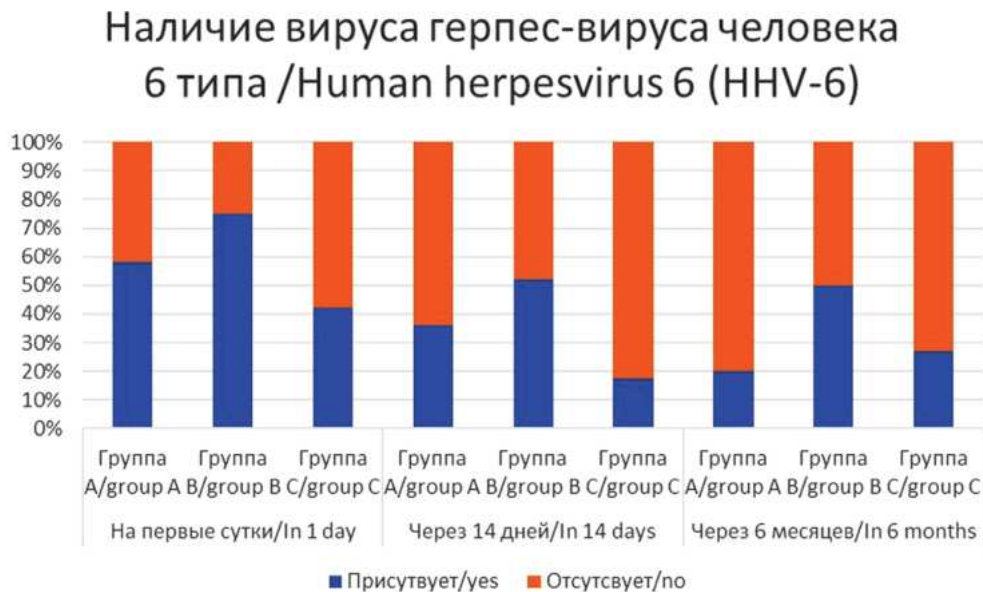


Рис. 4. Данные о наличии герпесвируса человека 6 типа с группировкой пациентов по времени наблюдения.

Fig. 4. Data on HHV-6 presence with grouping of patients by observation time.

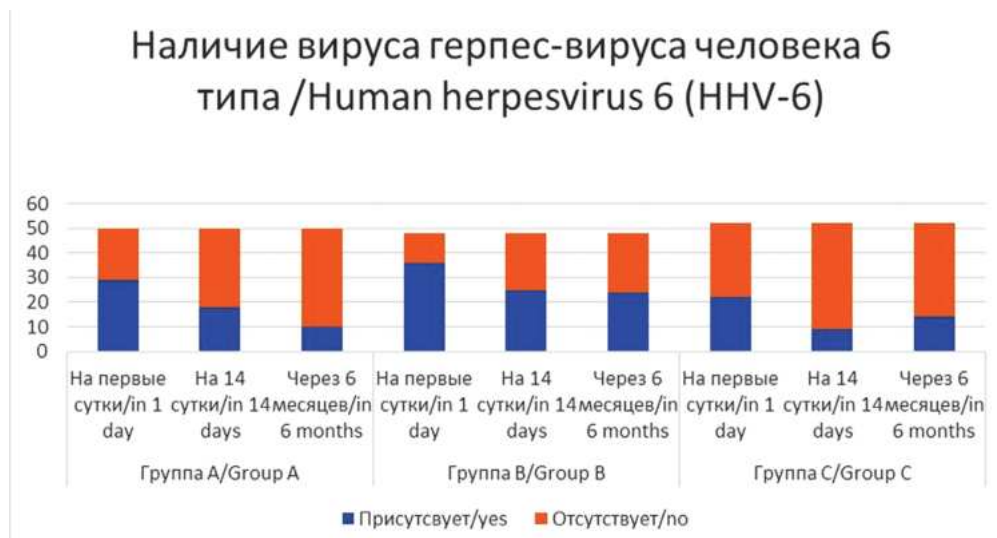


Рис. 5. Данные о наличии герпес-вируса человека 6 типа с группировкой пациентов по используемой тактике лечения.

Fig. 5. Data on HHV-6 presence with grouping of patients by treatment tactics used.

ки». Наибольшее сокращение выявляемости наблюдается в группе С, затем следуют группы А и В (рис. 4).

Анализ изменения температуры тела и её связи с наличием вирусов EBV и HHV-6

Для анализа связи температуры тела с наличием вирусов EBV и HHV-6 вычислен коэффициент корреляции Спирмена и r -value коэффициента корреляции.

Для всех значений (на 1-е сутки, на 14-е сутки и через 6 месяцев) r -value коэффициента корреляции Спирмена температуры тела и наличия вируса EBV превышает 0,05, что позволяет считать вычисленные значения коэффициента корреляции незначимыми (табл. 5).

Дополнительно нами выполнено сравнение температуры тела в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса EBV на 1-е сутки, на 14-е сутки и через 6 ме-

Таблица 5 / Table 5

Коэффициент корреляции Спирмена для температуры и наличия вируса EBV
Spearman's rank correlation coefficient for temperature and EBV presence

Температура и вирус EBV Temperature and EBV virus presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
Значение коэффициента корреляции Correlation coefficient	0,121	0,092	0,135
p-value коэффициента корреляции p-value of correlation coefficient	0,140	0,261	0,098
Значимость коэффициента корреляции Significance of correlation coefficient	не значим irrelevant	не значим irrelevant	не значим irrelevant

Таблица 6 / Table 6

Результаты U-критерия Манна – Уитни для сравнения температуры тела в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса EBV

Mann – Whitney U test results for temperature comparison in groups of patients with and without EBV

Температура и вирус EBV Temperature and EBV virus presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
p-value U-критерия Манна – Уитни p-value of Mann – Whitney U test	0,140	0,260	0,099
Различия между группами Differences between groups	нет no	нет no	нет no

сцев с помощью U-критерия Манна – Уитни. Результаты представлены в **таблице 6**.

Для значений на 14-е сутки и через 6 месяцев p-value коэффициента корреляции Спирмена температуры тела и наличия вируса HHV-6 меньше 0,05, что позволяет считать указанные значения коэффициента корреляции значимыми (**табл. 7**).

Для примера дополнительно выполним сравнение температуры тела в группах пациентов с наличием и от-

сутствием вируса HHV-6 на 1-е сутки, на 14-е сутки и через 6 месяцев с помощью U-критерия Манна – Уитни. Результаты представлены в **таблице 8**.

Анализ температуры тела и её связи с состоянием пациентов

Для анализа связи температуры тела с состоянием пациентов по шкале оценки выраженности признаков вычислен коэффициент корреляции Спирмена и p-value ко-

Таблица 7 / Table 7

Коэффициент корреляции Спирмена для температуры тела и наличия вируса HHV-6
Spearman's rank correlation coefficient for temperature and HHV-6 presence

Температура и вирус HHV-6 Temperature and HHV-6 presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
Значение коэффициента корреляции Correlation coefficient	0,127	0,170	0,411
p-value коэффициента корреляции p-value of correlation coefficient	0,121	0,037	<0,001
Значимость коэффициента корреляции Significance of correlation coefficient	не значим irrelevant	значим relevant	значим relevant
Степень корреляции по шкале Чеддока The Cheddock scale criteria	--	слабая weak	умеренная moderate

Таблица 8 / Table 8

Результаты U-критерия Манна – Уитни для сравнения температуры тела в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса HHV-6

Mann – Whitney U test results for temperature comparison in groups of patients with and without HHV-6

Температура и вирус HHV-6 Temperature and HHV-6 presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
p-value U-критерия Манна – Уитни p-value of Mann – Whitney U test	0,121	0,038	<0,001
Различия между группами Differences between groups	нет/no	есть/yes	есть/yes

Таблица 9 / Table 9

Коэффициент корреляции Спирмена для температуры тела и значения по шкале оценки выраженности признаков

Spearman's rank correlation coefficient for temperature and tonsillopharyngitis severity score

Температура тела и значение по шкале оценки выраженности признаков Temperature and tonsillopharyngitis severity score	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
Значение коэффициента корреляции Correlation coefficient	0,312	0,530	0,502
p-value коэффициента корреляции p-value of correlation coefficient	<0,001	<0,001	<0,001
Значимость коэффициента корреляции Significance of correlation coefficient	значим relevant	значим relevant	значим relevant
Степень корреляции по шкале Чеддока The Cheddock scale criteria	умеренная moderate	значительная strong	значительная strong

коэффициента корреляции. Результаты представлены в **таблице 9**.

Для всех значений (на 1-е сутки, на 14-е сутки и через 6 месяцев) p-value коэффициента корреляции Спирмена температуры тела и шкалы оценки выраженности признаков меньше 0,05, что позволяет считать вычисленные значения коэффициента корреляции значимыми.

Анализ состояния выраженности симптомов пациентов и его связи с наличием вирусов EBV и HHV-6

Для анализа связи состояния пациентов по шкале оценки выраженности признаков заболевания и наличия вируса EBV вычислен коэффициент корреляции Спирмена и p-value коэффициента корреляции. Результаты представлены в **таблице 10**.

Для значений на 14-е сутки и через 6 месяцев p-value коэффициента корреляции Спирмена значения между оценкой выраженности признаков заболевания и наличием вируса EBV меньше 0,05, что позволяет считать эти значения коэффициента корреляции значимыми.

Дополнительно нами выполнено сравнение оценки выраженности признаков заболевания в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса EBV на 1-е сутки, на 14-е сутки и через 6 месяцев с помощью U-критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в **таблице 11**.

Для анализа связи общего состояния пациентов по шкале оценки выраженности признаков и наличия вируса HHV-6 вычислены коэффициент корреляции Спирмена и p-value коэффициента корреляции. Результаты представлены в **таблице 12**.

Для значений на 14-е сутки и через 6 месяцев p-value коэффициента корреляции Спирмена (значения по шкале

Таблица 10 / Table 10

Коэффициент корреляции Спирмена для значения по шкале оценки выраженности признаков заболевания и наличия вируса EBV

Spearman's rank correlation coefficient for tonsillopharyngitis severity score and EBV presence

Значение по шкале оценки выраженности признаков и вирус EBV Tonsillopharyngitis severity score and EBV presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
Значение коэффициента корреляции Correlation coefficient	0,000	0,217	0,392
p-value коэффициента корреляции p-value of correlation coefficient	0,994	0,008	<0,001
Значимость коэффициента корреляции Significance of correlation coefficient	не значим irrelevant	значим relevant	значим relevant
Степень корреляции по шкале Чеддока The Cheddock scale criteria	--	слабая weak	умеренная moderate

Таблица 11 / Table 11

Результаты U-критерия Манна – Уитни для сравнения значения по шкале оценки выраженности признаков заболевания в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса EBV

Mann – Whitney U test results for tonsillopharyngitis severity score comparison in groups of patients with and without EBV

Значения по шкале оценки выраженности признаков и вирус EBV Tonsillopharyngitis severity score and EBV presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
p-value U-критерия Манна – Уитни p-value of Mann – Whitney U test	0,997	0,008	<0,001
Различия между группами Differences between groups	нет/по	есть/yes	есть/yes

Таблица 12 / Table 12

Коэффициент корреляции Спирмена для значения по шкале оценки выраженности признаков и наличия вируса HHV-6

Spearman's rank correlation coefficient for tonsillopharyngitis severity score and HHV-6 presence

Значение по шкале оценки выраженности признаков и вирус HHV-6 Tonsillopharyngitis severity score and HHV-6 presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев In 6 months
Значение коэффициента корреляции Correlation coefficient	0,082	0,299	0,376
p-value коэффициента корреляции p-value of correlation coefficient	0,318	<0,001	<0,001
Значимость коэффициента корреляции Significance of correlation coefficient	не значим irrelevant	значим relevant	значим relevant
Степень корреляции по шкале Чеддока The Cheddock scale criteria	--	слабая weak	умеренная moderate

Таблица 13 / Table 13

Результаты U-критерия Манна – Уитни для сравнения значения по шкале оценки выраженности признаков заболевания в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса HHV-6

Mann – Whitney U test results for tonsillopharyngitis severity score comparison in groups of patients with and without HHV-6

Значения по шкале оценки выраженности признаков и вирус EBV Tonsillopharyngitis severity score and HHV-6 presence	На 1 сутки In 1 day	На 14 суток In 14 days	Через 6 месяцев
p-value U-критерия Манна – Уитни p-value of Mann – Whitney U test	0,318	<0,001	<0,001
Различия между группами Differences between groups	нет	есть	есть

оценки выраженности признаков заболевания и наличия вируса HHV-6) меньше 0,05, что позволяет считать указанные значения коэффициента корреляции значимыми.

Дополнительно нами выполнено сравнение значения по шкале оценки выраженности признаков заболевания в группах пациентов с наличием и отсутствием вируса HHV-6 на 1-е сутки, на 14-е сутки и через 6 месяцев с помощью U-критерия Манна – Уитни. Результаты представлены в **таблице 13**.

Обсуждение

В ходе работы нами исследована:

- корреляционная взаимосвязь переменных, характеризующих состояние пациента: температуры тела, значения по шкале оценки выраженности признаков заболевания, наличия (или отсутствия) у пациента вируса EBV или вируса HHV-6;
- корреляция между температурой тела и значением по шкале оценки выраженности признаков заболевания присутствует во всех трёх точках наблюдения (на 1-е сутки, на 14-е сутки, через 6 месяцев) и изменяется от «умеренной» до «значительной», что позволяет говорить о наличии статистической взаимосвязи между повышенной температурой тела и симптомами боли и дискомфорта в горле;
- корреляция между температурой тела и наличием вируса EBV не значима во всех трёх точках наблюдения;
- корреляция между температурой тела и наличием вируса HHV-6 значима в точках наблюдения

«на 14-е сутки» и «через 6 месяцев» и изменяется от «слабой» до «умеренной»;

- корреляция между значением по шкале оценки выраженности признаков заболевания и наличием вируса EBV значима в точках наблюдения «на 14 сутки» и «через 6 месяцев» и изменяется от «слабой» до «умеренной»;
- корреляция между значением по шкале оценки выраженности признаков заболевания и наличием вируса HHV-6 значима в точках наблюдения «на 14-е сутки» и «через 6 месяцев» и также изменяется от «слабой» до «умеренной».

Важно заметить, что наличие вирусов EBV и HHV-6 начинает оказывать заметное влияние на температуру тела и значение по шкале оценки выраженности признаков заболевания со второй точки наблюдения («на 14-е сутки» и «через 6 месяцев»).

В каждой группе и для каждого сравнения (для каждой пары из трёх рассматриваемых временных точек) уменьшение доли пациентов, у которых обнаружен вирус Эпштейна-Барр, является значимым.

Для герпес-вируса человека 6 типа ситуация иная: статистически значимое уменьшение доли пациентов, у которых обнаружен вирус, наблюдается только при сравнении точек наблюдения «на 1 сутки – на 14 сутки». Это может свидетельствовать о менее стойком характере ремиссии по сравнению с вирусом Эпштейна-Барр. Кроме того, выявлены 7 пациентов, у которых в точке наблюдения «через 6 месяцев» вирус обнаружен впервые (а не в точке наблюдения «на 1 сутки»).

В 1-е сутки корреляция между температурой и наличием вирусов EBV и HHV-6, а также между значением по шкале оценки выраженности симптомов заболевания и наличием вирусов EBV и HHV-6 отсутствует, следовательно, проведение исследований для определения наличия указанных вирусов можно считать обязательным для всех пациентов. В последующие точки наблюдения связь уже присутствует, что потенциально может рассматриваться как возможность для принятия решения о необходимости проведения лабораторных исследований на основе измерения температуры тела пациента и анализа оценки выраженности симптомов заболевания. Это может сократить затраты на проведение анализов и, в конечном итоге, повысить экономическую эффективность системы здравоохранения.

Подавление вируса EBV характеризуется устойчивостью – эффект, достигнутый после 10-дневного курса лечения и зафиксированный на 14-е сутки, сохраняется и на временной отметке «через 6 месяцев». Напротив, наличие или отсутствие вируса HHV-6 является более динамичным, и эффект, зафиксированный на 14-е сутки, не сохраняется через 6 месяцев. Это может рассматриваться как предпосылка к рекомендации более раннего обращения к врачу, чем через 6 месяцев, особенно при наличии субфебрильной температуры и выраженных симптомов хронического тонзиллофарингита.

Любая из трёх рассмотренных тактик лечения приводит к улучшению состояния пациентов и уменьшению их доли с выявлением вируса EBV или HHV-6 на временной отметке «на 14-е сутки». Однако доля больных с вирусом EBV существенно снижается в группах С и В, а с вирусом HHV-6 – в группах С и А. Это свидетельствует о наибольшей эффективности тактики лечения, применённой в группе С (сочетанное лечение валацикловиrom и аминодигидрофталазиндионом натрия). Вместе с тем, можно предположить, что аминодигидрофталазиндион натрия оказывается эффективнее против вируса HHV-6, а валацикловир – против вируса EBV. Следовательно, наличие соответствующих вирусов может рассматриваться как предпосылка к выбору соответствующего лекарственного средства или их комбинации.

Проведено моделирование и создан цифровой двойник процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией.

На первом этапе была сформулирована цель исследования – осуществить цифровое моделирование и создать цифрового двойника процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией. На втором этапе

описаны компоненты системы: герпесвирусная инфекция и организм человека, эффекты влияния различных герпесвирусов на процесс формирования клинической картины хронического тонзиллофарингита и явления субфебрилитета. На третьем этапе получены результаты клинического исследования: результаты динамической оценки температуры тела на 1-е и 14-е сутки от начала и спустя 6 месяцев после лечения, результаты идентификации герпесвирусов методом ПЦР в режиме реального времени Real-time на 1-е, 14-е сутки исследования и через 6 месяцев после окончания лечения, показатели клинической картины по шкале оценки выраженности признаков хронического тонзиллофарингита. Затем проведен перевод концептуальной модели в математические уравнения и алгоритмы с помощью U-критерия Манна–Уитни, коэффициента корреляции Спирмена, шкалы Чеддока, критерия χ^2 и критерия Макнемара.

С помощью данных математических алгоритмов создан цифровой двойник процесса хронического тонзиллофарингита. На нем проводилось экспериментальное моделирование процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированный с герпесвирусной инфекцией: наличие признаков хронического тонзиллофарингита, субфебрилитет, положительное ПЦР-исследование на герпесвирусы. Полученные результаты были проанализированы и сравнивались с реальными данными (полученными у пациентов). В случае возникновения расхождений вносились корректировки в цифровой двойник. С учетом результатов проведенных исследований цифровой двойник используется нами в процессе диагностики, планирования стратегии персонализированного лечения, прогнозирования развития хронического тонзиллофарингита, виртуального тестирования схем лечения.

Выводы

Данные, полученные в настоящем исследовании в ходе обследования пациентов и диагностики заболевания, применение методики цифрового моделирования и создание цифрового двойника процесса хронического тонзиллофарингита с субфебрилитетом, ассоциированных с герпесвирусной инфекцией, позволяют разработать оптимальную стратегию лечения пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей, а также выработать наиболее целесообразную (в том числе – экономически) тактику последующего ведения таких пациентов. Использование разработанной тактики лечения соответствует четвёртому этапу создания цифрового двойника («применение»).

Литература

(п.п. 1–5; 7–9; 13; 17–25; 27–29 см. References)

6. Зуенкова Ю.А. Опыт и перспективы применения цифровых двойников в общественном здравоохранении. *Менеджер здравоохранения*. 2022; (6): 69–77. <https://doi.org/10.21045/1811-0185-2022-6-69-77>
10. Куракова Н.Г., Цветкова Л.А., Полякова Ю.В. Цифровые двойники в хирургии: достижения и ограничения. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2022; (5): 97–110. <https://doi.org/10.17116/hirurgia202205197>
11. Лазарев А.В., Калининская А.А. Цифровое здравоохранение и цифровые двойники как его составляющие (систематический обзор). *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2024; 32(3): 318–24. <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2024-32-3-318-324>
12. Еремин С.А., Рязанцев С.В., Ситников С.И., Высоцкая С.С. Базисная терапия при вирусных заболеваниях верхних дыхательных путей. *Медицинский Совет*. 2023; (7): 188–95. <https://doi.org/10.21518/ms2022-052>
14. Янов Ю.К., Мальцева Г.С., Дроздова М.В., Захарова Г.П., Гринчук О.Н. Выбор лечебной тактики у больных хроническим тонзиллитом стрептококковой этиологии и длительным субфебрилитетом. *Вестник оториноларингологии*. 2019; 84(1): 64–7. <https://doi.org/10.17116/otorino20198401164>
15. Крюков А.И., Товмасын А.С., Антонова Н.А., Драбкина И.В., Лясникова О.Е., Куделина М.А., Жуховицкий В.Г. *Вестник оториноларингологии*. 2008; 3: 35–38.
16. В.Т. Пальчун, Л.А. Лучихин, А.И. Крюков. Воспалительные заболевания глотки. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
26. Попова И.А. Галавит®: современный взгляд на терапию инфекционно-воспалительных заболеваний дыхательных путей. *Фармакология & Фармакотерапия*. 2020; 1: 26–33. https://doi.org/10.46393/2713-2129_2020_1_26
30. Орлов А.А., Орлов А.И. Коэффициенты корреляции: шкала Чеддока и значимость. *Контролинг*. 2024; 4(94): 28–37.

References

1. Grieves M. Origins of the Digital Twin Concept. 2016. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26367.61609>
2. Grieves M., Vickers J. Digital Twin: Mitigating Unpredictable, Undesirable Emergent Behavior in Complex Systems. *Transdisciplinary Perspectives on Complex Systems: New Findings and Approaches*. Cham, Switzerland: 2017. https://doi.org/10.1007/978-3-319-38756-7_4
3. Tao F., Qi Q., Liu A., Kusiak A. Digital Twins and Cyber-Physical Systems toward Smart Manufacturing and Industry 4.0: Correlation and Comparison. *Engineering*. 2019;5 (4): 653–61. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.01.014>
4. Kritzing W., Karner M., Traar G., Henjes J., Sihn W. Digital Twin in manufacturing: A categorical literature review and classification. *IF-AC-PapersOnLine*. 2018; 51(11): 1016–22. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2018.08.474>
5. Ivanov D., Dolgui A., Sokolov B., Ivanova M., Werner F., Scholl A. A digital supply chain twin for managing the disruption risks and resilience in the era of Industry 4.0. *Production Planning & Control*. 2020;32 (9): 775–88. <https://doi.org/10.1080/09537287.2020.1768450>
6. Zuenkova Yu.A. Experience and prospects of digital twins application in public healthcare. *Manager Zdravoohranenia*. 2022; 6: 69–77. <https://doi.org/10.21045/1811-0185-2022-6-69-77> (In Russian)
7. Glaessgen E.d., Stargel D. The Digital Twin Paradigm for Future NASA and U.S. Air Force Vehicles. *53rd Structures, Structural Dynamics, and Materials Conference: Special Session on the Digital Twin*. 2012. <https://doi.org/10.2514/6.2012-1818>
8. Corral-Acero J. et al. The ‘Digital Twin’ to enable the vision of precision cardiology. *European heart journal*. 2020; 41(48): 4556–64. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa159>
9. Wise H.C., Solit D.B. Precision oncology: three small steps forward. *Cancer Cell*. 2019; 35(6): 825–6. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.05.009>
10. Kurakova N.G., Tsvetkova L.A., Polyakova Yu.V. Digital twins in surgery: achievements and limitations. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2022; (5): 97–110. <https://doi.org/10.17116/hirurgia202205197> (In Russian)
11. Lazarev A.V., Kalininskaya A.A. The digital health care and digital twin twins as its components: The systematic review. *Problems of social hygiene, public health and history of medicine*. 2024; 32(3): 318–324. <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2024-32-3-318-324> (In Russian)
12. Eremim S.A., Ryazantsev S.V., Sitnikov S.I., Vysockaya S.S. Basic therapy for viral diseases of the upper respiratory tract. *Meditinskij sovet = Medical Council*. 2023; (7): 188–95. <https://doi.org/10.21518/ms2022-052> (In Russian)
13. Carapetis J.R., Steer A.C., Mulholland E.K., Weber M. The global burden of group A streptococcal diseases. *The Lancet Infectious Diseases*. 2005; 5(11): 685–94. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70267-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70267-X)
14. Yanov Yu.K., Maltseva G.S., Drozdova M.V., Zakharova G.P., Grinchuk O.N. The choice of the treatment strategy for the patients presenting with chronic tonsillitis of streptococcal etiology and subfebrility of long duration. *Russian Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2019; 84(1): 64–7. <https://doi.org/10.17116/otorino20198401164> (In Russian)
15. Kryukov A.I., Tovmasyan A.S., Antonova N.A., Drabkina I.V., Lyasnikova O.E., Kudelina M.A., Zhukhovitsky V.G. The role of bacteriological examination in diagnosis of chronic tonsillitis. *Russian Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2008; 3: 35–8. (In Russian)
16. Palchun V.T., Luchikhin L.A., Kryukov A.I. Inflammatory diseases of the pharynx. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. (In Russian)
17. Dogan B. et al. The correlation between EBV viral load in the palatine tonsils of patients with recurrent tonsillitis and concurrent serum titers of VCA – IgG. *European archives of otorhinolaryngology*. 2010; 267: 143–8. <https://doi.org/10.1007/s00405-009-0988-6>

18. Berkhout A., Georghiou P.R., Nourse C. Pharyngotonsillitis in adolescents: Remember herpes simplex virus. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2022; 58(6): 1081–2. <https://doi.org/10.1111/jpc.15752>
19. Huang C.W. et al. Clinical features of gingivostomatitis due to primary infection of herpes simplex virus in children. *BMC Infectious Diseases*. 2020; 20: 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05509-2>
20. Bennett J.M., Glaser R., Malarkey W.B., Beversdorf D.Q., Peng J., Kiecolt-Glaser J.K. Inflammation and reactivation of latent herpesviruses in older adults. *Brain Behav Immun*. 2012; 26(5): 739–46. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.11.007>
21. Bertram G., Dreiner N., Krueger G.R., Ramon A., Ablashi D.V., Salahuddin S.Z., et al. Frequent double infection with Epstein-Barr virus and human herpesvirus-6 in patients with acute infectious mononucleosis. *In Vivo*. 1991; 5(3): 271–9.
22. De Bolle L., Naesens L., De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(1): 217–45. <https://doi.org/10.1128/cmr.18.1.217-245.2005>
23. Hu J., Li Y., Li H., Shi F., Xie L., Zhao L. et al. Targeting Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1-mediated high oxidative stress suppresses EBV lytic reactivation and sensitizes tumors to radiation therapy. *Theranostics*. 2020; 10(26): 11921–37. <https://www.thno.org/v10p11921.htm>
24. Shetty A.K., Attaluri S., Kodali M., Shuai B., Shetty G.A., Upadhyaya D. et al. Monosodium luminol reinstates redox homeostasis, improves cognition, mood and neurogenesis, and alleviates neuro- and systemic inflammation in a model of Gulf War Illness. *Redox biology*. 2020; 28: 101389. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101389>
25. Di Stefano A., Maniscalco M., Balbi B., Ricciardolo F.L. (2020). Oxidative and nitrosative stress in the pathogenesis of obstructive lung diseases of increasing severity. *Current Medicinal Chemistry*. 2020; 27(42): 7149–58. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200604165451>
26. Popova I.A. Galavit®: a modern look at the treatment of infectious and inflammatory diseases of the respiratory tract. *Pharmacology & Pharmacotherapy*. 2020; 1: 26–33. https://doi.org/10.46393/2713-2129_2020_1_26 (In Russian)
27. Bist A., Savitha A., Gumma K.M. Efficacy of valacyclovir and famciclovir in herpes zoster: A comparative study. *Indian Journal of Pharmacology*. 2020; 52(6): 472–5. https://doi.org/10.4103/ijp.IJP_555_18
28. Beutner K.R., Friedman D.J., Forszpaniak C., Andersen P.L., Wood M.J. Valaciclovir compared with acyclovir for improved therapy for herpes zoster in immunocompetent adults. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995; 39(7): 1546–53. <https://doi.org/10.1128/aac.39.7.1546>
29. Colin J., Prisant O., Cochener B., Lescale O., Rolland B., Hoang-Xuan T. Comparison of the efficacy and safety of valaciclovir and acyclovir for the treatment of herpes zoster ophthalmicus. *Ophthalmology*. 2000; 107(8): 1507–11. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(00\)00222-0](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(00)00222-0)
30. Orlov A.A., Orlov A.I. Correlation coefficients: the Cheddock scale and significance. *Controlling*. 2024; 4(94): 28–37.

Сведения об авторах:

Попова Инга Александровна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: popova_i_a_2@staff.sechenov.ru

Литвицкий Петр Францевич, член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, проф. каф. патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: litvitskiy_p_f@staff.sechenov.ru

Вуколова Марина Николаевна, канд. биол. наук, доцент каф. патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: vukolova_m_n@staff.sechenov.ru

Мальцева Лариса Дмитриевна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: maltseva_l_d@staff.sechenov.ru

Бойко Андрей Алексеевич, ст. преп. каф., ст. куратор каф. биомедицинские технические системы МГТУ им. Н.Э. Баумана, e-mail: boiko_andrew@mail.ru

Аполлонова Ирина Анатольевна, канд. техн. наук, доцент каф., зам. зав. каф. по учебной работе биомедицинские технические системы МГТУ им. Н.Э. Баумана, e-mail: apollonova-i@yandex.ru

Силаева Александра Сергеевна, студентка 5 курса ИКМ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: sil.sleep@mail.ru

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092; 57.052; 577.15

Золотов Н.Н., Щипкова Е.С., Алексеева Е.В., Филиппов А.Г., Морозов С.Г.

Изменения уровня кортикостерона и активностей ферментов метаболизма либерина тиреотропного гормона у крыс при холодовом плавательном стрессе

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

Введение. Холод, являясь одним из самых сильных стрессовых воздействий, активирует симпатоадреналовую систему, увеличивая высвобождение гипофизом тиреотропного гормона, уровень которого регулируется его гипоталамическим релизинг-фактором (TRH). Глюкокортикоиды влияют на содержание в мозге TRH, уровень которого в гипоталамусе изменяется после кратковременного воздействия холода, а затем возвращается к исходным значениям, указывая на активацию в клетках коры надпочечников транскрипции нейrogормонов, участвующих в регуляции тиреотропной оси. При этом возможны и изменения активности ферментов его метаболизма. Цель исследования – изучение влияния холодового плавательного стресса у крыс на активности пироглутамилпептидазы I (КФ 3.4.19.3., ППП-1), пироглутамилпептидазы II (КФ 3.4.19.6., ППП-2), пролилэндопептидазы (КФ 3.4.21.26., ПЭП) и дипептидилпептидазы IV (КФ 3.4.14.5., ДПП-4) в мозге, а также уровень кортикостерона в плазме крови.

Методика. Эксперимент выполнен на 42 самцах крыс линии Вистар массой 180-220 г. Плавательный стресс моделировали опусканием животных в воду с температурой 5 ± 1 °C или 20 ± 1 °C на 15 мин однократно или многократно (до 3 дней по 1 разу в день). В гомогенате мозга крыс флуориметрически определяли активность ПЭП, ДПП-4, ППП-1 и ППП-2. Для определения кортикостерона в плазме крови использовали унифицированный флуоресцентный метод. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. При отсутствии нормального распределения в экспериментальных группах, либо при несоблюдении межгруппового равенства дисперсий дальнейшую обработку проводили с помощью метода непараметрической статистики Манна-Уитни.

Результаты. При холодовом воздействии наблюдали параллельные изменения уровня кортикостерона в плазме крови и активности метаболизирующих TRH пептидаз в гомогенате мозга. После однократного плавания в воде наблюдается существенное повышение концентрации кортикостерона в плазме крови и увеличение активностей ферментов гидролиза тиролиберина – ПЭП, ДПП-4 и ППП-1 и ППП-2 в гомогенате лобной коры мозга крыс. Плавание крыс на второй и третий день приводит к постепенному падению уровня этих показателей, указывая на возможную адаптацию животных к плавательному стрессу.

Заключение. Наблюдаемые при холодовом стрессе изменения активности пептидаз, субстратами которых кроме TRH являются аргинин вазопрессин, окситоцин, нейротензин и вещество P, играют определенную роль в социальных взаимодействиях, эмоциях и стрессоустойчивости. Возможно также использование ингибиторов этих ферментов и особенно ПЭП для устранения поведенческих и когнитивных нарушений, вызванных стрессовыми ситуациями.

Ключевые слова: стресс; холод; тиролиберин; пептидазы; кортикостерон

Для цитирования: Золотов Н.Н., Щипкова Е.С., Алексеева Е.В., Филиппов А.Г., Морозов С.Г. Изменения уровня кортикостерона и активностей ферментов метаболизма либерина тиреотропного гормона у крыс при холодовом плавательном стрессе. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 150–156

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.150-156

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста – Золотов Н.Н.; сбор и статистическая обработка данных, написание и редактирование текста – Золотов Н.Н.; анализ литературных данных написание и редактирование текста – Щипкова Е.С.; Филиппов А.Г.; Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Золотов Николай Николаевич, e-mail: zolotovnn@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках темы государственного задания «Патофизиологические механизмы развития хронической боли, эпилептогенеза, эмоциональных и когнитивных расстройств и новые возможности их патогенетической терапии (FGFU-2025-0012) ФГБНУ НИИОПП.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.10.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Zolotov N.N., Shchipkova E.S., Alekseeva E.V., Filippov A.G., Morozov S.G.

Changes in corticosterone levels and enzyme activities of thyroid hormone liberin metabolism in rats during cold swimming stress

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

Background. Cold, one of the most powerful stressors, activates the sympathoadrenal system, increasing the release of thyroid-stimulating hormone (TSH) from the pituitary gland, the level of which is regulated by hypothalamic-derived TRH-releasing factor (TRH). Glucocorticoids influence TRH levels in the brain, whose levels in the hypothalamus change after short-term exposure to cold and then return to baseline, indicating activation of the transcription of neurohormones involved in the regulation of the thyrotropic axis in adrenal cortex cells. Changes in the activity of TRH-releasing hormone enzymes are also possible. The aim of the study was to investigate the effects of cold swimming stress in rats on the activities of pyroglutamyl peptidase I (EC 3.4.19.3, PGP-1), pyroglutamyl peptidase II (EC 3.4.19.6, PGP-2), prolyl endopeptidase (EC 3.4.21.26, PEP), and dipeptidyl peptidase IV (EC 3.4.14.5, DPP-4) in the brain, as well as plasma corticosterone levels.

Methods. The experiment was performed on 42 male Wistar rats weighing 180–220 g. Swimming stress was modeled by immersing the animals in water at a temperature of 5 ± 1 °C or 20 ± 1 °C for 15 minutes, either once or repeatedly (once a day for up to 3 days). The activity of PEP, DPP-4, PGP-1, and PGP-2 was determined fluorimetrically in rat brain homogenates. A standardized fluorescence method was used to determine plasma corticosterone. Statistical analysis was performed using Statistica 10.0. Normality of distribution was tested using the Shapiro-Wilk test, followed by an assessment of the equality of variances using the Levene test. In cases where normal distribution was not observed in experimental groups, or where equality of variances between groups was not maintained, further analysis was performed using the nonparametric Mann–Whitney method.

Results. Cold exposure resulted in parallel changes in plasma corticosterone levels and the activity of TRH-metabolizing peptidases in brain homogenates. After a single bout of swimming, a significant increase in plasma corticosterone concentrations and increased activity of thyroliberin hydrolysis enzymes (PEP, DPP-4, PGP-1, and PGP-2) were observed in rat frontal cortex homogenates. Swimming in rats on the second and third days resulted in a gradual decrease in these levels, indicating possible adaptation of the animals to swimming stress.

Conclusion. Changes in peptidase activity observed during cold stress, whose substrates, in addition to TRH, include arginine vasopressin, oxytocin, neurotensin, substance P and neuropeptide Y, play a role in social interactions, emotions, and stress resistance. Inhibitors of these enzymes, and especially PEP, may also be used to address behavioral and cognitive impairments caused by stressful situations.

Keywords: stress; cold; thyroliberin; peptidases; corticosterone

For citation: Zolotov N.N., Shchipkova E.S., Alekseeva E.V., Filippov A.G., Morozov S.G. Changes in corticosterone levels and enzyme activities of thyroid hormone liberin metabolism in rats during cold swimming stress. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2025; 69(4): 150–156 (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.150-156

Author's contribution: concept and design of the study, writing, and text editing – Zolotov N.N.; data collection, statistical processing, writing, and text editing – Zolotov N.N.; literature analysis, writing, and text editing – Zolotov N.N.; Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: *Nikolay N. Zolotov*, e-mail: zolotovnn@gmail.com

Information about the authors:

Zolotov N.N., <https://orcid.org/0000-0003-3528-4659>

Shchipkova E.S., <https://orcid.org/0009-0004-6238-9100>

Filippov A.G., <https://orcid.org/0009-0003-1420-6579>

Morozov S.G., <https://orcid.org/0000-0001-5822-5729>

Financing. The work was carried out with the financial support of Institute of General Pathology and Pathophysiology, research topic FGFU-2025-0012.

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

Received 20.10.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

В современных условиях человек подвергается различным стрессовым ситуациям, приводящим к изменениям уровня ряда гормонов, включая глюкокортикоиды, катехоламины, гормон роста, пролактин. При стрессе происходят изменения в гипоталамо-гипофизарно-адренортикотальной и других нейроэндокринных системах, часто приводящим к эндокринным расстройствам. [3, 4, 5, 6].

Центральную роль в формировании и реализации стрессорных реакций организма играет гипоталамус – одна из наиболее важных структур вегетативной и гормональной активности [7].

Холод является одним из наиболее сильных стрессовых воздействий, при которых активируется симпатическая адреналовая система [8]. Роль надпочечников в адаптивной реакции организма на действие холода подтверждается и тем, что адреналэктомизированные животные теряют способность выживать на холоде. [9]. При этом происходит увеличенное высвобождение гипофизом тиреотропного гормона, уровень которого регулируется тиреолиберинем (TRH) гипоталамуса. При этом известна как стимуляция, так и подавление высвобождения TRH. Стимуляция высвобождения TRH в ответ на холодовой стресс показана рядом авторов. [5, 10].

Содержание TRH в гипоталамусе снижается после кратковременного воздействия холода и впоследствии возвращается к контрольным значениям, указывая на активацию транскрипции нейрогормонов, участвующих в регуляции тиреотропной оси. При этом также возможны и изменения активности ферментов его метаболизма. Сам TRH, являясь трипептидом GIpHisProNH₂, участвует в ряде патофизиологических состояний [7]. Действие экзогенного TRH не всегда связано с увеличением секреции тиреоидных гормонов, обладающих незначительной антидепрессантной активностью. [13].

Известно о снижении как базальной, так и стимулированной холодом секреции тиреотропина при исследовании синдрома отмены морфина [5, 6, 12].

Снижение базовой и стимулированной холодом секреции тиреотропина, рилизинг-фактором которого является TRH. Метаболизм последнего контролируется пролилэндопептидазой, дипептидилпептидазой IV и пироглутамилпептидазами I и II [5, 6, 13].

Сам TRH является трипептидом GIpHisProNH₂, с разнообразными биологическими свойствами. Он участвует в регуляции ряда психических функций. Действие экзогенного TRH не связано с увеличением секреции тиреоидных гормонов, также обладающих

собственной незначительной фармакологической активностью. [6, 14].

Несмотря на большое количество публикаций о влиянии различных стрессовых воздействий на уровень либеринов, сведений о влиянии этих факторов, особенно холода, на активность контролирующих их содержание пептидаз гораздо меньше.

Цель настоящего исследования – изучение влияния холодового плавательного стресса у крыс на активности пироглутамилпептидазы I (КФ 3.4.19.3., ППП-1), пироглутамилпептидазы II (КФ 3.4.19.6., ППП-2), пролилэндопептидазы (КФ 3.4.21.26., ПЭП) и дипептидилпептидазы IV (КФ 3.4.14.5., ДПП-4) в мозге, а также уровень кортикостерона в плазме крови.

Методика

Эксперименты выполнены на крысах самцах линии Вистар ($n=42$) с массой 180-220 г. Все процедуры и эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016 г., и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006). Работа выполнена в рамках темы государственного задания «Патофизиологические механизмы развития хронической боли, эпилептогенеза, эмоциональных и когнитивных расстройств и новые возможности их патогенетической терапии (FGFU-2025-0012).

Исследования проводили под контролем Этического комитета ФГБНУ НИИОПП (ФГБУ НИИОПП (протоколы №2 от 15.04.2025 и №5 от 7.10.2025).

Животных содержали по 5–6 особей в клетке размером 52,5×32,0×20,0 см в стандартных условиях вивария с естественной сменой освещённости и свободным доступом к воде и пище (сухой сбалансированный корм производства ООО «Лабормор», Россия).

Плавательный стресс моделировали опусканием животных в воду с температурой $5^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ или $20^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ на 15 мин однократно или многократно (до 3 дней по 1 разу в день).

В гомогенате мозга крыс флуориметрически определяли активность ПЭП, ДПП-4, ППП-1и ППП-2 [6, 14]. Для определения кортикостерона в плазме (сыворотке) использовали унифицированный метод, основанный на том, что кортикостероиды, имеющие гидроксиль-

ные группы в положениях 11, 21 и кетогруппу в положении 3, после обработки смесью серной кислоты и этилового спирта флуоресцируют зеленым светом [2].

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. В случае нормального распределения в экспериментальных группах и соблюдения межгруппового равенства дисперсий дальнейшую обработку проводили с помощью метода параметрической статистики t-критерия Стьюдента. При отсутствии нормального распределения в экспериментальных группах, либо при несоблюдении межгруппового равенства дисперсий дальнейшую обработку проводили с помощью метода непараметрической статистики Манна–Уитни.

Метаболизм TRH под действием пептидаз представлен на рисунке 1.

Результаты

При холодовом воздействии наблюдали параллельные изменения уровня кортикостерона в плазме крови и активности метаболизирующих TRH пептидаз в гомогенате мозга.

На рисунках 2–6 видно, что после однократного плавления в воде наблюдается существенное повышение концентрации кортикостерона в плазме крови и увеличение активностей ферментов гидролиза тиролиберина – ПЭП, ДПП-4 и ПГП-1 и ПГП-2 в гомогенате лобной коры мозга крыс.

Плавание крыс на второй и третий день приводит к постепенному падению уровня этих показателей, указывая на возможную адаптацию животных к плавательному стрессу.

Наблюдаемое существенное увеличение содержания кортикостерона в плазме крови крыс после однократного плавления в холодной воде подтверждало наличие стресс-реакции. Плавание в последующие дни приводило к постепенному снижению уровня кортикостерона, указывая на адаптацию животных к холодовому стрессу. Сходные изменения наблюдались и ранее при холодовом воздействии на животных. Изменения наблюдались и для АКГГ, также являющегося маркером стресса [5].

При холодной стимуляции также были показаны изменения активности ПЭП, ДПП-4 и пептидных гормонов гипофиза. Однако при комнатной температуре наблюдаемые изменения активности пептидаз были менее выражены и развивались позже во времени. Подобное наблюдалось и ранее [6, 15].

Изменения активности ПЭП и ДПП-4 наблюдали также после испытания крыс и мышей в тесте неизбега-

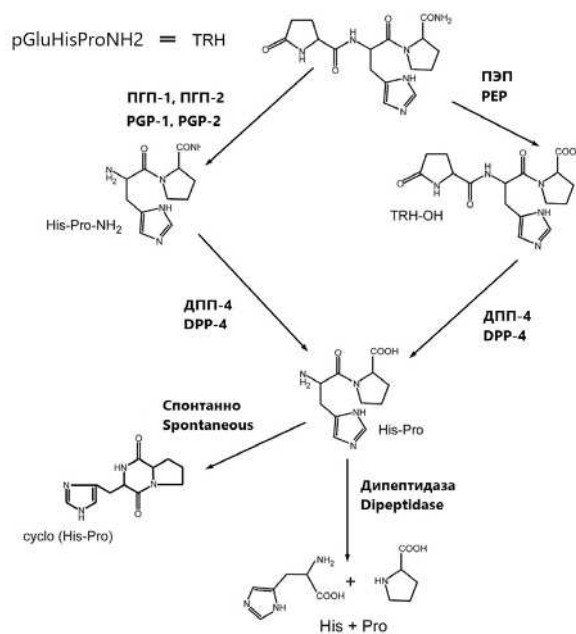


Рис. 1. Метаболизм тиролиберина. [6].

Fig. 1. Thyreoliberin metabolism. [6].

емого плавления, при котором температура воды составляла 25 °C. [13].

Высвободившийся TRH инактивируется эктопептидазой ПГП-2, экспрессия и активность которой регулируются в клетках аденогипофиза и во время киндинговой стимуляции при активации TRH-эргических нейронов. При последовательном действии на тиролиберин ПГП-2 и ПЭП образуется дипептид His-Pro, который, превратившись в дикетопиперазин, который ингибирует Na,K-АТФ-азу и освобождение пролактина, увеличивает содержание cGMP в мозге. Сам TRH стимулирует гидролиз фосфоинозитола, не опосредованный через аденилатциклазную систему [16].

ПЭП отщепляет тетрапептид от вещества P, который сам и полученный из него фрагмент контролируют секрецию нейротрансмиттеров надпочечниками [17].

Считается, что локализованная в аденогипофизе ПГП-2 выступает как терминатор TRH сигнальной системы [10].

Известно, что хронический стресс и экспозиция при 5 °C в течение первых 15 мин в два раза повышает содержание TRH в клетках гипоталамуса [8]. С этим, возможно, и связано наблюдаемое нами повышение активности метаболизирующих его пептидаз.

Воздействие холода также активирует ось гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа. Острый стресс, как и введение кортикостерона подавляет эту активацию.

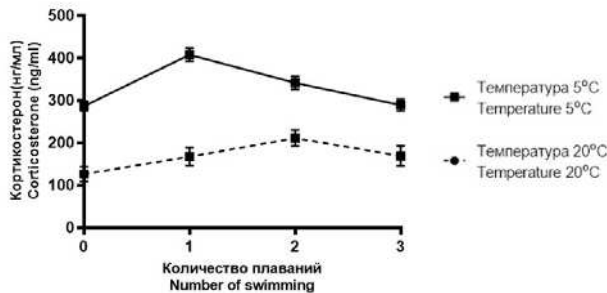


Рис. 2. Изменение содержания кортикостерона в плазме в зависимости от количества плаваний и температуры воды.

Fig. 2. Changes in plasma corticosterone levels depending on the number of swims and water temperature.

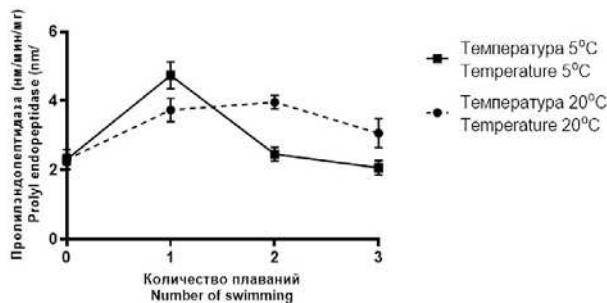


Рис. 3. Изменение активности пролилэндопептидазы во фронтальной коре в зависимости от количества плаваний и температуры воды.

Fig. 3. Changes in prolyl endopeptidase activity in the frontal cortex depending on the number of swims and water temperature.

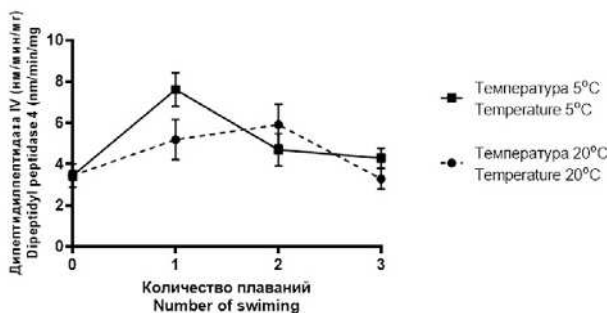


Рис. 4. Изменение активности дипептидилпептидазы IV во фронтальной коре в зависимости от количества плаваний и температуры воды.

Fig. 4. Changes in dipeptidyl peptidase IV activity in the frontal cortex depending on the number of swims and water temperature.

Хроническое стрессирование приводит к увеличению концентрации трийодтиронина и ТРН в сыворотке крови. При этом экспрессия последнего вызывает привыкание гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в ответ на повторяющийся стресс. Этим и можно объяснить снижение активности ферментов и уровня кортикостерона в нашем эксперименте при повторном плавании [18].

Холодовой стресс также влияет и на транскрипцию либеринов в клетках паравентрикулярного ядра. В ответе организма на холодовой стресс участвует и кортиколиберин, стимулирующий продукцию гормонов, мобилизующих ресурсы организма для противодействия стрессовым воздействиям [19].

При пренатальном стрессе повышается активность ДПП-4 у доношенных и недоношенных детей с цере-

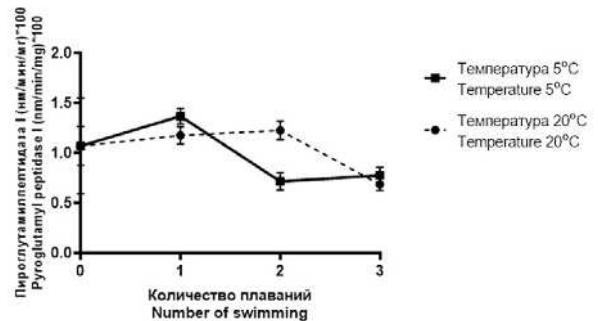


Рис. 5. Изменение активности пироглутамилпептидазы I во фронтальной коре в зависимости от количества плаваний и температуры воды.

Fig. 5. Changes in pyroglutamyl-peptidase I activity in the frontal cortex depending on the number of swims and water temperature.

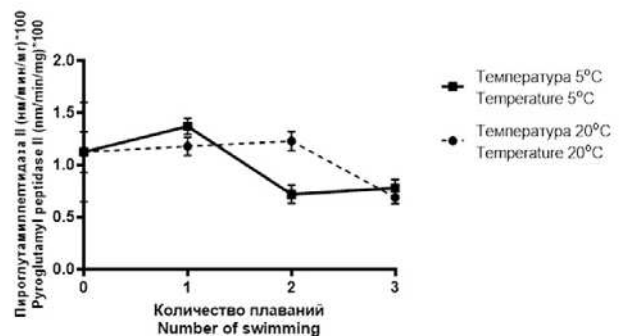


Рис. 6. Изменение активности пироглутамилпептидазы II во фронтальной коре в зависимости от количества плаваний и температуры воды.

Fig. 6. Changes in pyroglutamyl-peptidase II activity in the frontal cortex depending on the number of swims and water temperature.

бральной ишемией. Отмечается снижение активности ДПП-4 у доношенных с ишемией в сочетании с внутриутробной гипотрофией, при этом абсолютные значения превышали показатели здоровых. У доношенных детей с ишемией при синдроме возбуждения активность ДПП-4 повышается, при синдроме угнетения - снижается. Установлено влияние острой и хронической гипоксии на активность ДПП-4 и выявлена взаимосвязь этих изменений с функциональным состоянием ЦНС [14].

Пандемия коронавируса повлекла за собой ряд последствий, начиная с ряда психопатологических расстройств, обнаруженных у населения, которому пришлось изменить свои жизненные привычки и которое долгое время находилось под негативным влиянием тревог, страхов, депрессии и других симптомов дистресса.

Можно также отметить роль ДПП-4 как рецептора для различных коронавирусов человека [20].

Заключение

На основании полученных результатов можно предположить, что наблюдаемые при холодовом стрессе изменения активности пептидаз, субстратами которых кроме TRH являются аргинин вазопрессин, окситоцин, нейротензин, вещество P и нейропептид Y играют определенную роль в социальных взаимодействиях, эмоциях и стрессоустойчивости [21].

Возможно использование ингибиторов этих ферментов и особенно пролилэндопептидазы для устранения поведенческих и когнитивных нарушений, вызванных стрессовыми ситуациями. Однако для этого необходимо проведение специальных исследований на различных экспериментальных моделях стресса, включая синдром отмены психоактивных субстанций, в частности барбитуратов, бенздиазепинов, морфина и алкоголя.

Литература

(1, 3, 4, 6, 7, 9, 11, 13–21 см. References)

2. Гусакова Е.А., Городецкая И.В. Значение глюкокортикоидов в организации стресс-реакции организма. *Вестник ВГМУ*. 2020; 19(1): 24–35. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2020.1.24>
5. Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Карпова М.Н., Кукушкин М.Л. Влияние сочетанного воздействия изоляционного и холодового стресса на болевую чувствительность крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(2) 13–9. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2024.02.13-19>
8. Кубасов Р.В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014; 69(9-10): 102–9. <https://doi.org/10.15690/vramn.v69i9-10.1138>
10. Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А., Богданова Н.Г., Золотов Н.Н., Крыжановский Г.Н. Влияние ингибитора пролилэндопептидазы бензил-оксикарбонил-метионил-2(S)-цианопирролидина на развитие экспериментального депрессивного синдрома у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 147(1): 27–31
12. Макаров Г.И., Золотов Н.Н., Позднев В.Ф. Ингибирование дипептидилпептидазы-IV 2-S-цианопирролидиновыми ингибиторами пролилэндопептидазы. *Биоорганическая химия*. 2024; 50(6): 813–25. <https://doi.org/10.31857/S0132342324060082>

References

1. Ranabir S., Reetu K. Stress and hormones. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2011; 15(1): 18–22. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.77573>
2. Gusakova E.A., Gorodetskaya I.V. The importance of glucocorticoids in organizing the body's stress reaction. *Vestnik VGMU*. 2020; 19(1): 24–35. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2020.1.24> (in Russian)
3. Rauhala P., Männistö P.T., Tuominen R.K. Effect of chronic morphine treatment on thyrotropin and prolactin levels and acute hormone responses in the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1988; 246(2): 649–54. PMID: 3404452
4. Idänpään-Heikkilä J.J., Rauhala P., Tuominen R.K., Tuomainen P, Zolotov N., Männistö P.T. Morphine withdrawal alters anterior pituitary hormone secretion, brain endopeptidase activity and brain monoamine metabolism in the rat. *Pharmacol Toxicol*. 1996; 78(3): 129–35. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1996.tb00193.x>
5. Kuznetsova L.V., Klishina N.Yu., Karpova M.N., Kukushkin M.L. Effects of the combined isolation stress and cold stress on pain sensitivity of rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2024; 68(2): 13–9. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2024.02.13-19> (in Russian)
6. Fröhlich E.; Wahl. The forgotten effects of thyrotropin-releasing hormone: metabolic functions and medical applications. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2018; 52(1): 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.06.006>
7. Rage F., Lazaro J.B., Benyassi A., Arancibia S., Tapia-Arancibia L. Rapid changes in somatostatin and TRH mRNA in whole rat hypothalamus in response to acute cold exposure. *J Neuroendocrinol*. 1994; 6(1): 19–23. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.1994.tb00550.x>
8. Koubassov R.V. Hormonal Changes in Response to Extreme Environment Factors. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk (Annals of the Russian Academy of Medical Sciences)*. 2014; 69(9–10): 102–9. <https://doi.org/10.15690/vramn.v69i9-10.1138> (in Russian)
9. Sánchez E., Uribe R.M., Corkidi G., Zoeller R.T., Cisneros M., Zacarias M., Morales-Chapa C., Charli J.L., Joseph-Bravo P. Differential responses of thyrotropin-releasing hormone (TRH)

- neurons to cold exposure or suckling indicate functional heterogeneity of the TRH system in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*. 2001; 74(6): 407–22. <https://doi.org/10.1159/000054707>
10. Khlebnikova N.N., Krupina N.A., Orlova I.N. Bogdanova N.G., Zolotov N.N., Kryzhanovskii G.N. Effect of a Prolyl Endopeptidase Inhibitor Benzylloxycarbonyl-Alanyl-Proline on the Development of Experimental Depressive Syndrome in Rats. *Bull Exp Biol Med*. 2009; 147: 291–5. <https://doi.org/10.1007/s10517-009-0494-2>
 11. Joseph-Bravo P, Uribe R M, Vargas M A, Pérez-Martínez L, Zoeller T, Charli J L. Multifactorial modulation of TRH metabolism. *Cell Mol Neurobiol*. 1998; 18: 231–47. <https://doi.org/10.1023/a:1022521020840>
 12. Makarov G.I., Zolotov N.N., Pozdnev V.F. Inhibition of Dipeptidylpeptidase-IV by (2S)-Cyanopyrrolidine Inhibitors of Prolyl Endopeptidase. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2024; 50(6). 2366–78. <https://doi.org/10.1134/s1068162024060281>
 13. Bellemère G., Vaudry H., Morain P; Jégou S. Effect of Prolyl Endopeptidase Inhibition on Arginine-Vasopressin and Thyrotrophin-Releasing Hormone Catabolism in the Rat Brain. *Journal of Neuroendocrinology*. 2005; 17(5): 306–13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2005.01308.x>
 14. Yakovleva A.A., Micheeva I.G., Zolotov N.N., Kolyasnikova K.N., Sokolov O.Y., Kost N.V. Dipeptidylpeptidase 4 (DPP4, CD26) activity in the blood serum of term and preterm neonates with cerebral ischemia. *Neuropeptide*. 2015; 52: 113–7. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2015.05.001>
 15. Nordström C.G., Peltola O. Determination of 11-hydroxycorticosteroids in plasma. *Scand J Rheumatol*. 1974; 3(3), 143–4. <https://doi.org/10.3109/03009747409097140>
 16. Salers P., Ouafik L., Giraud P., Maltese J., Dutour A., Oliver C. Ontogeny of prolyl endopeptidase, pyroglutamyl peptidase I, TRH, and its metabolites in rat pancreas. *Am. J. Physiol*. 1992; 262(3): 845–50. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1992.262.6.E845>
 17. Toide K., Okamiya K., Iwamoto Y., Kato T. Effect of a Novel Prolyl Endopeptidase Inhibitor, JTP-4819, on Prolyl Endopeptidase Activity and Substance P and Arginine-Vasopressin-Like Immunoreactivity in the Brains of Aged Rats. *J. Neurochem*. 1995; 65. 234–40 <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.65010234.x>
 18. Castillo-Campos A., Gutiérrez-Mata A., Charli J.L., Joseph-Bravo P. Chronic stress inhibits hypothalamus-pituitary-thyroid axis and brown adipose tissue responses to acute cold exposure in male rats. *J Endocrinol Invest*. 2021; 44(4): 713–23. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01328-z>
 19. Parra-Montes de Oca M.A., Sotelo-Rivera I., Gutiérrez-Mata A., Charli J.L., Joseph-Bravo P. Sex Dimorphic Responses of the Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis to Energy Demands and Stress. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01328-z>
 20. Yu Li.S., Zhang Z., Yang L., Lian X., Xie Y., Li S., Xin S., Cao P., Lu J. The MERS-CoV receptor DPP4 as a candidate binding target of the SARS-CoV-2 spike. *Iscience*. 2020; 23(6): 222–31. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101160>
 21. Wagner L., Kaestner F., Wolf R., Stiller H., Heiser U., Manhart S., et al. Identifying neuropeptide Y (NPY) as the main stress-related substrate of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in blood circulation. *Neuropeptides*. 2016; 57: 21–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2016.02.007>

Сведения об авторах:

Золотов Николай Николаевич, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИОПП»;

Щипкова Екатерина Сергеевна, мл. науч. сотр., лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИОПП»;

Алексеева Елена Валерьевна, науч. сотр. лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИОПП»;

Филиппов Александр Геннадиевич, науч. сотр., лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИОПП»;

Морозов Сергей Георгиевич, доктор мед. наук, проф., член-кор. РАН, директор ФГБНУ «НИИОПП».

Обзоры

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616.36-002

Фоминых Ю.А.^{1,2}, Наджафова К.Н.¹, Жданова И.А.¹, Молчанова М.С.¹, Сонин Д.Л.¹, Галагудза М.М.¹ **Экспериментальные модели печеночно-клеточной недостаточности на основе изолированного и комбинированного действия этиологических факторов**

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2;

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

Заболевания печени продолжают оставаться одной из ведущих причин смертности среди хронических патологий во всем мире. Особую сложность в лечении больных представляют клинические ситуации, когда к поражению печени приводят несколько этиологических факторов одновременно. В связи с этим возрастает потребность в создании экспериментальных моделей, имитирующих данную клиническую ситуацию. Такие модели позволяют воспроизводить комбинированные метаболические, токсические и инфекционные воздействия в условиях, максимально приближенных к клинической практике. В данной статье представлен обзор существующих экспериментальных моделей при воздействии на печень изолированных или комбинированных этиологических факторов, которые служат основой для изучения патогенеза и разработки эффективных терапевтических стратегий.

Ключевые слова: печень; экспериментальные модели; неалкогольная жировая болезнь печени; алкогольная болезнь печени; лекарственные поражения печени; *in vivo*; *in vitro*

Для цитирования: Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н., Жданова И.А., Молчанова М.С., Сонин Д.Л., Галагудза М.М. Экспериментальные модели печеночно-клеточной недостаточности на основе изолированного и комбинированного действия этиологических факторов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(4): 157–167

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.157-167

Участие авторов: концепция статьи – Фоминых Ю.А., Галагудза М.М.; обзор литературы, написание текста – Жданова И.А., Молчанова М.С.; структурирование текста, редактирование – Наджафова К.Н., Сонин Д.Л.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Наджафова Кямаля Низамитдиновна, e-mail: kyamalyok@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках приоритетного государственного задания ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России «Разработка нового устройства для интраоперационной флуоресцентной визуализации перфузии полых органов желудочно-кишечного тракта».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.07.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Fominykh Yu.A.^{1,2}, Nadzhafova K.N.¹, Zhdanova I.A.¹, Molchanova M.S.¹, Sonin D.L.¹, Galagudza M.M.¹ **Experimental models of hepatocellular failure based on the isolated and combined effects of etiological factors**

¹V.A. Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratova St., Saint Petersburg, 197341, Russian Federation;

²St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya St., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

Summary. Liver diseases remain one of the leading causes of mortality worldwide. The most difficult clinical situations to treat are those in which several etiological factors simultaneously lead to liver damage. This highlights the growing need for experimental models that simulate such combined hepatic damage. These models allow for the reproduction of metabolic, toxic, and infectious effects in conditions that closely resemble clinical reality. Currently, both *in vitro* and *in vivo* models are used for this purpose, each offering specific advantages and limitations. This article provides an overview of existing experimental models of combined liver injury, as well as isolated forms, which serve as a basis for

studying pathogenesis and developing effective therapeutic strategies.

Keywords: liver; experimental models; metabolically associated fatty liver disease; alcohol-related liver disease; drug-induced liver disease; *in vivo*; *in vitro*

For citation: Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N., Zhdanova I.A., Molchanova M.S., Sonin D.L., Galagudza M.M. Experimental models of hepatocellular failure based on the isolated and combined effects of etiological factors. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 157–167 (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.157-167

Author's contribution: concept of the article – Fominykh Yu.A., Galagudza M.M.; the literature review and text writing – Zhdanova I.A., Molchanova M.S.; the text structuring and editing – Nadzhafova K.N., Sonin D.L.; the final version of the article and responsible for the integrity of all parts of the article – all the co-authors.

For correspondence: Kyamalya N. Nadzhafova, PhD, Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, e-mail: kyamalyok@yandex.ru

Information about the authors:

Fominykh Yu.A., <https://orcid.org/0000-0002-2436-3813>

Nadzhafova K.N., <https://orcid.org/0000-0002-8419-0272>

Zhdanova I.A., <https://orcid.org/0009-0009-5619-3255>

Sonin D.L., <https://orcid.org/0000-0003-1705-7217>

Galagudza M.M., <https://orcid.org/0000-0001-5129-9944>

Financing. The work was supported by Almazov National Medical Research Center of the Russian Ministry of Health "Development of a new device for intraoperative fluorescent visualization of the perfusion of hollow organs of the gastrointestinal tract".

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

Received 17.07.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Печеночная недостаточность продолжает занимать лидирующие позиции среди хронических заболеваний во всем мире и ежегодно становится причиной более двух миллионов смертей. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), аутоиммунный гепатит, хронические вирусные гепатиты и алкогольная болезнь печени (АБП) являются основными причинами развития печеночно-клеточной недостаточности [1, 2]. В 2020 г. распространенность заболеваний печени во всем мире составляла 1,5 млрд случаев [3]. Кроме того, данные заболевания нередко сопровождаются внепеченочными осложнениями, включая патологию сердечно-сосудистой системы, центральной нервной системы и злокачественные новообразования различной локализации [4]. Несмотря на высокую распространенность заболеваний печени, их диагностика, прогнозирование и терапия остаются недостаточно эффективными, что подчеркивает необходимость разработки новых методов диагностики и стратегий лечения [5].

Зачастую у пациентов имеет место сочетание нескольких этиологических факторов формирования заболеваний печени, что усложняет как дифференциальную диагностику, так и выбор оптимальной терапевтической тактики. По этой причине создание **эксперименталь-**

ных моделей поражений печени с комбинированным воздействием этиологических факторов становится одним из важных инструментов для изучения механизмов заболевания и, как следствие, открытия новых методов лечения. Такие модели позволяют исследовать сочетание **метаболических, токсических и, в некоторых случаях, инфекционных факторов повреждения печени** в условиях, приближенных к реальности, что способствует более глубокому пониманию патогенеза с учетом их взаимного тяготения. На данный момент для исследования патологий печени используют модели ***in vitro*** и ***in vivo*** [2, 6].

Модели *in vivo* широко используются в исследованиях для воссоздания патологических процессов. Для моделирования воздействия этиологических факторов на печень применяются различные виды животных: от рыб *Danio rerio* до свиней и приматов [7]. Тем не менее, в большинстве биомедицинских экспериментов предпочтение отдается грызунам ввиду простоты их содержания и разведения, а также генетической и физиологической схожести с человеком [7]. Минусами моделей *in vivo* являются невозможность исключить индивидуальный ответ организма и их непригодность для исследований, предполагающих обработку больших объемов данных, поскольку это сопряжено с использованием большого количества животных [8].

Клеточные модели *in vitro* применяются для изучения молекулярных механизмов повреждения печени [9]. В качестве моделей используют первичные человеческие гепатоциты, бессмертные клеточные линии, гепатоцитоподобные клетки и совместные культуры. Первичные гепатоциты человека представляют собой клетки, полученные из резецированной паренхимы, и считаются «золотым стандартом» для изучения патологических процессов в печени [9, 10]. Поскольку они изолируются непосредственно из органа, их плазматическая мембрана сохраняет способность к активному транспорту веществ, включая процессы захвата, секреции и метаболического преобразования [11, 12]. Жизнеспособность клеток в значительной степени зависит от хирургических и транспортных условий сбора фрагментов печени [13].

Бессмертные клеточные линии, полученные из гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК): *HepG2*, *HepaRG*, *HuH7*, *Hep3B* и *THLE*, характеризуются доступностью, простотой в культивировании, стабильностью фенотипа и способностью к неограниченному делению [14]. Однако после ряда пассажей клетки *HepG2* демонстрируют низкую экспрессию и активность метаболических ферментов по сравнению с первичными гепатоцитами, что ограничивает их применение при изучении токсичности метаболитов лекарственных средств [15].

Гепатоцитоподобные клетки представляют собой дифференцированные клетки, полученные из человеческих стволовых клеток, включая стволовые клетки печени и эмбриональные плюрипотентные стволовые клетки, которые могут быть длительно культивированы на стадии исходных стволовых клеток [16]. Данные клетки обладают морфологическими и функциональными свойствами, сходными с характеристиками первичных гепатоцитов [17].

Совместные культуры (сокультуры) позволяют исследовать токсическое воздействие не только на один тип клеток. Для совместного культивирования с гепатоцитами используются непаренхиматозные клетки печени, такие как синусоидальные эндотелиальные клетки, клетки Купфера и холангиоциты, а также фибробласты и клетки иммунной системы. Исследования показали, что при совместном культивировании с непаренхиматозными клетками фенотип первичных гепатоцитов становится более приближенным к их состоянию *in vivo* [9]. Помимо двухмерных клеточных моделей, большие перспективы связаны с применением трехмерных структур, включающих сфероиды, органоиды печени и «печень-на-чипе». Применение указанных моделей *in vitro* способствует снижению затрат на исследования, увеличению их воспроизводимости и уменьшению трудоемкости. Немаловажное

преимущество использования клеточных культур по сравнению с экспериментами на животных – это отсутствие этических вопросов [18]. Тем не менее, как утверждают Gamboa J.M. и Leong K.W., хотя модели *in vitro* и являются важными для предварительной оценки лекарственных препаратов, окончательная оценка их эффективности и безопасности обычно требует исследований *in vivo* [19].

Экспериментальные модели изолированного действия на печень этиологических факторов

АБП. Данная патология является одной из ведущих причин печеночно-клеточной недостаточности и охватывает изменения от стеатоза до цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы, что обуславливает необходимость использования экспериментальных моделей для изучения механизмов инициации и прогрессирования заболевания, а также идентификации возможных терапевтических мишеней [20, 21, 22].

В исследовании Bertola A. et al. была создана модель воздействия на печень у мышей, основанная на применении жидкой этанолсодержащей диеты Lieber-DeCarli в течение 10 дней, после чего животным вводили однократную дозу этанола. Такой подход вызывал выраженную инфильтрацию паренхимы печени полиморфоядерными лейкоцитами, а также значительное повреждение паренхимы с развитием жировой дистрофии [23]. В биохимическом анализе крови отмечалось увеличение аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ). Благодаря воспроизводимости и простоте данный протокол в настоящее время активно применяется в исследованиях, направленных на изучение начальных этапов АБП и алкогольного гепатита.

Tsukamoto H. et al. разработали модель АБП на крысах, которая заключалась в постоянной инфузии этанола и питательных веществ через желудочную канюлю, хирургически установленную в желудке животных [24]. Такой подход обеспечивает точный контроль потребляемого этанола и способствует достижению стабильно высокого уровня алкоголя в крови. При использовании данной модели наблюдаются выраженные морфологические изменения печени, включая стеатоз, центральный и перипортальный фиброз, некроз в центральной зоне долек, а также наличие смешанного воспалительного клеточного инфильтрата. Эти гистологические признаки во многом совпадают с морфологическими проявлениями АБП у человека.

В последние годы были достигнуты успехи в использовании экспериментальных моделей, создаваемых *in vitro* на основе клеток человека, таких как «печень-на-чи-

пе» и органоиды печени, которые воспроизводят картину АБП [25]. Отдельно следует упомянуть такой вариант *ex vivo* моделирования, как изготовление и инкубирование переживающих тонких срезов печени [26]. Важнейшим преимуществом модели среза печени является то, что она позволяет исследовать не только влияние алкоголя и его метаболизм, но и вклад в прогрессирование заболевания, обусловленный специфическими клеточными и неклеточными компонентами печени в их естественной гистоархитектурной организации. Прецизионные срезы печени получили широкое признание как ценный инструмент для функциональных и токсикологических исследований и моделирования заболеваний [27].

НАЖБП – одна из самых распространённых болезней печени во всем мире, и в ближайшие десятилетия она станет ведущей причиной терминальной стадии печёночной недостаточности [2, 28]. Для метаболического синдрома, лежащего в основе НАЖБП, характерны висцеральное ожирение, гиперинсулинемия и гипергликемия [29]. Индукция стеатоза и прогрессирующей формы НАЖБП, неалкогольного стеатогепатита, лабораторным животным проводится с помощью диеты с повышенным содержанием жиров. Для изучения НАЖБП также предлагалось использование приматов, таких как макаки – резусы, учитывая их генетическое сходство с человеком. Однако из-за высоких финансовых затрат и этических ограничений такие модели применяются редко. Наиболее часто стеатоз печени индуцируют у крыс стока Wistar и линии Sprague-Dawley [30].

Существует несколько типов диет с высоким содержанием жиров (*high-fat diet* – HFD), различающихся по составу, источнику жиров и процентному содержанию липидов. Наиболее часто используемые рационы содержат 45–60% ккал из жиров. У мышей, находящихся на такой диете в течение 16 недель, развиваются – ожирение, инсулинорезистентность и воспаление печени [31]. Уже через неделю кормления возможно развитие дисбиоза и метаболической эндотоксинемии. Модель HFD активно используется для изучения роли кишечной микробиоты в патогенезе НАЖБП, а также для тестирования терапевтических средств. Несмотря на широкое применение, модель не воспроизводит в полной мере выраженность фиброза, характерного для заболевания у людей [32].

Модель, индуцированная диетой с высоким содержанием жиров и фруктозы (*high-fat high-fructose diet*, HFFD), представляет собой комбинацию HFD и 10% фруктозы, усиливающую метаболические нарушения. Она имитирует липотоксичность, стресс эндоплазматической сети и воспаление, индуцированные свободными жирными кислотами и провоспалительными цитокинами. HFFD

рекомендуется для изучения роли стресса *эндоплазматического ретикулума* и метаболических сдвигов [33].

Диета с дефицитом холина и L-аминокислотами (*choline-deficient L-amino-defined diet* – CDAА) характеризуется дефицитом холина при нормальном или умеренно сниженном содержании метионина, в то время как содержание белка в формуле было заменено смесью L-аминокислот [34]. После 12 недель кормления у мышей формируется стеатогепатит с выраженным фиброзом, а к 21-й неделе наблюдается его прогрессирование до гепатоцеллюлярной карциномы. Это делает модель CDAА ценной для изучения канцерогенеза на фоне фиброза при НАЖБП.

Wang H. et al. разработали *модель с использованием диеты* с высоким содержанием жиров и холестерина (*high-fat high-cholesterol diet* – HFHC), включающей 30% жира, 1,25% холестерина и 0,5% холата [32]. Такое питание индуцирует стеатогепатит с характерным макровезикулярным стеатозом и мононуклеарной инфильтрацией, а также активирует транскрипционный регулятор, способствующий фиброзу, что приводит к НАЖБП и фиброзу печени. HFHC используется для оценки молекулярных механизмов и эффектов различных препаратов.

Genatum B. Несмотря на наличие эффективной вакцины, инфекция вирусного гепатита В (ВГБ) остается глобальной проблемой здравоохранения, которая затрагивает приблизительно 3,5% населения мира, при этом около 257 млн человек во всем мире хронически инфицированы. У данных пациентов высокий риск развития терминальных стадий заболеваний печени, таких как цирроз и ГЦК [35].

В настоящее время модели для изучения ВГБ можно разделить на три вида: клеточные модели, модели на животных и органоидные модели. Клеточные модели не подходят для изучения канцерогенеза, связанного с ВГБ, из-за ограничений, обусловленных особенностями роста опухолевых клеток *in vitro*, в частности, жёсткой зависимостью опухолевых клеток от специфических факторов микроокружения, которые не могут быть воспроизведены *in vitro* [36, 37]. Модели на животных, особенно на приматах, поддерживают инфекцию ВГБ и иммунные реакции, но они дорогостоящи, в том числе, вследствие необходимости обеспечить необходимые условия содержания животных. По сравнению с двумя вышеупомянутыми видами моделей, органоидные модели поддаются генетической модификации, а также они поддерживают полный жизненный цикл вируса и подходят для исследований канцерогенеза, связанного с ВГБ [36].

Благодаря способности органоидов печени поддерживать полный жизненный цикл ВГБ, можно изучать роль вирусных белков в естественном течении инфекции,

а также исследовать гены-мишени и механизмы канцерогенеза в первичной системе гепатоцитов с помощью экзогенной экспрессии белка НВх или других белков-кандидатов вируса хозяина в гепатоцитах, поскольку органоиды можно генетически модифицировать. De Crignis E. et al. создали органоиды, полученные от пациентов и инфицированные ВГБ, из неопухолевой цирротической паренхимы эксплантатов печени пациентов, перенёвших трансплантацию. Транскриптомный анализ этих органоидов указывает на наличие аномальной сигнатуры генов на ранних стадиях рака и отличается от профиля, характерного для здоровой паренхимы печени. Это подтверждает возможность использования таких органоидов, инфицированных вирусом, для изучения новых биомаркеров вирусного канцерогенеза у пациентов, инфицированных ВГБ [38].

ГЦК. Рак печени продолжает оставаться серьёзной проблемой здравоохранения. Основными факторами риска ГЦК являются вирусные гепатиты В и С, хроническое употребление алкоголя, а также НАЖБП [39]. Несмотря на то, что механизмы развития заболевания изучены давно, средняя выживаемость пациентов составляет всего около 18 мес [39]. Это подтверждает необходимость дальнейших исследований, направленных на разработку более эффективных терапевтических подходов. Доклинические модели на животных являются хорошо зарекомендовавшими себя инструментами, используемыми для изучения патогенеза заболевания, определения терапевтических мишеней и скрининга эффективных лекарств, что играет важную роль в исследованиях рака. Несмотря на существование многих экспериментальных моделей ГЦК, лабораторные мыши считаются лучшими из-за их короткой продолжительности жизни, небольшого размера тела, высокой способности к размножению, и физиологического, генетического и молекулярного сходства с людьми. В настоящее время доступные модели на мышах можно разделить на следующие три основные группы: биомодели, индуцированные модели и трансплантационные модели [40].

Генетически модифицированные модели у мышей позволяют активировать онкогены или инактивировать гены-супрессоры опухолей для стимуляции роста опухоли. Инъекция ДНК-плазмид может вызывать временную дисфункцию миокарда в сочетании с нарушением функции печени, но позволяет генерировать различные модели ГЦК, экспрессирующие несколько онкогенов.

Индукцированные модели могут быть дополнительно разделены на химические, пищевые и вирусные. В случае химических моделей генотоксичные канцерогены действуют как инициаторы опухоли, случайно вызывая

повреждение ДНК. Они могут напрямую взаимодействовать с ДНК и образовывать комплексы ДНК-канцероген (аддукты ДНК), которые нарушают структуру ДНК и вызывают мутации, способствующие развитию рака. Негенотоксичные канцерогены не взаимодействуют с ДНК; они функционируют как стимуляторы образования опухоли за счет эпигенетических механизмов, стимулируя злокачественную трансформацию клеток и способствуя клональной экспансии пренеопластических клеток. Химически индуцированные модели ГЦК часто включают генотоксический канцероген в качестве инициатора и негенотоксический канцероген в качестве промотора опухолевого роста. Наиболее часто используемым генотоксичным канцерогеном является диэтилнитрозамин, за которым следуют 2-ацетиламинофлуорен и афлатоксин. Часто используемые негенотоксичные канцерогены включают тетрахлорметан, тиоацетамид и фенобарбитал [41].

Классические модели ксенотрансплантата создаются путем имплантации культивируемых клеточных линий ГЦК человека или фрагмента солидной опухоли человека мышам с глубоким иммунодефицитом либо под кожу, либо в печень. Поскольку в моделях ксенотрансплантатов используются клетки человека или опухолевая ткань, несущие генетический материал человека, мутационный профиль опухоли человека и другие ее свойства хорошо сохраняются. В дополнение к трансплантации культивируемых клеточных линий человека, хирургически удаленные образцы опухоли, полученные от пациента, также могут быть гетеро- или ортотопически пересажены мышам с иммунодефицитом, что называется моделью ксенотрансплантата, полученного от пациента (PDX). Такая модель считается эффективной доклинической моделью рака, поскольку точно воспроизводит микросреду опухоли при первичном ГЦК у человека. Кроме того, гистологические, молекулярные и генетические характеристики исходных биоптатов ГЦК хорошо сохраняются в модели ксенотрансплантата, что позволяет прогнозировать клинические реакции на лечение у пациентов с ГЦК и даже персонализировать подходы к терапии [42].

Экспериментальные модели комбинированного действия на печень этиологических факторов

НАЖБП и АБП являются двумя наиболее распространенными причинами заболеваний печени во всем мире [43]. С увеличением распространенности ожирения и стеатоза печени, вызванного метаболической дисфункцией, была выделена новая категория заболеваний – метаболическая и алкогольная болезнь печени (МетАБП). Данное состояние характеризуется перекрестом факторов риска

указанных заболеваний, несмотря на отсутствие значительного потребления алкоголя в диагностических критериях НАЖБП [44]. Ожирение увеличивает вероятность развития алкогольного цирроза, ускоряет прогрессирование фиброза печени, а также повышает смертность при АБП [44].

Для изучения факторов, которые усугубляют заболевание печени у пациентов с сопутствующими факторами риска МетАБП, были разработаны различные экспериментальные модели. В исследованиях использовались модели грызунов с диетой, способствующей ожирению (например, с высоким содержанием жиров и фруктозы), генетически обусловленным ожирением и различными формами потребления алкоголя [45]. Экспериментальные модели показывают, что потребление алкоголя приводит к более выраженному нарушению липидного обмена при метаболическом синдроме, способствуя развитию тяжелых поражений печени [45, 46]. Однако используемые модели различаются в зависимости от генотипа животных, состава диеты, типа и продолжительности потребления алкоголя, а также по степени вызываемого повреждения печени [45].

Далее рассмотрим экспериментальные модели МетАБП при метаболическом синдроме, индуцированном изменением состава диеты. Как правило, диеты с высоким содержанием жира и диеты, содержащие этанол, не даются животным одновременно, поскольку последняя снизит потребление первой, если не выполнять внутривенное введение алкоголя [47]. Разные факторы, такие как различия в линиях и стоках животных, составе диеты, протоколах приема алкоголя и условиях окружающей среды, могут повлиять на результаты исследований МетАБП [48].

Schonfeld M. et al. разработали модель для изучения влияния хронического потребления алкоголя и западной диеты на организм (Western Diet with Alcohol – WDA) [49]. В эксперименте мыши линии *C57BL/6J* получали западную диету и имели свободный доступ к воде с алкоголем на протяжении 8, 10, 12 и 16 недель. Алкоголь вводился двумя способами: непрерывное потребление 10% этанола в воде; прерывистая схема – 20% этанола в течение 4 дней и 10% в течение 3 дней еженедельно. Результаты показали, что у группы мышей, потреблявших 10% этанол в течение 16 недель, не наблюдалось значительных изменений в уровне АЛТ и признаков фиброза по сравнению с контрольной группой, получавшей только западную диету. Однако у мышей, получавших прерывистый режим алкоголя, наблюдалось значительное повышение уровня сывороточной АЛТ, развитие стеатоза, воспаления и фиброза печени, а также снижение уров-

ня ядерного фактора гепатоцитов 4α (*hepatocyte nuclear factor 4 alpha* – HNF4α). Вызванный алкоголем стеатоз печени в этой группе быстро проходил после прекращения употребления алкоголя, тогда как разрешение фиброза было чрезвычайно медленным.

Модель DUAL–**Diffusing Update Algorithm** (алкогольно-ассоциированное заболевание печени плюс метаболически-ассоциированное жировая болезнь печени) была разработана для имитации взаимодействия метаболических и алкогольных факторов в патогенезе поражений печени [50]. В данной модели самки мышей *C57BL/6J* получали западную диету и воду с 10% этанола и 6,75% D-глюкозы в течение 23 недель. В результате у мышей наблюдались гипертрофия адипоцитов, гиперхолестеринемия, гипергликемия, макровезикуляция гепатоцитов, воспаление и прогрессирующий фиброз, что соответствует патогенезу стеатогепатита у человека. Обе модели воспроизводят ключевые признаки алкогольного гепатита и могут быть актуальны для изучения МетАБП у человека. Они удобны в применении, поскольку не требуют жидкой диеты Lieber-DeCarli, зондового кормления или хирургических процедур. Однако модели демонстрируют значительные вариации потребления этанола и западной диеты разными особями, что затрудняет стандартизацию данных. Кроме того, модели WDA и DUAL пока не были воспроизведены в других лабораториях и требуют дальнейших исследований.

Caro R.M. et al. разработана модель с синдромом метаболической и алкогольной жировой болезни печени (syndrome of metabolic and alcohol-associated fatty liver disease – SMAFLD) [51]. В данной модели самцы мышей *C57BL/6J* в течение 4 недель получали диету с высоким содержанием фруктозы, жиров и холестерина, после чего они получали 5% этанол в питьевой воде в течение 12 недель. Дополнительно раз в неделю вводили 2,5 г/кг этанола через зонд, имитируя эпизодические злоупотребления алкоголем. В результате у мышей развивались выраженные повреждения печени, включая стеатоз, воспаление и прогрессирующий фиброз, а также нарушения в сигнальных путях лептина и АМР-активируемой протеинкиназы. Главное отличие SMAFLD от других моделей заключается в использовании комбинации диета-индуцированного ожирения и периодического потребления алкоголя, что лучше имитирует ситуации повреждения печени при комбинированном воздействии этиологических факторов у человека, такие как МетАБП.

Wang Y. et al. применяли диету Lieber-DeCarli (LD) с высоким содержанием жиров у крыс Sprague-Dawley [52]. В течение 6 недель животные получали либо только высокожировую диету, либо ее же в сочетании с эти-

ловым спиртом. После чего крысам, получавшим HF-LD, продолжали давать высокожировое питание с добавлением или без добавления этанола еще в течение 4 недель. Диета Lieber-DeCarli с высоким содержанием жиров приводила к усилению гепатостеатоза и воспаления, а также увеличению числа апоптотических гепатоцитов. При этом значительных различий в уровнях белка Bcl-2 между группами не наблюдалось, тогда как экспрессия Fas-рецептора и Fas-лиганда была выше в группе, получавшей высокожировую диету в сочетании с этанолом, указывая на активацию внешнего пути апоптоза.

Flaveny C.A. et al. модифицировали классическую жидкую диету Lieber-DeCarli, разработав западную диету для воспроизведения алкогольного стеатогепатита (Western Alcoholic SteatoHepatitis – WASH) [53]. В дополнение к такому же количеству витаминной смеси, метионина, целлюлозы, холина, минеральной смеси и L-цистина, диета WASH включает повышенное содержание холестерина (4,6 г/л), трансжиров (39,6 г/л), фруктозы (34,3 г/л) и 4,5% этанола (с постепенным увеличением концентрации в течение 10 дней). Эта диета ускоряла повреждение печени и способствовала достижению гистологических изменений, аналогичных тем, которые наблюдаются при алкогольном стеатогепатите у человека. Исследования показали, что WASH вызывает выраженное повреждение печени, воспаление и фиброз, изменения в соотношении АСТ/АЛТ, характерные для влияния высокожирового питания.

Gao B. et al. изучали влияние кратковременного и длительного кормления высокожировой диетой в сочетании с однократным или многократным введением этанола [54]. Мышам *C57BL/6J* давали HFD в течение 3 дней, а затем вводили однократную дозу этанола (5 г/кг) или декстрин-мальтозы через зонд. Было выявлено, что даже 3-дневное назначение HFD усиливает повреждающее действие этанола. Длительное кормление высокожировой диетой в течение 3 месяцев, а затем однократная доза этанола приводит к еще более сильному воспалению и стеатозу печени; алкоголь стимулирует экспрессию CXCL1/IL-8, увеличивая нейтрофильную инфильтрацию. Экспериментальные модели поражения печени при комбинированном воздействии этиологических факторов у грызунов включают также генетические модели НАЖБП в сочетании с потреблением этанола. Генетическое ожирение у лабораторных животных достигается путем мутаций в генах, регулирующих метаболизм, аппетит и чувствительность к инсулину [55].

С одной стороны, такие модели имеют преимущество, поскольку позволяют сократить время на форми-

рование патологии. При этом они не отражают влияние специфических генетических вариантов, предрасполагающих к развитию НАЖБП и метаболически ассоциированного стеатогепатита у пациентов. Установлено, что генетическая предрасположенность к жировой болезни печени у человека связана с полиморфизмами генов *PNPLA3*, *TM6SF2*, *GCKR*, *MBOAT7*, *HSD17B13*, *PPAR γ* , *IRS-1*, *PLIN2* и др. [56]. По этой причине генетические модели не получили широкого распространения в исследовательской практике.

Everitt H. et al. [57] исследовали влияние полиненасыщенных жирных кислот и хронического употребления этанола на ожирение у мышей *ob/ob*. У животных, получавших алкоголь, наблюдалось повышение уровней АЛТ/АСТ, триглицеридов и холестерина, а также экспрессии *АМФ-активируемой протеинкиназы*. Этанол также снижал уровни сиртуина-1 и фактора сплайсинга, обогащенного аргинином и серином-10, что влияло на сплайсинг липина-1, переключая его продукцию в сторону липогенеза *de novo*. Итоги исследования свидетельствуют о том, что комбинация ожирения и этанола усиливает липогенез и нарушает антиоксидантные механизмы в печени.

Carmiel-Haggai M. et al. [58] использовали крыс Zucker *fa/fa* для оценки влияния этанола на окислительный стресс. Животным вводили несколько доз 35% этилового спирта или физиологического раствора в течение трех дней. У тучных крыс этанол снижал уровни восстановленного глутатиона и повышал его окисленную форму, увеличивал экспрессию CYP2E1 и индуцибельной NO-синтазы. Также наблюдалось снижение активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы, что указывает на усиление окислительного стресса при ожирении.

Лекарственное поражение печени (ЛПП) может развиваться под действием различных лекарственных средств. Хотя общее число таких случаев невелико, именно ЛПП является одной из основных причин острой печеночной недостаточности, при этом уровень смертности может достигать 50% [59]. В исследовании Liu H. et al. было изучено поражение печени при комбинированном воздействии этиологических факторов, включающем НАЖБП и острое повреждение, индуцированное ацетаминофеном (acetaminophen – АРАР) [60]. Для анализа использовалась микрофлюидная модель «печень на чипе», позволяющая воспроизводить ключевые элементы синусоидальной микросреды и оценивать влияние свободных жирных кислот, иммунных комплексов и лекарственных агентов на клеточном уровне. Для воспроизведения патологических состояний использовались *in vivo* модели повреждения печени: инъекция АРАР индуцировала острую печеночную недо-

статочность, тогда как холиндефицитная высокожировая диета вызывала стеатогепатит. Комбинированное воздействие привело к выраженной инфильтрации печени моноцитарными макрофагами, снижению числа клеток Купфера, накоплению В- и Т-лимфоцитов, усилению пролиферации гепатоцитов и активности звёздчатых и миелоидных клеток. Эти изменения отражают сдвиг от резидентного к воспалительному иммунному профилю [60].

Лечение ланифибраном, панагонистом PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors – рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором), в условиях НАЖБП снижало воспаление и пролиферацию иммуногистохимических маркеров (IBA1⁺, B220⁺, PCNA⁺), но не влияло на активность PDGFRβ⁺ (Platelet-Derived Growth Factor Receptor Beta – рецептор фактора роста тромбоцитов β) и экспрессию CCR2/CD11b, указывая на селективный эффект на иммунный ответ. Учитывая высокую степень лейкоцитарной инфильтрации, наблюдаемую в описанных *in vivo* моделях, авторы дополнительно исследовали влияние циркулирующих иммунных клеток на первичные гепатоциты *in vitro*. Анализ показал, что данные иммунные клетки усиливают гибель клеток печени при АРАР-индуцированном повреждении и стеатоз при экспозиции свободными жирными кислотами, подтверждая синергетический эффект метаболического и токсического стресса [60].

Заключение

Экспериментальные модели поражений печени играют важную роль в изучении этиологии и патогенеза печеночной недостаточности, а также в разработке новых

терапевтических подходов. Для моделирования поражений печени используют различные методики. АБП достигается путем кормления грызунов этанолсодержащей диетой и/или инфузионным введением алкоголя. Для индукции НАЖБП широко применяют HFD, HFFD, CDAА и HFNC диеты у грызунов, моделирующие прогрессирование стеатогепатита и фиброза. Модели вирусного гепатита В можно разделить на три вида: клеточные, животные и органоидные, что обеспечивает изучение инфекции и канцерогенеза. Для воспроизведения гепатоцеллюлярной карциномы используют биомодели, химическую индукцию и ксенотрансплантаты, которые успешно применяют для тестирования новых противоопухолевых средств.

В современных реалиях большинство пациентов демонстрируют коморбидность, поэтому немаловажным становится создание моделей поражения печени, отражающих одновременное действие метаболических, токсических, а иногда и инфекционных факторов. Использование диет и периодическое введение алкоголя генетически предрасположенным к ожирению животным даёт возможность изучать взаимодействие этиологических факторов, их вклад в развитие воспаления, фиброза и канцерогенеза. Создание моделей поражения печени при воздействии изолированных и комбинированных этиологических факторов требует стандартизации, валидации и воспроизводимости в разных лабораториях. Работа в данном направлении открывает перспективы для более точного воспроизведения клинической картины соответствующих заболеваний и развития персонализированной гепатологии.

Литература

(п. п. 1-3; 5, 6, 8, 10-60 см. References)

- Сандлер Ю.Г., Винницкая Е.В., Гендриксон Л.Н., и др. Аутоиммунный гепатит: как избежать ошибки? *Доктор.Ру*. 2017; 2(131): 15–21.
- Крылов Д.П., Родимова С.А., Карабут М.М., Кузнецова Д.С. Экспериментальные модели для изучения структурно-функционального состояния патологической печени (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2023; 15(4): 65. <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.4.06>
- Мазеркина И.А. Оценка лекарственной гепатотоксичности *in vitro* на клеточных моделях (обзор). *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023; 11(2): 131–44. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-2-351>

References

- Maiers J., Malhi H. Endoplasmic reticulum stress in metabolic liver diseases and hepatic fibrosis. *Semin Liver Dis*. 2019; 39(2): 235–48. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1681032>
- Devarbhavi H., Asrani S.K., Arab J.P., et al. Global burden of liver disease: 2023 update. *J Hepatol*. 2023; 79(2): 516–37. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.03.017>
- Cheemerla S., Balakrishnan M. Global Epidemiology of Chronic Liver Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021; 4; 17(5): 365–70. <https://doi.org/10.1002/cld.1061>
- Sandler YU.G., Vinnickaya E.V., Gendrikson L.N., Hajmenova T.YU. i dr. Autoimmunnyj gepatit: kak izbezhat' oshibki? *Doktor. Ru*. 2017; 2(131): 15–21. (In Russian)

5. Altamirano J., Miquel R., Katoonizadeh A., et al. A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*. 2014; 146(5): 1231–39. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.018>
6. Thompson W.L., Takebe T. Human liver model systems in a dish. *Dev Growth Differ*. 2021; 63(1): 47–58. <https://doi.org/10.1111/dgd.12708>
7. Krylov D.P., Rodimova S.A., Karabut M.M., Kuznetsova D.S. Experimental models for studying structural and functional state of the pathological liver (review). *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2023; 15(4): 65. <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.4.06> (In Russian)
8. Akhtar A. The flaws and human harms of animal experimentation. *Camb Q Healthc Ethics*. 2015; 24(4): 407–19. <https://doi.org/10.1017/s0963180115000079>
9. Mazerkina I.A. Ocenka lekarstvennoj gepatotoksichnosti *in vitro* na kletochnyh modelyah (obzor). *Bezopasnost' i risk farmakoterapii*. 2023; 11(2): 131–44. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-2-351> (In Russian)
10. Aoudjehane L., Gautheron J., Goff W.L., et al. Novel Defatting Strategies Reduce Lipid Accumulation in Primary Human Culture Models of Liver Steatosis. *Dis. Model. Mech*. 2020; 13. <https://doi.org/10.1242/dmm.042663>
11. Gómez-Lechón M.J., Donato M.T., Castell J.V., Jover R. Human Hepatocytes as a Tool for Studying Toxicity and Drug Metabolism. *Current Drug Metabolism*. 2003; 4: 292–312. <https://doi.org/10.2174/1389200033489424>
12. Wilkening S., Stahl F., Bader A. Comparison of Primary Human Hepatocytes and Hepatoma Cell Line Hepg2 with Regard to Their Biotransformation Properties. *Drug Metabolism and Disposition*. 2003; 31: 1035–42. <https://doi.org/10.1124/dmd.31.8.1035>
13. Zeilinger K., Freyer N., Damm G., et al. Cell Sources for *in Vitro* Human Liver Cell Culture Models. *Experimental Biology and Medicine*. 2016; 241: 1684–98. <https://doi.org/10.1177/1535370216657448>
14. Segovia-Zafra A., Di Zeo-Sánchez D.E., López-Gómez C., et al. Preclinical models of idiosyncratic drug-induced liver injury (iDILI): moving towards prediction. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021; 11(12): 3685–726. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.11.013>
15. Sison-Young R.L., Mitsa D., Jenkins R.E., et al. Comparative Proteomic Characterization of 4 Human Liver-Derived Single Cell Culture Models Reveals Significant Variation in the Capacity for Drug Disposition, Bioactivation, and Detoxication. *Toxicological Sciences*. 2015; 147(2): 412–24. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv136>
16. Hu C., Li L. *In Vitro* Culture of Isolated Primary Hepatocytes and Stem Cell-Derived Hepatocyte-like Cells for Liver Regeneration. *Protein Cell*. 2015; 6: 562–74. <https://doi.org/10.1007/s13238-015-0180-2>
17. Imagawa K., Takayama K., Isoyama S., et al. Generation of a bile salt export pump deficiency model using patient-specific induced pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells. *Scientific Reports*. 2017; 7: 41806. <https://doi.org/10.1038/srep41806>
18. Polli J.E. *In vitro* studies are sometimes better than conventional human pharmacokinetic *in vivo* studies in assessing bioequivalence of immediate-release solid oral dosage forms. *AAPS J*. 2008; 10(2): 289–99. <https://doi.org/10.1208/s12248-008-9027-6>
19. Gamboa J.M., Leong K.W. *In vitro* and *in vivo* models for the study of oral delivery of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013; 15; 65(6): 800–10. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.01.003>
20. Mackowiak B., Fu Y., Maccioni L., Gao B. Alcohol-associated liver disease. *J Clin Invest*. 2024; 1; 134(3): 176345. <https://doi.org/10.1172/JCI176345>
21. Rastovic U., Bozzano S.F., Riva A., et al. Human Precision-Cut Liver Slices: A Potential Platform to Study Alcohol-Related Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 21; 25(1): 150. <https://doi.org/10.3390/ijms25010150>
22. Khanova E., Wu R., Wang W., et al. Pyroptosis by caspase11/4-gasdermin-D pathway in alcoholic hepatitis in mice and patients. *Hepatology*. 2018; 67(5): 1737–53. <https://doi.org/10.1002/hep.29645>
23. Bertola A., Mathews S., Ki S.H., et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model). *Nature Protocols*. 2013; 8(3): 627–37. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.032>
24. Tsukamoto H., French S.W., Rektelberger R.D., Largman C. Cyclical pattern of blood alcohol levels during continuous intragastric ethanol infusion in rats. *Alcohol: Clinical & Experimental Research*. 1985; 9(1): 31–7. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1985.tb05046x>
25. Nawroth J.C., Petropolis D.B., Manatakis D.V., et al. Modeling Alcohol-Associated Liver Disease in a Human Liver-Chip. *Cell Rep*. 2021; 36(3): 109393. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109393>
26. Dewyse L., Reynaert H., van Grunsven L.A. Best Practices and Progress in Precision-Cut Liver Slice Cultures. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(13): 7137. <https://doi.org/10.3390/ijms22137137>
27. de Graaf I.A., Olinga P., de Jager M.H., et al. Preparation and incubation of precision-cut liver and intestinal slices for application in drug metabolism and toxicity studies. *Nature Protocols*. 2010; 5(9): 1540–51. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.111>
28. Thandra K.C., Barsouk A., Saginala K., et al. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease and risk of hepatocellular carcinoma progression. *Clinical and Experimental Hepatology*. 2020; 6(4): 289–94. <https://doi.org/10.5114/ceh.2020.102153>
29. Basaranoglu M., Neuschwander-Tetri B.A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Clinical Features and Pathogenesis. *Gastroenterol Hepatol (NY)*. 2006; 2(4): 282–91.
30. Hansen B.C., Liang Z., Sun F., et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in obese rhesus monkeys provides the first animal model that accurately reflects the human condition. *FASEB J* 2017; 31(S1): 895.6–895.6. https://doi.org/10.1096/fasebj.31.1_supplement.895.6
31. Cao L., Xu E., Zheng R., et al. Traditional Chinese medicine Lingguizhugan decoction ameliorate HFD-induced hepatic-lipid deposition in mice by inhibiting STING-mediated inflammation in macrophages. *Chin Med*. 2022; 17(1): 7. <https://doi.org/10.1186/s13020-021-00559-3>
32. Fang T., Wang H., Pan X., et al. Mouse models of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): pathomechanisms and pharmacotherapies. *International Journal of Biology Sciences*. 2022; 18(15): 5681–97. <https://doi.org/10.7150/ijbs.65044>
33. Ishimoto T., Lanasa M.A., Rivard C.J., et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology*. 2013; 58(5): 1632–43. <https://doi.org/10.1002/hep.26594>
34. Lefere S., Puengel T., Hundertmark J., et al. Differential effects of selective- and pan-PPAR agonists on experimental steatohepatitis and hepatic macrophages. *J Hepatol*. 2020; 73(4): 757–70. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.04.025>

35. Du Y., Broering R., Li X., et al. *In Vivo* Mouse Models for Hepatitis B Virus Infection and Their Application. *Front Immunol.* 2021; 12: 766534. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.766534>
36. Dong R., Zhang B., Zhang X. Liver organoids: an *in vitro* 3D model for liver cancer study. *Cell Biosci.* 2022; 12(1): 152. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00890-8>
37. Xu R., Hu P., Li Y., et al. Advances in HBV infection and replication systems *in vitro*. *Virol J.* 2021; 18(1): 105. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01580-6>
38. De Crignis E., Hossain T., Romal S., et al. Application of human liver organoids as a patient-derived primary model for HBV infection and related hepatocellular carcinoma. *Elife.* 2021; 10: e60747. <https://doi.org/10.7554/eLife.60747>
39. Feng F., Zhao Y. Hepatocellular Carcinoma: Prevention, Diagnosis, and Treatment. *Medical Principles and Practice.* 2024; 33(5): 414–23. <https://doi.org/10.1159/000539349>
40. Sundi P.R.I.O., Thipe V.C., Omar M.A., et al. Preclinical human and murine models of hepatocellular carcinoma (HCC). *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2024; 48(7): 102418. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2024.102418>
41. Li G., Liu D., Cooper T.K., et al. Successful chemoimmunotherapy against hepatocellular cancer in a novel murine model. *J Hepatol.* 2017; 66(1): 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.07.044>
42. Blidisel A., Marcovici I., Coricovac D., et al. Experimental Models of Hepatocellular Carcinoma—A Preclinical Perspective. *Cancers (Basel).* 2021; 13(15): 3651. <https://doi.org/10.3390/cancers13153651>
43. Asrani S.K., Devarbhavi H., Eaton J., Kamath P.S. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol.* 2019; 70: 151–71. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.014>
44. Kalligeros M., Vassilopoulos A., Vassilopoulos S., et al. Prevalence of Steatotic Liver Disease (MASLD, MetALD, and ALD) in the United States: NHANES 2017–2020. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2024; 22(6): 1330–1332.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2023.11.003>
45. Buyco D.G., Martin J., Jeon S., et al. Experimental models of metabolic and alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2021; 27(1): 1–18. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i1.1>
46. Genchi V.A., Cignarelli A., Sansone A., et al. Understanding the Role of Alcohol in Metabolic Dysfunction and Male Infertility. *Metabolites.* 2024; 14(11): 626. <https://doi.org/10.3390/metabo14110626>
47. Hwang S., Ren T., Gao B. Obesity and binge alcohol intake are deadly combination to induce steatohepatitis: A model of high-fat diet and binge ethanol intake. *Clin Mol Hepatol.* 2020; 26(4): 586–94. <https://doi.org/10.3350/cmh.2020.0100>
48. Cao P., Chao X., Ni H.M., Ding W.X. An Update on Animal Models of Alcohol-Associated Liver Disease. *Am J Pathol.* 2025; S0002-9440(25): 00032-X. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2024.11.011>
49. Schonfeld M., O'Neil M., Villar M.T., et al. A Western diet with alcohol in drinking water recapitulates features of alcohol-associated liver disease in mice. *Alcohol: Clinical & Experimental Research* 2021; 45(10): 1980–93. <https://doi.org/10.1111/acer.14700>
50. Benedé-Ubieto R., Estévez-Vázquez O., Guo F., et al. An Experimental DUAL Model of Advanced Liver Damage. *Hepatology Communications.* 2021; 5(6): 1051–68. <https://doi.org/10.1002/hep4.1698>
51. Correnti J., Lin C., Brettschneider J., et al. Liver-specific ceramide reduction alleviates steatosis and insulin resistance in alcohol-fed mice. *Journal of Lipid Research.* 2020; 61(7): 983–94. <https://doi.org/10.1194/jlr.ra119000446>
52. Wang Y., Seitz H.K., Wang X.D. Moderate alcohol consumption aggravates high-fat diet induced steatohepatitis in rats. *Alcohol: Clinical & Experimental Research.* 2010; 34: 567–73. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01122.x>
53. Sengupta M., Abuirqeba S., Kameric A., et al. A two-hit model of alcoholic liver disease that exhibits rapid, severe fibrosis. *PLoS One.* 2021; 16(3): e0249316. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249316>
54. Chang B., Xu M.J., Zhou Z., et al. Short- or long-term high-fat diet feeding plus acute ethanol binge synergistically induce acute liver injury in mice: an important role for CXCL1. *Hepatology.* 2015; 62(4): 1070–85. <https://doi.org/10.1002/hep.27921>
55. Suriano F., Vieira-Silva S., Falony G., et al. Novel insights into the genetically obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice: two sides of the same coin. *Microbiome.* 2021; 9(1): 147. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01097-8>
56. Buyco D.G., Martin J., Jeon S., et al. Experimental models of metabolic and alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2021; 27(1): 1–18. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i1.1>
57. Everitt H., Hu M., Ajmo J.M., et al. Ethanol administration exacerbates the abnormalities in hepatic lipid oxidation in genetically obese mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2013; 304: 38–47. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00309.2012>
58. Carmiel-Haggai M., Cederbaum A.I., Nieto N. Binge ethanol exposure increases liver injury in obese rats. *Gastroenterology.* 2003; 125: 1818–33. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2003.09.019>
59. Hosack T., Damry D., Biswas S. Drug-induced liver injury: a comprehensive review. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2023; 16: 17562848231163410. <https://doi.org/10.1177/17562848231163410>
60. Liu H., Yin G., Kohlhepp M.S., et al. Dissecting Acute Drug-Induced Hepatotoxicity and Therapeutic Responses of Steatotic Liver Disease Using Primary Mouse Liver and Blood Cells in a Liver-On-A-Chip Model. *Advanced Science (Weinh).* 2024; 11(30): 2403516. <https://doi.org/10.1002/advs.202403516>

Сведения об авторах:

Фоминых Юлия Александровна, доктор мед. наук, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, проф. каф. факультетской терапии им. В.А. Вальдмана ФГБОУ ВО СПбГПМУ МЗ РФ, e-mail: jaf@mail.ru

Наджафова Кямяля Низамитдиновна, канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутренних болезней с клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: kyamalyok@yandex.ru

Жданова Ирина Алексеевна, ординатор 2-го года по специальности «Гастроэнтерология» каф. пропедевтики внутренних болезней с клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: irina251200@mail.ru

Молчанова Марина Сергеевна, студентка 5 курса лечебного факультета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: screatqma@yandex.ru

Сонин Дмитрий Леонидович, зав. НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда Института экспериментальной медицины НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ РФ, e-mail: sonin_dl@almazovcentre.ru

Галагудза Михаил Михайлович, доктор мед. наук, проф., член-корреспондент и проф., директор Института экспериментальной медицины, зав. каф. патологической физиологии Института медицинского образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: galagoudza@mail.ru

© Коллектив авторов, 2025
УДК 616-092

Лямина С.В., Калиш С.В., Кожевникова Е.О., Кадымов Л.В.

Патогенетическое значение и преимущества таргетирования макрофагов при хроническом воспалении, ассоциированном со старением

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 127006, Москва, ул. Долгоруковская, д. 4

Обзор посвящен анализу патогенетического значения макрофагов в развитии хронического воспаления, ассоциированного со старением (инфламейджинг), и обоснованию перспектив таргетирования макрофагов для коррекции возраст-ассоциированных заболеваний. Авторами выполнен несистематический обзор научной литературы международных баз данных The Lens, PubMed, Medline, Cochrane по рассматриваемой тематике с глубиной поиска 15 лет (2010 – 2024 гг.). Макрофаги играют ключевую роль в патогенезе инфламейджинга, взаимодействуя с сенесцентными клетками через механизмы секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP). Выявлено, что компоненты SASP (IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β) модулируют поляризацию макрофагов через STAT3/NF- κ B-пути, способствуя формированию функционального континуума макрофагальных фенотипов, включающего, в том числе, особые, ассоциированные с сенесцентностью, фенотипы. Установлено, что сенесцентные клетки изменяют ключевые, обеспечивающие гомеостаз организма функции макрофагов (фагоцитоз, эффероцитоз, аутофагия) через экспрессию CD47, CD24 и активацию JAK/STAT3-каскада, что формирует «порочный круг» инфламейджинга. Определены перспективные терапевтические стратегии таргетирования макрофагов: модуляция поляризации, клеточная терапия (трансплантация аутологичных макрофагов, CAR-макрофаги), воздействие на митохондриальный метаболизм и редокс-сигнализацию. Таким образом, участие в регуляции воспалительных процессов и высокая фенотипическая пластичность клеток позволяют рассматривать макрофаги как ключевой патогенетический таргет при инфламейджинге. Терапевтические подходы, направленные на коррекцию нарушенных функций макрофагов, открывают новые перспективы для профилактики и лечения возраст-ассоциированных заболеваний.

Ключевые слова: инфламейджинг; макрофаги; поляризация; клеточная сенесценция; SASP; фагоцитоз; эффероцитоз; таргетная терапия

Для цитирования: Лямина С.В., Калиш С.В., Кожевникова Е.О., Кадымов Л.В. Патогенетическое значение и преимущества таргетирования макрофагов при хроническом воспалении, ассоциированном со старением. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 168–181.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.168-181

Участие авторов: формулирование идеи, разработка методологии исследования, сбор, анализ и систематизация данных – Лямина С.В. Подготовка текста рукописи, оформление текста рукописи, работа с графическим материалом – Кожевникова Е.О. Редактирование текста – Калиш С.В., Кадымов Л.В. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Лямина Светлана Владимировна, доктор мед. наук, заведующий лабораторией молекулярной патологии пищеварения научно-исследовательского центра биомедицинских исследований, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» МЗ РФ, e-mail: svlvs@mail.ru

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России в рамках реализации научной тематики кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии, научно-исследовательского центра биомедицинских исследований.

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

Поступила 27.05.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Lyamina S.V., Kalish S.V., Kozhevnikova E.O., Kadimov L.V.

Pathogenetic significance and benefits of macrophage targeting in aging-associated chronic inflammation

Federal state budgetary educational institution of higher education «Russian university of medicine» of the ministry of health of the Russian Federation, building 4, Dolgorukovskaya st., Moscow, 127006, Russian Federation

The review is devoted to the analysis of the pathogenetic significance of macrophages in the development of chronic inflammation associated with aging (inflammaging) and the substantiation of the prospects for targeting macrophages for the correction of age-associated diseases. The authors performed a non-systematic review of the scientific literature, including 176 sources from the international databases Lens, PubMed, Medline, and Cochrane on the topic under consideration, with a search depth of 15 years (2010–2024). Macrophages play a key role in the pathogenesis of inflammation, interacting with senescent cells through the mechanisms of the secretory phenotype associated with aging (SASP). It was revealed that SASP components (IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β) modulate macrophage polarization via STAT3/NF- κ B pathways, contributing to the formation of a functional continuum of macrophage phenotypes, including special senescence-associated phenotypes. It was established that senescent cells alter key functions of macrophages that ensure body homeostasis (phagocytosis, efferocytosis, autophagy) via expression of CD47, CD24, and activation of the JAK/STAT3 cascade, which forms a «vicious circle» of inflammaging. Promising therapeutic strategies for targeting macrophages have been identified: polarization modulation, cell therapy (autologous macrophage transplantation, CAR macrophages), effects on mitochondrial metabolism, and redox signaling. Thus, participation in the regulation of inflammatory processes and high phenotypic plasticity of cells allow us to consider macrophages as a key pathogenetic target in inflammaging. Therapeutic approaches aimed at correcting impaired functions of macrophages open up new prospects for the prevention and treatment of age-associated diseases.

Keywords: inflammaging; macrophages; polarization; cellular senescence; SASP; phagocytosis; efferocytosis; targeted therapy

For citation: Lyamina S.V., Kalish S.V., Kozhevnikova E.O., Kadimov L.V. Pathogenetic significance and benefits of macrophage targeting in aging-associated chronic inflammation. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 168–181 (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.168-181

Author's contribution: Formulation of the idea, development of the research methodology, collection, analysis and systematization of data – Lyamina S.V. Preparation of the manuscript text, design of the manuscript text, work with graphic material – Kozhevnikova E.O. Editing the text – Kalish S.V., Kadimov L.V. Approval of the final version of the article – all authors.

For correspondence: **Lyamina Svetlana Vladimirovna**, doctor of medical sciences, head of the laboratory of molecular pathology of digestion of the research center for biomedical research, professor of the department of propaedeutics of internal medicine and gastroenterology, FSBEI HE "RosUniMed" of MOH of Russia, Moscow, Russia, sylvvs@mail.ru

Information about authors:

Lyamina S.V., <https://orcid.org/0000-0001-8300-8988>

Kalish S.V., <https://orcid.org/0000-0002-2781-9396>

Kozhevnikova E.O., <https://orcid.org/0009-0006-5603-8712>

Kadimov L.V., <https://orcid.org/0009-0009-6050-6541>

Financing. The work was carried out with the financial support of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Russian University of Medicine" of the Ministry of Health of the Russian Federation within the framework of the implementation of the scientific topics of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Gastroenterology, the Research Center for Biomedical Research.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Received 27.05.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Постоянное совершенствование и развитие медицинских технологий в значительной степени способствуют увеличению средней продолжительности жизни во всем мире. По прогнозам, к 2050 году численность населения мира в возрасте 60 лет и старше достигнет 2,1 миллиарда человек [1]. Эта демографическая трансформация неизбежно ставит острые вопросы перед системой здравоохранения. Физиологические и патологические изменения, связанные со старением – постепенным и многогранным процессом, характеризующимся изменениями на органном, тканевом, клеточном и молекулярном уровнях, – определяют необходимость поиска критических точек вмешательства для облегчения бремени, связанного с возникновением и прогрессированием возраст-зависимых состояний и заболеваний, а также их осложнений. В последние годы особое внимание уделяется системным факторам, способствующим развитию хронического воспаления при старении, среди которых всё большее значение приобретает состояние кишечной микробиоты и её метаболитов. Нарушения состава микробиоты, повышение кишечной проницаемости и связанное с этим поступление бактериальных липополисахаридов в системный кровоток рассматриваются как одни из ключевых механизмов индукции системного воспаления и ускорения процессов старения, что подтверждается современными исследованиями [2].

В процессе старения одним из значимых факторов считается накопление клеток, переходящих в состояние сенесцентности, что способствует развитию хронического слабовыраженного системного воспаления, известного как инфламейджинг (от англ. термина «inflammaging» [3]). Очевидно, что накопление сенесцентных клеток с изменением функциональной активности способствует нарушению регуляции гомеостаза как на уровне отдельных органов и тканей, так и в организме в целом и может приводить к развитию и прогрессированию возраст-ассоциированных заболеваний [4]. Структурирование и более глубокое понимание этих изменений и их последствий необходимо для предупреждения прогрессирования возраст-ассоциированного воспаления и связанных с ним патологий. В качестве основного фактора, способствующего снижению выраженности воспаления или усугубляющего его, выступают макрофаги [5].

Уже доказано, что макрофаги способны динамически регулировать течение воспалительных реакций, что обусловлено их высокой функциональной и фенотипической пластичностью. Свойство пластичности позволяет им адаптироваться к различному микроокружению и изменять свой функционал, в том числе фагоцитарную и секретор-

ную активность, а также участие в ремоделировании тканей. В дополнение к удалению из тканей повреждённых клеток, согласно недавно полученным данным, макрофаги могут очищать поврежденные клеточные компоненты от субклеточных частиц и экзосом для сохранения тканевого гомеостаза [6]. Способность макрофагов динамически переключаться между полярными состояниями макрофагального функционального континуума – провоспалительным (M1) и противовоспалительным (M2) – играет решающую роль в поддержании гомеостаза и определяет выбор подходов к коррекции воспаления. Накопление сенесцентных клеток в различных органах и тканях создает предпосылки для формирования ими секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (англ. «senescence-associated secretory phenotype», SASP), который, с учетом особенностей профилей сенесцентных клеток, выступает фактором дополнительного привлечения макрофагов и запуска «порочного круга»: сенесцентные клетки – сенесцентные макрофаги, характеризующиеся измененной поляризацией и изменением базовых функций макрофагов, составляющих основу гомеостаза организма – апоптоза, фагоцитоза, эффероцитоза. Анализ и выявление возникающих изменений представляет особую значимость для определения патогенетически значимых таргетов воздействия для контроля течения инфламейджинга [7].

Поляризация макрофагов, инфламейджинг и регуляция гомеостаза: базовые механизмы

Макрофаги – профессиональные фагоциты, участвующие в поддержании тканевого гомеостаза практически в каждом органе человеческого организма. Являясь ключевыми компонентами врожденной иммунной системы, эти клетки играют двойственную роль: с одной стороны, они участвуют в клиренсе сенесцентных клеток, с другой – их функциональность может подавляться самими сенесцентными клетками за счет трансформации макрофагального фенотипа. Основные механизмы распознавания сенесцентных клеток макрофагами включают секреторные сигналы через SASP, модификацию поверхностных маркеров клеток и прямое межклеточное взаимодействие.

SASP как сигнал рекрутирования макрофагов и фактор поляризации

SASP представляет собой комплекс провоспалительных цитокинов, хемокинов, факторов роста и протеаз, выделяемых сенесцентными клетками. Этот фенотип выполняет двойственную роль: с одной стороны, способствует элиминации повреждённых клеток через привлечение

иммунных эффекторов, с другой – поддерживает хроническое воспаление и тканевую дисфункцию. Регуляция состава SASP осуществляется на множественных уровнях, включая эпигенетические модификации, активацию сигнальных путей NF-κB и C/EBPβ, а также посттранскрипционный контроль. Важную роль играет петля положительной обратной связи, где IL-1α через активацию mTOR усиливает трансляцию SASP-компонентов, создавая самоусиливающийся провоспалительный цикл [8]. При этом длительная секреция компонентов SASP и их эффекты приводят к накоплению повреждений ДНК в соседних клетках через механизм паракринного старения, что расширяет зону сенесцентного микроокружения [9]. Рекрутирование макрофагов, ключевых участников врождённого иммунитета, регулируется SASP через несколько взаимосвязанных механизмов.

Сигналы хемокинов и привлечение моноцитов

К основным медиаторам рекрутирования макрофагов относятся хемокины и цитокины, входящие в состав SASP. SASP – гетерогенный комплекс биологически активных молекул, включающий интерлейкины (IL-6, IL-8), хемокины (CCL2, CCCL5, XCL1), факторы роста (VEGF, TGF-β) и протеазы (MMP-3, MMP-9). Интересно, что состав SASP варьирует в зависимости от типа клеток и индуцирующего стимула: например, фибробласты демонстрируют преобладание IL-6 и MMP, тогда как эндотелиальные клетки секретируют повышенные уровни CXCL1 и GM-CSF9 [9].

Среди них особо следует выделить хемокины CCL2 (MCP-1), CCL4 и CCL5 [10]. Так, CCL2 связывается с рецептором CCR2 на моноцитах крови, стимулируя их миграцию в ткани. А SASP-опосредованная секреция MIP-1β (CCL4) усиливает инфильтрацию макрофагов в жировой ткани при ожирении [11].

Очевидно, что привлечение профессиональных фагоцитов в очаг накопления сенесцентных клеток должно способствовать их элиминации, что и является одним из факторов поддержания гомеостаза в тканях: взаимодействие макрофагов с сенесцентными клетками физиологически необходимо. Например, удаление старых и стареющих эритроцитов – процесс, при котором около 2 миллионов эритроцитов перерабатываются каждую секунду для обеспечения притока железа, поддерживающего эритропоэз [12]. В экспериментальных работах также была подтверждена ключевая роль моноцитов/макрофагов в физиологическом выведении стареющих клеток в печени и эндометрии мышей [13]. В процессе старения организма удаление накапливающихся сенесцентных клеток путем фагоцитоза является хорошо известной страте-

гией противодействия их потенциальному неблагоприятному с биологической точки зрения эффекту [14]. Одним из ярких примеров является взаимодействие стареющих клеток и макрофагов при метаболических нарушениях, например, метаболическом синдроме при ожирении. Привлечение макрофагов к стареющим адипоцитам приводит к образованию «короноподобных структур» в жировой ткани, что является признаком острого воспаления [15].

Однако биологическая роль SASP неоднозначна. Одним из эффектов SASP на привлекаемые в очаг накопления сенесцентные клетки является смена профиля их поляризации. Например, для IL-6 и TGF-β, как компонентов SASP, описана способность индуцировать поляризацию макрофагов в прорегенеративный M2-фенотип, что снижает их способность к фагоцитозу [10].

Поляризация макрофагов: баланс M1 и M2

SASP выступает не только как один из механизмов, способствующих привлечению моноцитов с последующей их дифференцировкой в макрофаги, но и, учитывая высокую пластичность клеток в условиях специфического микроокружения, определяет их функциональную поляризацию. При этом установлено, что в случае тенденции к снижению выраженности SASP и возвращению к исходным уровням, макрофаги также могут корректировать свои ответы на изменения микроокружения [16].

Накопленные данные свидетельствуют о функциональной гетерогенности макрофагов и выделении двух основных клеточных субпопуляций: M1/M2 (провоспалительной/антивоспалительной), при подтвержденной возможности существования клеток в промежуточных и смешанных фенотипах, составляющих макрофагальный континуум [17]. Достижения в области мультиомиксных исследований, секвенирования РНК отдельных клеток (scRNA-seq), высокопроизводительной биологии и системной иммунологии позволили более эффективно изучать клеточное и функциональное разнообразие макрофагов, а также отслеживать динамические изменения в иммунной системе [18].

Учитывая сложную природу поляризации макрофагов *in vivo*, недавние работы по секвенированию РНК отдельных клеток (scRNA-seq) поставили под сомнение традиционную категоризацию макрофагов M1/M2. Предположительно, микроокружение сенесцентных клеток и SASP может способствовать дифференцировке макрофагов M2 на три подтипа (M2a, M2b и M2c), а также появлению дополнительных популяций резидентных макрофагов в различных тканях, включая легкие (макрофаги Lyve1lo MHCIIhi и Lyve1hi MHCIIlo) [19] и молочные железы (макрофаги Ma/Mb) [20], а также появлению ма-

крофагов, ассоциированных со старением (senescence associated macrophages, SAM) [21].

Таким образом, помимо «полярных» подтипов M1/M2, SASP может опосредовать поляризацию макрофагов в другие подтипы.

Механизмы приобретения макрофагами сенесцентных признаков

Длительное воздействие SASP и окислительного стресса приводит к накоплению повреждений ДНК в макрофагах. Активация путей p16INK4a/pRb и p53/p21, известных подтвержденных генов-регуляторов клеточного старения, наблюдается в макрофагах, подвергшихся воздействию SASP. Например, в модели старения печени у мышей макрофаги Купфера демонстрируют снижение фагоцитарной активности и увеличение экспрессии маркеров старения, таких как общепризнанный SA-β-gal [10].

Behmoaras et al. ввели термин «макрофаги, подобные стареющим», чтобы описать макрофаги в состоянии старения, отмеченном накоплением липидов, SASP и устой-

чивой реакцией на повреждение ДНК (рис. 1) [22]. Альтернативным термином для них являются макрофаги, ассоциированные со старением (senescence-associated macrophages, SAM) [21]. Подтверждено, что макрофаги, демонстрирующие остановку роста или аномальную поляризацию, вовлечены в патогенетические механизмы развития целого ряда возраст-ассоциированных заболеваний, включая атеросклероз, онкологические заболевания и дегенерацию желтого пятна [23]. Метаболические изменения также способствуют сенесценции макрофагов. Сдвиг в сторону гликолиза, характерный для M1-фенотипа, сопровождается накоплением реактивных форм кислорода (ROS), что индуцирует стресс эндоплазматического ретикулума и митохондриальную дисфункцию [10]. В условиях гипергликемии макрофаги демонстрируют повышенную экспрессию GLUT1, что усиливает их провоспалительную активность и ускоряет старение [24].

Приобретение сенесцентного фенотипа макрофагами также сопровождается снижением их функционального фагоцитарного потенциала [21, 22].

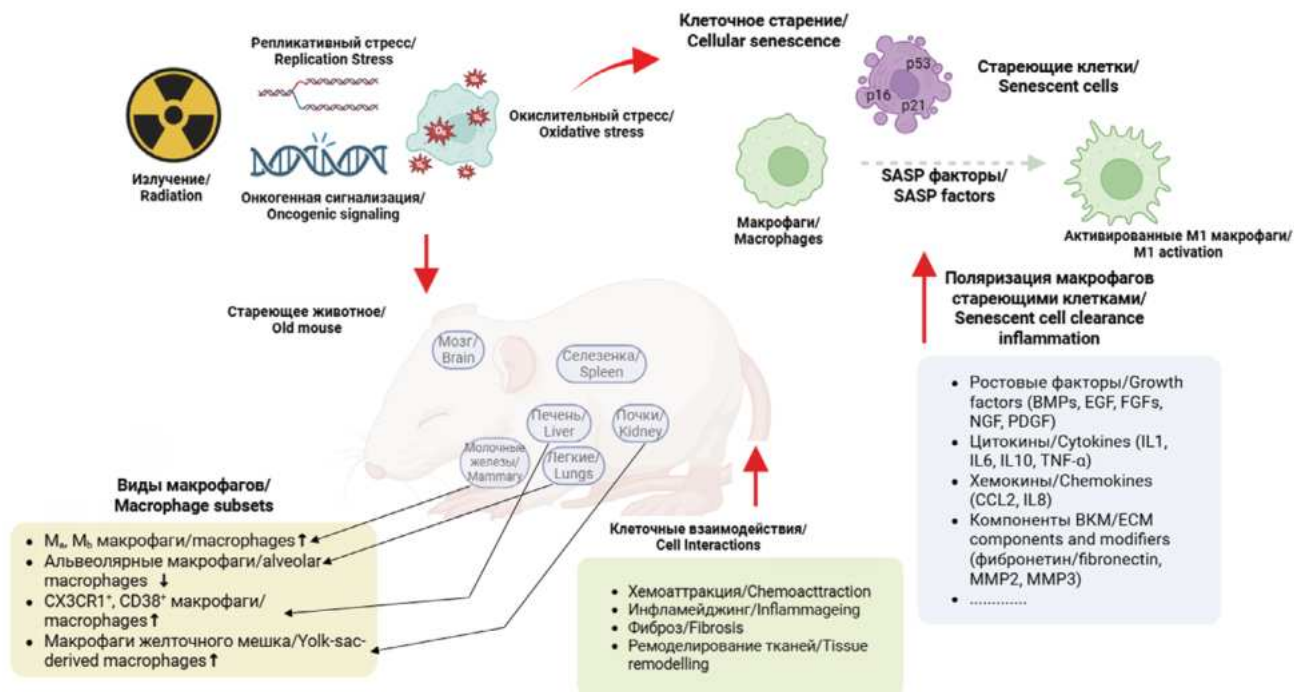


Рис. 1. Обзор индукторов старения, изменений в физиологии макрофагов и активации факторов SASP. Сокращения: BMP: костные морфогенетические белки; CCL: CC-хемокин; EGF-эпителиальный фактор роста; FGF: факторы роста фибробластов; IL: интерлейкин; MMP-матриксная металлопротеиназа; PDGF-тромбоцитарный фактор роста; SASP-секреторный фенотип, ассоциированный со старением; TNF-фактор некроза опухоли.

Fig. 1. Review of aging inducers, changes in macrophage physiology, and activation of SASP factors. Abbreviations: BMP: bone morphogenetic proteins; CCL: CC-chemokine; EGF-epithelial growth factor; FGF: fibroblast growth factors; IL: interleukin; MMP-matrix metalloproteinase; PDGF-platelet-derived growth factor; SASP-secretory phenotype associated with aging; TNF-tumor necrosis factor.

Механизмы поляризации макрофагов при контакте с SASP

Компоненты SASP модулируют поляризацию макрофагов через несколько ключевых механизмов: STAT3-зависимая регуляция: IL-6 и IL-10 активируют JAK/STAT3-путь, подавляя экспрессию IRF5 и усиливая M2-поляризацию [25]; NF-κB-опосредованная активация: TNF-α и IL-1β через рецепторы TLR4 усиливают M1-фенотип, индуцируя продукцию NO и ROS [26]; метаболическое репрограммирование: лактат из SASP ингибирует активность HDAC, усиливая экспрессию Arg1 и способствуя M2-сдвигу [27].

SASP модулирует поляризацию макрофагов через перекрестное взаимодействие сигнальных путей STAT3 и NF-κB. Провоспалительные компоненты SASP, такие как IL-6 и IL-8, активируют JAK/STAT3-каскад, что приводит к подавлению транскрипционного фактора IRF5 и усилению M2-поляризации [28]. Парадоксально, но в условиях хронического воспаления, например, при язвенном колите, активация STAT3 через IL-10/JAK1-ось демонстрирует противовоспалительный эффект, снижая экспрессию провоспалительных медиаторов [29]. Этот дуализм объясняется контекст-зависимой модуляцией фосфорилирования STAT3: в M1-макрофагах преобладает p-STAT1, тогда как в M2-фенотипе доминирует p-STAT3 [30].

NF-κB, активируемый TNF-α и DAMPs из SASP, усиливает M1-поляризацию через рекрутирование гистоновых ацетилтрансфераз к промоторам провоспалительных генов [31]. Однако при длительной экспозиции SASP наблюдается формирование гетеродимеров p50/p50 NF-κB, действующих как транскрипционные репрессоры, что способствует переходу к M2-фенотипу [30]. Ингибирование G3BP1 – белка, стабилизирующего мРНК SASP-компонентов, – подавляет NF-κB-активацию, что подтверждается снижением уровней IL-6 и MMP-9 в моделях колоректального рака [32].

Метаболическое репрограммирование через AMPK/mTOR-ось

SASP-индуцированные изменения в метаболизме макрофагов опосредованы AMPK/mTOR-сигналингом. Лактат, накапливающийся в гипоксическом микроокружении опухоли, ингибирует AMPK, что приводит к активации mTORC1 и усилению M2-поляризации через повышение экспрессии аргиназы-1 [33]. Напротив, активация AMPK/SIRT1-пути и ингибирование mTOR смещают баланс в сторону M1-фенотипа с усилением продукции NO и ROS [28].

Роль окислительного стресса и редокс-сигналикации

Компоненты SASP, такие как HMGB1 и внеклеточная митохондриальная ДНК, активируют NOX2-комплекс, генерируя супероксид-анионы. Это усиливает M1-поляризацию через NLRP3-инфламасомы, однако хронический окислительный стресс приводит к накоплению 8-оксогуанина в ДНК, активируя PARP1-зависимое истощение NAD⁺ и переход к M2-фенотипу [[8], [33]]. Ингибиторы PDE9, такие как PF-04447943, повышают внутриклеточный cGMP, подавляя продукцию ROS и способствуя рекрутированию Трег-клеток, что косвенно модулирует макрофагальную поляризацию [34].

Эпигенетическая регуляция и miRNA-сети

Важную роль в эффектах поляризации играют внеклеточные везикулы (EVs), выделяемые сенесцентными клетками. Эти везикулы содержат провоспалительные микроРНК, такие как miR-21a и miR-155, подавляющие экспрессию антиоксидантных генов (например, SIRT1) в макрофагах, активируя путь NF-κB [10]. Так, miR-155, индуцируемая IL-1β, подавляет SOCS1, усиливая STAT1-сигнализацию и M1-поляризацию. В условиях хронического SASP-воздействия происходит накопление miR-21, которая ингибирует PTEN и активирует PI3K/Akt/mTOR-путь, что способствует поляризации в сторону M2-фенотипа [31]. В экспериментах с RAW 264.7 макрофагами показано, что сенесцентные EVs увеличивают продукцию IL-1β и TNF-α, усиливая воспалительный ответ [35].

Особый интерес представляют факторы, способные оказывать двойственный эффект на поляризацию макрофагов в условиях SASP. Так, TGF-β из SASP демонстрирует двунаправленный эффект: низкие концентрации стимулируют поляризацию M2 через Smad3, тогда как высокие дозы индуцируют апоптоз макрофагов через ROS-зависимые механизмы [8]. Показано, что TGF-β в сочетании с IL-10, также секретируемый сенесцентными клетками, индуцирует переход в M2-фенотип, ассоциированный с репарацией тканей и иммуносупрессией [10]. С другой стороны, TGF-β1, секретируемый сенесцентными альвеолоцитами второго типа, индуцирует экспрессию PAI-1 и p16, что не только усиливает старение самих эпителиальных клеток, но и стимулирует макрофаги секретировать IL-4 и IL-13, способствующие фиброзу [34].

Очевидно, что различные типы макрофагов играют специфические роли на разных этапах старения организма. Учитывая, что поляризация макрофагов и формирование профиля их функциональной активности является сложным процессом, и пути, через которые эти

клетки участвуют в регуляции старения, пока остаются не до конца изученными. Выяснение особенностей макрофагальных субпопуляций на различных этапах старения может иметь ключевое значение для профилактики и лечения возраст-ассоциированных заболеваний.

Двойственная роль SASP в иммунном надзоре. «Порочный круг» инфламейджинга

Несмотря на то, что SASP изначально эволюционировал как механизм привлечения иммунных клеток для удаления повреждённых элементов, его хроническая активация приводит к парадоксальным эффектам.

В опухолях провоспалительные компоненты SASP (например, VEGF) стимулируют ангиогенез, а IL-6 и IL-8 способствуют эпителиально-мезенхимальному переходу, усиливая метастазирование. При этом в условиях старения накопление M2-макрофагов, индуцированное TGF- β из SASP, снижает эффективность фагоцитоза, способствуя персистенции сенесцентных клеток [36].

Очевидно, что взаимодействие сенесцентных клеток и макрофагов формирует порочный круг. С одной стороны, SASP привлекает и активирует макрофаги, которые также приобретают сенесцентный фенотип, а с другой – сенесцентные макрофаги сами становятся источником провоспалительных медиаторов. Ингибирование фагоцитарной активности макрофагов через механизмы SCES (senescent cell-engulfment suppression) усугубляет ситуацию. Экспрессия CD47 и CD24 на сенесцентных клетках подавляет активность рецепторов SIRP α и Siglec-10 на макрофагах, что блокирует их способность к клиренсу стареющих клеток [10]. Это приводит к накоплению сенесцентных элементов в тканях и развитию персистирующего хронического неспецифического воспаления, ассоциированного со старением. Например, в модели рака легких у мышей сенесцентные макрофаги секретируют EVs, обогащенные miR-132, которые подавляют апоптоз опухолевых клеток [35]. Совокупность этих процессов способствует хроническому воспалению и фиброзу. Например, в легких сенесцентные альвеолярные клетки типа II через секрецию IL-13 активируют альвеолярные макрофаги, что стимулирует отложение коллагена и прогрессирование идиопатического легочного фиброза [37]. В почках накопление сенесцентных макрофагов коррелирует с гломерулосклерозом и снижением функции нефронов [10].

Еще одной значимой особенностью эффектов накопления сенесцентных клеток и фенотипической поляризации макрофагов является тканеспецифичность.

Эффекты SASP варьируются в зависимости от тканевого контекста. Например, в печени SASP-ассоциированный CD68 маркирует активированные макрофаги, уча-

ствующие в регенерации, тогда как в лёгких преобладание CD163+ M2-клеток коррелирует с фиброзом. В жировой ткани ожирение усиливает экспрессию Siglec-10 на макрофагах, который связывается с CD24 на сенесцентных адипоцитах, подавляя их элиминацию [11]. Эти данные подчеркивают, что SASP не является статичным набором молекул, а динамически адаптируется под влиянием микроокружения и контекста.

Таким образом, SASP можно рассматривать в качестве ключевого фактора взаимодействия сенесцентных клеток с иммунной системой, модулирующего рекрутирование, активацию и функциональную поляризацию макрофагов, что определяет дальнейший патогенез возраст-ассоциированных заболеваний. Однако роль SASP в патогенезе заболеваний определяется балансом между провоспалительными и иммуносупрессивными компонентами, что открывает перспективы для таргетной терапии, направленной на селективную коррекцию SASP и макрофагов как ключевых воспринимающих клеток.

Ключевые механизмы поддержания гомеостаза/развития воспаления при взаимодействии макрофагов и сенесцентных клеток

Современные исследования выявили сложную динамику взаимодействия между сенесцентными клетками и макрофагами, играющую критическую роль в поддержании тканевого гомеостаза и развитии воспалительных процессов. Накопление сенесцентных клеток, характерное для старения и развития возраст-ассоциированных заболеваний, приводит к нарушениям фагоцитоза, апоптоза и эффероцитоза макрофагов. Эти изменения становятся критическими факторами в развитии хронических воспалительных процессов, фиброза и онкологических заболеваний при старении [38].

Фагоцитоз

Здоровье пожилых людей неразрывно связано с функциональностью их иммунной системы, которая не только влияет на их способность сопротивляться апоптозу, но и выступает в качестве первоначальной линии защиты от действия патогенов. Старение макрофагов, характеризующееся снижением фагоцитарных возможностей, лежит в основе как клеточного старения, так и иммуно-сенесценса. Предполагается, что при накоплении сенесцентных клеток происходит индукция апоптоза, иницирующая процесс фагоцитоза стареющих клеток [39].

Показано, что сенесцентные клетки преимущественно экспрессируют специфические антигены клеточной поверхности, позволяющие отличить их от зрелых кле-

ток и распознавать естественными антителами (т.е. IgM), что позволяет макрофагам фагоцитировать и удалять их. Ключевым механизмом снижения фагоцитарной активности, помимо смещения баланса поляризации макрофагов в сторону M2 – фенотипа под влиянием компонентов SASP, является увеличение экспрессии CD47 на поверхности сенесцентных клеток. CD47 взаимодействует с рецептором SIRP α на макрофагах, передавая сигнал «не ешь меня», что блокирует поглощение как апоптотических телец, так и патогенов [38, 39]. Интересно, что в эпителиальных сенесцентных клетках наблюдается компенсаторное повышение CD24, который связывается с Siglec-10 на макрофагах, усиливая ингибиторный сигнал [38].

Важным аспектом является также пространственная организация фагоцитоза. Например, в 3D-культурах клеток рака предстательной железы искусственно сгенерированный M3 фенотип макрофагов теряет способность ингибировать пролиферацию опухолевых клеток, в отличие от 2D-условий [40]. Это указывает на то, что возрастные изменения внеклеточного матрикса и потеря тканевой архитектоники могут дополнительно подавлять противоопухолевые функции макрофагов.

Стоит отметить, что M2-поляризация не всегда ассоциирована с утратой защитных функций. Так, при церебральном инсульте трансплантация M2-подобных макрофагов приводила к улучшению неврологических функций за счет секреции нейротрофических факторов и усиления ангиогенеза [8]. Однако в контексте хронического возраст-ассоциированного воспаления преобладание M2-фенотипа создает условия для персистенции патогенов, о чём свидетельствуют данные по бактериальным инфекциям легких, где M2-макрофаги способствуют переходу острого воспаления в хроническую форму [18].

Таким образом, возрастная поляризация макрофагов представляет собой динамический процесс, регулируемый как внутренними (эпигенетические изменения, накопление повреждений ДНК), так и внешними факторами (SASP-опосредованное микроокружение). Восстановление фагоцитарной активности требует селективной модуляции сигнальных путей, таких как, например, ингибирование STAT3/STAT6, что подтверждается экспериментами по созданию гибридного M3-фенотипа [40].

Эффероцитоз

Миллиарды ежедневно обновляемых клеток организма человека постоянно фагоцитируются макрофагами. Это непрерывный процесс защиты организма от преждевременного старения и разрешения физиологических и патологических состояний путем удаления апоптотических и стареющих клеток. Эффероцитоз – критический

процесс поддержания тканевого гомеостаза, нарушение которого ведёт к накоплению клеточного дебриса и аутоиммунным реакциям [41]. При старении сенесцентные клетки подавляют эту функцию через контакт-зависимые механизмы. Например, в экспериментальных работах было показано, что кокультивирование макрофагов с сенесцентными фибробластами снижает поглощение апоптотических Jurkat-клеток на 40–60% за счет активации сигнального пути SIRP α -CD47-SHP-1. Ингибирование QPCT/L – ферментов, модифицирующих CD47, – восстанавливает способность макрофагов к эффероцитозу, что подтверждается экспериментами с ингибитором SEN177. Также необходимо отметить особую значимость размеров крупных сенесцентных клеток, поскольку это создаёт физический барьер для их фагоцитоза. Макрофаги, сталкиваясь с такими клетками, формируют поликарионы, но не способны завершить процесс поглощения [38]. Кроме того, SASP-опосредованная секреция TNF- α макрофагами индуцирует апоптоз сенесцентных фибробластов, однако последующие этапы их удаления также нарушаются из-за подавления фагоцитарных рецепторов [39].

Отдельные макрофаги обладают способностью интернализировать несколько стареющих клеток в течение последовательных раундов поглощения, что представляет собой процесс непрерывного эффероцитоза. Это может быть критически важно в случае численного преимущества апоптотических клеток над количеством макрофагов. Пролиферация макрофагов, вызванная эффероцитозом, в свою очередь, приводит к секреции противовоспалительных цитокинов, включая TGF- β и IL-10, что расширяет пул макрофагов противовоспалительного M2 фенотипа [42].

Аутофагия

Фагоцитоз и созревание фагосом являются основными физиологическими процессами в многоклеточных организмах. Стареющие клетки имеют расширенный лизосомный компартмент, связанный с увеличением числа лизосом и дифференциацией моноцитов и макрофагов. Различные стрессовые состояния способны вызывать аутофагию – процесс, при котором цитоплазматические компоненты разрушаются лизосомами. Активность бета-галактозидазы, связанной со старением (SA- β -gal, кодируемой геном GLB1), широко признана в качестве маркера старения и заметно повышается в стареющих клетках из-за увеличения уровня лизосом [43].

Нарушение аутофагии в стареющих макрофагах усугубляет накопление поврежденных органелл и белков, усиливая окислительный стресс. Это, в свою очередь, активирует NLRP3-инфламасому и секрецию IL-18, что способствует хроническому воспалению [44]. Одновре-

менно снижается экспрессия рецепторов, ответственных за распознавание «ешь меня»-сигналов (например, фосфатидилсерина), что дополнительно нарушает эфферцитоз [41].

Нарушенная регуляция аутофагии связана с лизосомальными дисфункциями. В макрофагах аутофагия снижается с возрастом, усугубляя воспаление [45], тогда как восстановление способности к аутофагии делает ее многообещающей стратегией для замедления старения. Активность mTOR и аутофагия вовлечены в генерацию SASP во время старения, а также в управление созреванием макрофагов в различные фенотипы [46].

Кроме того, получены данные, позволяющие предполагать, что в процессе старения клеток ремоделирование лизосом и функции митохондрий взаимосвязаны. Изучение дисфункции митохондрий и нарушения регуляции метаболизма представляет особый интерес при изучении роли макрофагов во время старения. В стареющих клетках дефекты митохондриальных функций опосредуют пролиферацию провоспалительных макрофагов типа M1 и снижение уровня NAD⁺ в тканях [47], что приводит к индукции факторов SASP, полученных из макрофагов, посредством активации cGAS-STING (циклическая GMP-AMP-синтаза – стимулятор генов интерферона) – цитозольного пути считывания ДНК [48]. Вероятно, существует сигнальная

ось между лизосомами и митохондриями, которая является общей как для стареющих клеток, так и для макрофагов. Это важно, учитывая, что SASP играет решающую роль в их активации [22]. Дисфункция митохондрий, сопровождающаяся усилением колебаний кальция в цитозоле, в свою очередь, является существенным патогенетическим звеном формирования воспаления, усиливая воспалительные сигнальные пути [49].

Тем не менее, модуляция аутофагии сегодня рассматривается в качестве перспективного подхода к управлению старением, и часть стратегий индукции аутофагии (включая ограничение калорийности) в настоящее время находятся на стадии клинических испытаний [50].

Макрофаги как таргеты в борьбе с инфламейджингом и в терапии возраст-ассоциированных заболеваний

Инфламейджинг, характеризующийся хроническим низкоинтенсивным воспалением, – ключевой процесс, сопровождающий старение организма и способствующий развитию многочисленных возраст-ассоциированных заболеваний (рис. 2). Центральную роль в развитии как мета-воспаления, так и инфламейджинга, ассоциированного со старением, играют клетки иммунной системы, в первую очередь макрофаги [51]. Учитывая центральную роль

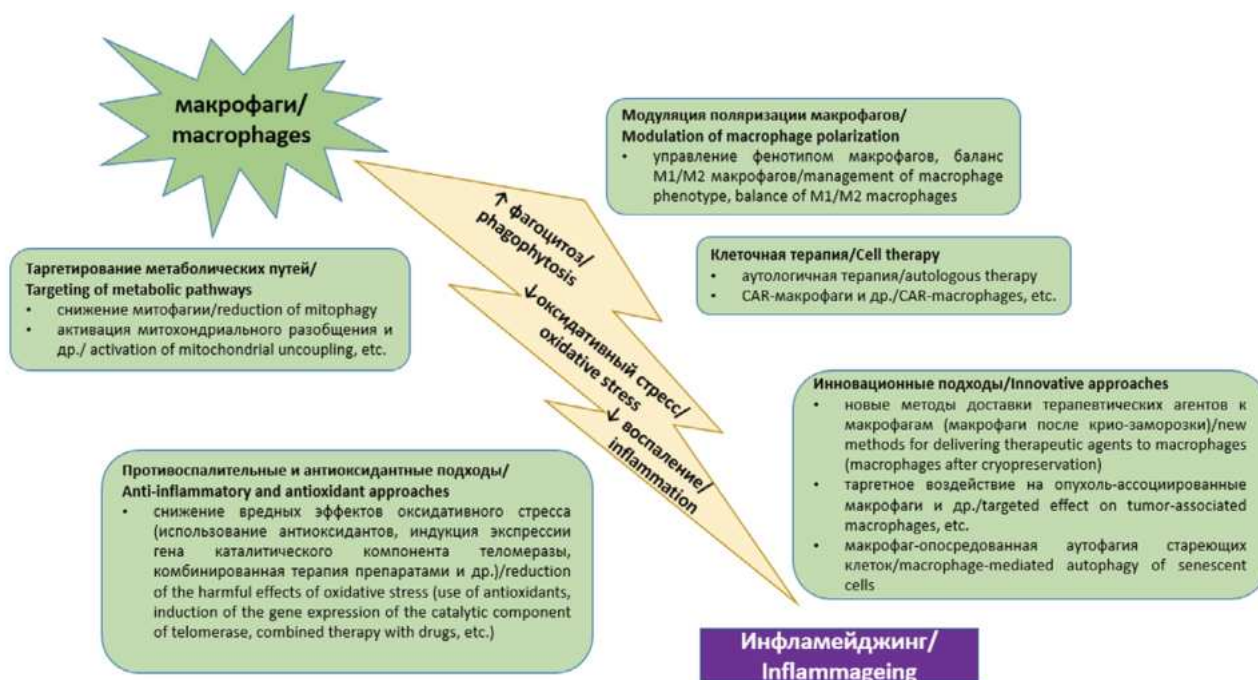


Рис. 2. Макрофаги как таргеты в борьбе с инфламейджингом и в терапии возраст-ассоциированных заболеваний.

Fig. 2. Macrophages as targets in the fight against inflammaging and in the treatment of age-related diseases.

и высокую пластичность макрофагов при развитии инфламейджинга, очевидно, таргет-стратегии воздействия на данный тип клеток представляют перспективное направление как для коррекции инфламейджинга, так и для терапии связанных со старением патологий. В качестве основы потенциальных и уже разрабатываемых подходов могут быть использованы наиболее значимые изменения функциональной активности макрофагов, обсуждавшиеся нами выше.

Модуляция поляризации макрофагов

Одним из наиболее перспективных подходов к коррекции инфламейджинга является воздействие на поляризацию макрофагов. Макрофаги обладают значительной пластичностью и могут приобретать различные фенотипы в зависимости от микроокружения. При старении и ассоциированных с ним патологиях наблюдается дисбаланс фенотипов с преобладанием M1-подобных макрофагов, что способствует хронизации воспаления. Разработка методов, способствующих переключению макрофагов на M2-подобный противовоспалительный фенотип, представляет значительный интерес для коррекции инфламейджинга [51].

Так, на примере макрофагов кожи человека была продемонстрирована значимая роль IL-34 в регуляции баланса M1/M2 макрофагов. Подавление его активации сопровождалось развитием инфламейджинга в коже, подвергающейся воздействию световых лучей [52]. Это открывает перспективы для разработки таргетных терапевтических подходов, направленных на модуляцию экспрессии IL-34 и восстановление баланса макрофагальной активации.

Биоматериалы представляют собой еще один инструмент для управления фенотипом макрофагов. Традиционно при разработке биоматериалов стремились к их максимальной инертности для снижения иммунного ответа организма. Однако современные подходы направлены на создание биоматериалов, способных целенаправленно модулировать активацию макрофагов. Например, при остеоартрите и повреждениях хряща биоматериалы могут способствовать переключению макрофагов на противовоспалительный фенотип, что ускоряет регенерацию тканей [53].

Клеточная терапия на основе макрофагов

Использование макрофагов в качестве клеточной терапии представляет собой инновационный подход к лечению возраст-ассоциированных заболеваний. Одним из наиболее изученных направлений является аутологичная терапия макрофагами, при которой клетки пациента извлекаются, культивируются *ex vivo* и затем возвращаются обратно в организм.

Исследования безопасности аутологичной терапии макрофагами при циррозе печени продемонстрировали благоприятный профиль безопасности. В настоящее время проводится многоцентровое открытое рандомизированное контролируемое исследование фазы 2 (MATCH), оценивающее эффективность такой терапии по сравнению со стандартным лечением у пациентов с компенсированным циррозом [54]. Основным исходом исследования является изменение показателя MELD (Model for End-Stage Liver Disease) через 90 дней, что позволит оценить влияние терапии на функцию печени, неинвазивные маркеры фиброза и другие клинические исходы.

Трансплантация легочных макрофагов представляет собой еще одно направление клеточной терапии, применяемое при заболеваниях легких. Исследования показывают перспективность данного подхода при паренхиматозных заболеваниях легких, включая наследственный легочный альвеолярный протеиноз [55]. Токсикологические исследования на мышинных моделях продемонстрировали безопасность комбинированной трансплантации легочных макрофагов, что открывает возможности для клинического применения данного метода [55].

Инновационным направлением является разработка *CAR-макрофагов* (Chimeric Antigen Receptor Macrophages) для иммунотерапии рака. По аналогии с CAR-T и CAR-NK терапией, CAR-макрофаги представляют собой генетически модифицированные клетки, способные распознавать и уничтожать опухолевые клетки. Учитывая тесную связь между старением, хроническим воспалением и развитием злокачественных новообразований, данный подход может иметь значительный потенциал для лечения возраст-ассоциированных онкологических заболеваний [56].

Таргетирование метаболических путей макрофагов

Метаболическое перепрограммирование макрофагов представляет собой еще один перспективный подход к коррекции метавоспаления и инфламейджинга. Результаты многочисленных исследований демонстрируют значительные изменения метаболизма в стареющих макрофагах, в том числе, нарушения гликолиза, окислительного фосфорилирования, метаболизма жирных кислот и аминокислот [51].

Снижение захвата кальция митохондриями в макрофагах является важным механизмом развития инфламейджинга [49]. Воздействие на этот процесс может представлять собой новую стратегию для коррекции возрастного воспаления. Стимуляция митофагии – процесса удаления поврежденных митохондрий – также может способство-

вать снижению продукции ROS и воспалительной активации макрофагов. Известно, что при старении наблюдается снижение эффективности митофагии, что приводит к накоплению дисфункциональных митохондрий и усилению оксидативного стресса [57].

Активация митохондриального разобщения представляет собой еще один подход к снижению оксидативного стресса и, следовательно, уменьшению воспалительной активации макрофагов. Использование антиоксидантов также может способствовать снижению продукции ROS и воспалительной активации макрофагов, однако необходимо учитывать сложность редокс-сигналикации в клетках и возможные негативные последствия неспецифического подавления ROS [57].

Противовоспалительные и антиоксидантные подходы

Снижение оксидативного стресса является важным направлением коррекции инфламейджинга. Оксидативный стресс, вызванный избыточной продукцией активных форм кислорода (ROS), может повреждать различные ткани организма. Основным источником ROS являются митохондрии, и подавление митофагии, вызванное митохондриальными мутациями, может усугублять ситуацию, усиливая специфические для старения провоспалительные изменения. Терапевтические подходы, потенциально снижающие вредные эффекты оксидативного стресса, включают стимуляцию митофагии, активацию митохондриального разобщения, индукцию экспрессии гена каталитического компонента теломеразы и использование антиоксидантов [57].

Инновационным подходом является тестирование и разработки комплексных препаратов с антиоксидантным и антиинфламейджинговым действием для улучшения состояния кожи. Например, в клинических исследованиях продемонстрирована эффективность комбинированной терапии с использованием 4% ретинола, содержащего новые активаторы TGF- β и антиоксиданты, для уменьшения пигментации кожи лица и улучшения ее эластичности [58]. Такие препараты могут воздействовать на макрофаги кожи, модулируя их воспалительную активность и способствуя регенерации тканей.

Инновационные стратегии таргетирования макрофагов

Разработка новых методов доставки терапевтических агентов к макрофагам представляет собой перспективное направление исследований. Одним из инновационных подходов является использование макрофагов после крио-заморозки в качестве носителя аттенуированных саль-

монелл с целью таргетной терапии опухолей [59]. Этот метод позволяет преодолеть барьеры иммунной системы и обеспечить направленную доставку терапевтических агентов к опухолевым клеткам.

Еще одним перспективным направлением является таргетное воздействие на опухоль-ассоциированные макрофаги (TAM). На примере TAM в микроокружении глиобластомы показана возможность точной характеристики TAM на уровне отдельных клеток и выделения конкретных субпопуляций TAM со специфическими функциями модуляции опухолей [60]. Ожидается, что использование технологий анализа единичных клеток с последующими функциональными исследованиями ускорит разработку новых и эффективных терапевтических средств, направленных на TAM.

Исследования также демонстрируют перспективность макрофаг-ориентированных терапевтических подходов для сердечно-сосудистых заболеваний [61]. Учитывая ключевую роль воспаления в патогенезе атеросклероза и других возраст-ассоциированных сердечно-сосудистых патологий, воздействие на макрофаги может представлять собой эффективную стратегию для коррекции инфламейджинга и снижения риска развития данных заболеваний.

Для содействия поглощению или индукции макрофаг-опосредованной аутофагии стареющих клеток было разработано несколько терапевтических агентов, включая биоматериалы или биоактивные вещества. Однако пока они характеризуются низкой специфичностью и связаны с побочными эффектами, которые ограничивают их клиническое применение [45].

Заключение

Макрофаги представляют собой перспективную мишень для коррекции инфламейджинга и терапии возраст-ассоциированных заболеваний благодаря высокой фенотипической пластичности и значимой роли в регуляции воспаления. Существенным фактором особенностей развития и течения состояний, ассоциированных со старением, выступают особенности клеточного метаболизма, а также вовлечение макрофагов в контроль хронического низкоинтенсивного воспаления и поддержание системных процессов. Совокупность этих факторов подчеркивает их важное значение в развитии и прогрессировании возраст-ассоциированных состояний. Просенесцентные сигнальные молекулы и факторы SASP усиливают проявления старения, тогда как их устранение или трансплантация макрофагов с измененным секреторным фенотипом, наиболее вероятно, будут способствовать омоложению. Однако роли различных субпо-

пуляций макрофагов различаются в зависимости от контекста старения или типа ткани. Системный результат в итоге определяется балансом активированных макрофагов (дифференциацией в различные функциональные подгруппы). Макрофаги способны корректировать проявления сенесцентности клеток и действовать как модуляторы возраст-ассоциированных заболеваний, способствуя воспалению, фагоцитозу, эффероцитозу и аутофагии. Нацеливание на фагоцитарную активность стареющих клеток является одной из стратегий достижения эффективного иммунитета против старения. Наномедицина и биоактивные материалы уже демонстрируют потенциал эффективности в ингибировании SASP, влияя на накопление стареющих клеток, восстановление тканей и органов при старении и возраст-ассоциированных процессах.

В качестве базовых направлений воздействия на макрофаги можно выделить модуляцию их поляризации, клеточную терапию, таргетирование метаболических путей, противовоспалительные и антиоксидантные стратегии, а также инновационные методы доставки терапевтических агентов.

Разработка персонализированных подходов к коррекции инфламейджинга, учитывающих индивидуальные особенности активации макрофагов у конкретного пациента, также представляет собой перспективное направление для улучшения качества жизни и снижения риска развития возраст-ассоциированных заболеваний. Кроме того, комбинация различных стратегий воздействия на макрофаги может обеспечить синергетический эффект и повысить эффективность терапии инфламейджинга и связанных с ним патологических состояний.

Литература

(п.п. 1, 3–10, 12–39, 41–61 см. References)

2. Морозов С.Г., Созинов А.С., Яковлев М.Ю. Микробиота-ассоциированные заболевания как эндотоксин-иницированная патология или кишечный фактор индукции системного воспаления и прогрессирования старения. *Физиология человека*. 2024; 50(3): 138–57. <https://doi.org/10.31857/S0131164624030113>
11. Романцова Т.И., Сыч Ю.П. Иммунометаболизм и мета-воспаление при ожирении. *Ожирение и метаболизм*. 2019; 16(4): 3–17. <https://doi.org/10.14341/omet12218>
40. Калиш С.В., Лямина С.В., Кузнецова Л.В. и др. М3 макрофаги останавливают деление клеток предстательной железы у пациентов с раком предстательной железы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(1): 54–9. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2020.01.54-59>

References

1. United Nations Department of Economic and Social Affairs. Major global population Ageing developments in 2017 (ST/ESA/SER A/397) UN; New York, USA: 2017.
2. Morozov S.G., Sozinov A.S., Yakovlev M.Y. Microbiota-associated diseases as endotoxin-initiated pathology or intestinal factor of induction of systemic inflammation and aging progression. *Human Physiology*. 2024; 50(3): 138–57. (in Russian) <https://doi.org/10.31857/S0131164624030113>
3. Franceschi C., Bonafe M., Valensin S., et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000; 908: 244–254. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>
4. Teissier T., Boulanger E., Cox L.S. Interconnections between Inflammageing and Immunosenescence during Ageing. *Cells*. 2022; 11: 359. <https://doi.org/10.3390/cells11030359>
5. Zhuang Y., Lyga J. Inflammaging in skin and other tissues – the roles of complement system and macrophage. *The Journal of Inflammation & Allergy – Drug Targets*. 2014; 13(3): 153–61. <https://doi.org/10.2174/1871528113666140522112003>
6. Nicolas-Avila J.A., Lechuga-Vieco A.V., Esteban-Martinez L., et al. A Network of Macrophages Supports Mitochondrial Homeostasis in the Heart. *Cell*. 2020; 183: 94–109. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.031>
7. Li X., Li C., Zhang W., et al. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023; 8: 239. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01502-8>
8. Reynolds L.E., Maallin S., Haston S., et al. Effects of senescence on the tumour microenvironment and response to therapy. *FEBS Journal*. 2024; 291(11): 2306–19. <https://doi.org/10.1111/febs.16984>
9. Xiong J., Dong L., Lv Q., et al. Targeting senescence-associated secretory phenotypes to remodel the tumour microenvironment and modulate tumour outcomes. *Clinical and Translational Medicine*. 2024; 14(9): e1772. <https://doi.org/10.1002/ctm2.1772>
10. Wang Y., Li T., Wang F., et al. The Dual Role of Cellular Senescence in Macrophages: Unveiling the Hidden Driver of Age-Related Inflammation in Kidney Disease. *International Journal of Biological Sciences*. 2025; 21(2): 632–57. <https://doi.org/10.7150/ijbs.104404>
11. Romantsova T.I., Sych Yu.P. Immunometabolism and meta-inflammation in obesity. *Obesity and metabolism*. 2019; 16(4): 3–17 (in Russian). <https://doi.org/10.14341/omet12218>
12. Korolnek T., Hamza I. Macrophages and iron trafficking at the birth and death of red cells. *Blood*. 2015; 125: 2893–7. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-567776>

13. Egashira, M., Hirota Y., Shimizu-Hirota R., et al. F4/80+ Macrophages Contribute to Clearance of Senescent Cells in the Mouse Postpartum Uterus. *Endocrinology*. 2017; 158: 2344–53. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1886>
14. Oishi Y., Manabe I. Macrophages in age-related chronic inflammatory diseases. *Npj Aging and Mechanisms of Disease*. 2016; 2: 16018. <https://doi.org/10.1038/npjamd.2016.18>
15. Murano I., Barbatelli G., Parisani V., et al. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *Journal of Lipid Research*. 2008; 49: 1562–8. <https://doi.org/10.1194/jlr.M800019-JLR200>
16. Sturmlechner I., Zhang C., Sine C.C., et al. P21 produces a bioactive secretome that places stressed cells under immunosurveillance. *Science*. 2021. 374(6567): eabb3420. <https://doi.org/10.1126/science.abb3420>
17. Mau T., O'Brien M., Ghosh A.K., et al. Life-span Extension Drug Interventions Affect Adipose Tissue Inflammation in Aging. *Journals of Gerontology Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2020; 75(1): 89–98. <https://doi.org/10.1093/gerona/glz177>
18. Wu Y., Hu S.S., Zhang R., et al. Single cell RNA sequencing unravels mechanisms underlying senescence-like phenotypes of alveolar macrophages. *iScience*. 2023; 26(7): 107197. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107197>
19. Chakarov S., Lim H.Y., Tan L., et al. Two distinct interstitial macrophage populations coexist across tissues in specific subtissular niches. *Science*. 2019; 363(6432): eaau0964. <https://doi.org/10.1126/science.aau0964>
20. Li C.M., Shapiro H., Tsiobikas C., et al. Aging-associated alterations in mammary epithelia and stroma revealed by single-cell RNA sequencing. *Cell Reports*. 2020. 33(13): 108566. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108566>
21. Campbell R.A., Docherty M.-H., Ferenbach D.A., Mylonas K.J. The role of ageing and parenchymal senescence on macrophage function and fibrosis. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12: 700790. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.700790>
22. Behmoaras J., Gil J. Similarities and interplay between senescent cells and macrophages. *Journal of Cell Biology*. 2021; 220(2): e202010162. <https://doi.org/10.1083/jcb.202010162>
23. Jiang Q., Zhou J., Chen Q., et al. Construction and experimental validation of a macrophage cell senescence-related gene signature to evaluate the prognosis, immunotherapeutic sensitivity, and chemotherapy response in bladder cancer. *Functional & Integrative Genomics*. 2023; 23(3): 228. <https://doi.org/10.1007/s10142-023-01163-4>
24. Datta I., Bangi E. Senescent cells and macrophages cooperate through a multi-kinase signaling network to promote intestinal transformation in *Drosophila*. *bioRxiv*. 2023; 18: 2023.05.15.540869. <https://doi.org/10.1101/2023.05.15.540869>
25. Xia T., Zhang M., Lei W., et al. Advances in the role of STAT3 in macrophage polarization. *Frontiers in Immunology*. 2023; 14: 1160719. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1160719>
26. Peng N., Kang H.H., Feng Y., et al. Autophagy inhibition signals through senescence to promote tumor suppression. *Autophagy*. 2023; 19(6): 1764–80. <https://doi.org/10.1080/15548627.2022.2155794>
27. Yan H., Liu Y., Li X., et al. Leucine alleviates cytokine storm syndrome by regulating macrophage polarization via the mTORC1/LXR α signaling pathway. *Elife*. 2024; 12: RP89750. <https://doi.org/10.7554/eLife.89750>
28. Wang P., Li Z., Song Y., et al. Resveratrol-driven macrophage polarization: unveiling mechanisms and therapeutic potential. *Frontiers in Pharmacology*. 2025; 15: 1516609. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1516609>
29. Wang G., Xu B., Shi F., et al. Protective Effect of Methane-Rich Saline on Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis via Blocking the TLR4/NF- κ B/MAPK Pathway and Promoting IL-10/JAK1/STAT3-Mediated Anti-inflammatory Response. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019; 2019: 7850324. <https://doi.org/10.1155/2019/7850324>
30. Geiß C., Salas E., Guevara-Coto J., et al. Multistability in Macrophage Activation Pathways and Metabolic Implications. *Cells*. 2022; 11(3): 404. <https://doi.org/10.3390/cells11030404>
31. Joshi P., Joshi S., Semwal D., et al. Curcumin: An Insight into Molecular Pathways Involved in Anticancer Activity. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2021; 21(17): 2420–57. <https://doi.org/10.2174/1389557521666210122153823>
32. Omer A., Barrera M.C., Moran J.L., et al. G3BP1 controls the senescence-associated secretome and its impact on cancer progression. *Nature Communications*. 2020; 11(1): 4979. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18734-9>
33. Lox D. Preserving cell homeostasis as an aging modulation strategy. *Innovation in Aging*. 2024; 8(1): 910. <https://doi.org/10.1093/geron/igae098.2938>
34. Rana M.N., Lu J., Xue E., et al. PDE9 Inhibitor PF-04447943 Attenuates DSS-Induced Colitis by Suppressing Oxidative Stress, Inflammation, and Regulating T-Cell Polarization. *Frontiers in Pharmacology*. 2021; 12: 643215. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643215>
35. Laliberté C., Bossé B., Bourdeau V., et al. Senescent Macrophages Release Inflammatory Cytokines and RNA-Loaded Extracellular Vesicles to Circumvent Fibroblast Senescence. *Biomedicines*. 2024; 12(5): 1089. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12051089>
36. Schloesser D., Lindenthal L., Sauer J., et al. Senescent cells suppress macrophage-mediated corpse removal via upregulation of the CD47-QPCT/L axis. *Journal of Cell Biology*. 2023; 222(2): e202207097. <https://doi.org/10.1083/jcb.202207097>
37. Huna A., Martin N., Bernard D. The senescence-associated secretory phenotype induces neuroendocrine transdifferentiation. *Aging*. 2023; 15(8): 2819–21. <https://doi.org/10.18632/aging.204669>
38. Rana T., Jiang C., Liu G., et al. PAI-1 Regulation of TGF- β 1-induced Alveolar Type II Cell Senescence, SASP Secretion, and SASP-mediated Activation of Alveolar Macrophages. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2020; 62(3): 319–30. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2019-0071OC>
39. Ogata Y., Yamada T., Hasegawa S., et al. SASP-induced macrophage dysfunction may contribute to accelerated senescent fibroblast accumulation in the dermis. *Experimental Dermatology*. 2021; 30: 84–91. <https://doi.org/10.1111/exd.14205>
40. Kalish S.V., Lyamina S.V., Kuznetsova L.V., et al. M3 macrophages stop the division of prostate gland cells in a patient with prostate cancer. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2020; 64(1): 54–9 (in Russian). <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2020.01.54-59>
41. Razi S., Yaghoorian Khojini J., Kargarijam F., et al. Macrophage efferocytosis in health and disease. *Cell Biochemistry and Function*. 2023; 41(2): 152–65. <https://doi.org/10.1002/cbf.3780>
42. Gerlach B.D., Ampomah P.B., Yurdagul A., et al. Efferocytosis induces macrophage proliferation to help resolve tissue injury. *Cell*

- Metabolism*. 2021; 33(12): 2445-2463.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.10.015>
43. Martinez-Zamudio R.I., Dewald H.K., Vasilopoulos T., et al. Senescence-associated beta-galactosidase reveals the abundance of senescent CD8+T cells in aging humans. *Aging Cell*. 2021; 20(5): e13344. <https://doi.org/10.1111/acel.13344>
 44. Xiao J., Li H.S., Satyanarayanan S.K., et al. Advancements in Targeting Macrophage Senescence for Age-Associated Conditions. *Aging Dis-eases*. 2024. <https://doi.org/10.14336/AD.2024.0720>
 45. Chen W., Xiao W., Liu X., et al. Pharmacological manipulation of macrophage autophagy effectively rejuvenates the regenerative potential of bio-degrading vascular graft in aging body. *Bioactive Materials*. 2024; 11: 283–99. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.09.027>
 46. Tai H., Wang Z., Gong H., et al. Autophagy impairment with lysosomal and mitochondrial dysfunction is an important characteristic of oxidative stress-induced senescence. *Autophagy*. 2017; 13: 99–113. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1247143>
 47. Covarrubias A.J., Kale A., Perrone R., et al. Senescent cells promote tissue NAD (+) decline during ageing via the activation of CD38(+) macrophages. *Nature Metabolism*. 2020; 2(11): 1265–83. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-00305-3>
 48. Vizioli M.G., Liu T., Miller K.N., et al. Mitochondria-to-nucleus retrograde signaling drives formation of cytoplasmic chromatin and inflammation in senescence. *Genes and Development*. 2020; 34(5–6): 428–45. <https://doi.org/10.1101/gad.331272.119>
 49. Seegren Ph., Harper L., Downs T., et al. Reduced mitochondrial calcium uptake in macrophages is a major driver of inflamming. *Nature Aging*. 2023; 3(7): 796–812. <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00436-8>
 50. Minhas P.S., Latif-Hernandez A., McReynolds M.R., et al. Restoring metabolism of myeloid cells reverses cognitive decline in aging. *Nature*. 2021; 590: 122–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03160-0>
 51. Qu L., Matz A.J., Karlinsey K., et al. Macrophages at the Crossroad of Meta-Inflammation and Inflamming. *Genes (Base)*. 2022; 13(11): 2074. <https://doi.org/10.3390/genes13112074>
 52. Horiba S., Kami R., Tsutsui T., Hosoi J. IL-34 Downregulation–Associated M1/M2 Macrophage Imbalance Is Related to Inflamming in Sun-Exposed Human Skin. *JID Innovations*. 2022; 2(3): 100112. <https://doi.org/10.1016/j.xjidi.2022.100112>
 53. Das P., Jana S., Kumar Nandi S. Biomaterial-Based Therapeutic Approaches to Osteoarthritis and Cartilage Repair Through Macrophage Polarization. *Chemical Record*. 2022; 22(9): e202200077. <https://doi.org/10.1002/tcr.202200077>
 54. Brennan P.N., MacMillan M., Manship T., et al. Study protocol: a multicentre, open-label, parallel-group, phase 2, randomised controlled trial of autologous macrophage therapy for liver cirrhosis (MATCH). *BMJ Open*. 2021; 11(11): e053190. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-053190>
 55. Arumugam P., Carey B.C., Wikenheiser-Brokamp K.A., et al. A toxicology study of Csf2ra complementation and pulmonary macrophage transplantation therapy of hereditary PAP in mice. *Molecular Therapy – Methods and Clinical Development*. 2024; 32(2): 101213. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2024.101213>
 56. Pan K., Farrukh H., Chittepu V.C.S.R, et al. CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2022; 41(1): 119. <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02327-z>
 57. Yegorov Y.E., Poznyak A.V., Nikiforov N.G., et al. The Link between Chronic Stress and Accelerated Aging. *Biomedicines*. 2020; 8(7): 198. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8070198>
 58. Söldacka D., Podgórska M., Barańska-Rybak W. Unique retinol therapy with antioxidant and anti-inflamming complex for naturally reborn skin: the clinical case series study. *Dermatologic Therapy*. 2023; (7): 1–9. <https://doi.org/10.1155/2023/5588525>
 59. Wu L., Du Z., Li L., et al. Camouflaging attenuated Salmonella by cryo-shocked macrophages for tumor-targeted therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024; 9(1): 14. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01703-1>
 60. Khan F., Pang L., Dunterman M., et al. Macrophages and microglia in glioblastoma: heterogeneity, plasticity, and therapy. *Journal of Clinical Investigation*. 2023; 133(1): e163446. <https://doi.org/10.1172/JCI163446>
 61. Sansonetti M., Al Soodi B., Thum T., Jung M. Macrophage-based therapeutic approaches for cardiovascular diseases. *Basic Research in Cardiology*. 2024; 119(1): 1–33. <https://doi.org/10.1007/s00395-023-01027-9>

Сведения об авторах:

Лямина Светлана Владимировна, доктор мед. наук, зав. лаб. молекулярной патологии пищеварения научно-исследовательского центра биомедицинских исследований, проф. каф. пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» МЗ РФ;

Калиш Сергей Валерьевич, науч. сотр. лаб. молекулярной патологии пищеварения научно-исследовательского центра биомедицинских исследований ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» МЗ РФ;

Кожевникова Екатерина Олеговна, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. молекулярной патологии пищеварения научно-исследовательского центра биомедицинских исследований ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» МЗ РФ;

Кадымов Леонид Вячеславович, лаборант-иссл. лаб. молекулярной экологии кишечника научно-исследовательского центра биомедицинских исследований ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» МЗ РФ.

© Зверев Я.Ф., Рыкунова А.Я., 2025
УДК 615.322.616.72-002.77

Зверев Я.Ф., Рыкунова А.Я.

Применение флавоноидов в экспериментальной терапии ревматоидного артрита

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, Барнаул, Россия, пр. Ленина, д. 40

Обзор посвящён возможности потенциального применения флавоноидов в комплексном лечении ревматоидного артрита (РА). Анализируются многообещающие свойства флавонолов, флавонов, флаванонов, флаван-3-олов и изофлавонов, включающие противовоспалительный, антиоксидантный, антипролиферативный и иммуномодулирующий эффекты при отсутствии выраженной токсичности. Приведены примеры применения флавоноидов в клинической практике с целью лечения РА. Наиболее широко анализируются сведения, которые базируются на многочисленных экспериментальных данных, полученных в исследованиях *in vitro* и при использовании моделей, адекватно воспроизводящих РА у грызунов. В основе противовоспалительного действия флавоноидов лежит способность подавлять функциональную активность иммунных клеток и их рекрутирование в очаг воспаления синовиальной оболочки, ингибируя высвобождение и активацию провоспалительных цитокинов и других факторов воспаления вследствие воздействия на соответствующие транскрипционные факторы и пути внутриклеточного сигнализирования. Антиоксидантное действие, как и ингибирование флавоноидами активности Т- и В-лимфоцитов, вносит существенный вклад в развитие процесса иммунного воспаления. Важную положительную роль играет угнетение при РА гиперактивности фибробластоподобных синовиоцитов и активация их апоптоза, что ослабляет инвазивность патологического процесса и формирование паннуса. Имеет значение и ингибирование активности матриксных металлопротеиназ, обеспечивающих процесс костной резорбции при РА. Многообещающие экспериментальные данные получены при комбинировании флавоноидов с классическими противовоспалительными препаратами, такими как метотрексат. Наибольшее внимание в предлагаемом обзоре литературных данных уделяется противовоспалительной эффективности флавонола кверцетина и его производных, что позволяет считать эти соединения весьма перспективными средствами в лечении РА в ближайшем будущем.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; флавоноиды; механизм действия; перспективность клинического применения

Для цитирования: Зверев Я.Ф., Рыкунова А.Я. Применение флавоноидов в экспериментальной терапии ревматоидного артрита. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(4): 182–195.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.182-195

Для корреспонденции: Зверев Яков Федорович, e-mail: zveryasha@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование – Зверев Я.Ф.; сбор и обработка материала, написание текста – Рыкунова А.Я. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 12.09.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Zverev Ya.F., Rykunova A.Ya.

Use of flavonoids in experimental therapy of rheumatoid arthritis

Altai State Medical University, 40 Lenin Ave., 656038, Barnaul, Russian Federation

The review concerns the possibility of potential use of flavonoids in the complex treatment of rheumatoid arthritis (RA). The promising properties of flavonols, flavones, flavanones, flavan-3-ols and isoflavones are analyzed, including anti-inflammatory, antioxidant, antiproliferative, immunomodulatory effects in the absence of pronounced toxicity. Examples of the use of flavonoids in clinical practice for the treatment of RA are given. The most widely analyzed information is based on numerous experimental data obtained *in vitro* studies and using models that adequately reproduce RA in

rodents. The antiarthritic effect of flavonoids is based on the ability to suppress the functional activity of immune cells, their recruitment to the site of inflammation of the synovial membrane with inhibition of the release and activation of proinflammatory cytokines and other inflammatory factors due to the effect on the corresponding transcription factors and intracellular signaling pathways. Antioxidant action, as well as inhibition of T- and B-lymphocyte activity by flavonoids, made a significant contribution to the development of the immune inflammation process. An important positive role is played by the suppression of hyperactivity of fibroblast-like synoviocytes and activation of their apoptosis in RA, which weakens the invasiveness of the pathological process and the formation of pannus. Inhibition of the activity of matrix metalloproteinases, which ensure the process of bone resorption in RA, is also important. Promising experimental data were obtained by combining flavonoids with classical antiarthritic drugs, such as methotrexate. The greatest attention in the proposed review of literary data is paid to the antiarthritic efficacy of the flavonol quercetin and its derivatives, which allows us to consider these compounds as very promising agents in the treatment of RA in the near future.

Keywords: rheumatoid arthritis; flavonoids; mechanism of action; prospects for clinical use

For citation: Zverev Ya.F., Rykunova A.Ya. Use of flavonoids in experimental therapy of rheumatoid arthritis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya* (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2025; 69(4): 182-195. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.182-195

Author's contribution: concept and design of the study, editing – Zverev Ya.F.; collection and processing of material, text writing – Rykunova A.Ya. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: **Yakov F. Zverev**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Pharmacology named after Prof. V.M. Bryukhanov, Altai State Medical University, e-mail: zveryasha@mail.ru

Information about the authors:

Zverev Ya.F., <https://orcid.org/0000-0002-8101-103X>

Rykunova A.Ya., <https://orcid.org/0000-0002-5889-7071>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 12.09.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Ревматоидный артрит (РА) – тяжелое хроническое ревматическое аутоиммунное заболевание, поражающее около 1% взрослого населения. РА сопровождается развитием воспалительного процесса в суставах с последующей инвалидизацией, обусловленной деструкцией хряща и костей, а также нарушениями в работе других органов. Одной из основных проблем является то, что этиологический фактор РА до сих пор не установлен. Это затрудняет своевременную диагностику и радикальное излечение заболевания. Не вдаваясь в подробности развития РА, исчерпывающе изложенные в ряде фундаментальных публикаций последних лет, отметим, что течение РА весьма условно можно разбить на три фазы: доклиническую, характеризующуюся потерей толерантности к аутоантигенам; клинически выраженную с очевидными признаками синовиального воспаления; и деструктивную – с разрушением хряща, кости и периартикулярных структур. В дебюте заболевания происходит первоначальная презентация аутоантигена в местах, удаленных от суставов (лимфоузлы, легочная ткань), затем процесс смещается в суставы с развитием выраженной воспалительной реакции. По ходу заболевания макрофаги, плазматические

и дендритные клетки, лимфоциты, иммунные комплексы проникают в синовиальную оболочку и консолидируются в отдельные лимфоидные агрегаты с зародышевыми (герминальными) центрами. Здесь, по-видимому, происходит выработка антител, созревание Т- и В-лимфоцитов, индукция значительного количества провоспалительных цитокинов, активация фибробластоподобных синовиоцитов (ФПС), матриксных металлопротеиназ (ММП), хондроцитов (ХЦ) и остеокластов (ОК). Это приводит к развитию воспалительной реакции, формированию паннуса, разрушению хряща и кости [1–4].

Сегодня номенклатура лекарственных препаратов, применяемых при РА, весьма обширна и включает средства, воздействующие на различные звенья его патогенеза. По современным методическим рекомендациям, в список препаратов традиционно входят НПВС, стероидные противовоспалительные, а также анальгезирующие препараты. Основными средствами таргетной терапии являются базисные противовоспалительные препараты (БПВП), соответствующие международной номенклатуре болезнь-модифицирующих антиревматоидных препаратов (DMARD). К сожалению, большинство из приведен-

ных групп препаратов обладает серьезными побочными эффектами, не позволяющими применять их на протяжении длительного времени. Кроме того, большинство вновь созданных препаратов весьма дороги, что также ограничивает их применение.

Поэтому взгляд целого ряда исследователей обратился к возможности использования препаратов природного происхождения, способных обеспечить достаточно высокую эффективность при отсутствии серьезных побочных реакций. А их совместное использование с БПВП позволило бы уменьшить дозу и возможную продолжительность применения последних. Такие исследования начали проводиться и подтвердили, что при использовании фитотерапевтических средств было зафиксировано меньше побочных эффектов, чем у БПВП. Опубликованные недавно данные мета-анализа показали, что в большинстве статей длительный прием средств растительного происхождения, добавленных к классическим БПВП, продемонстрировал эффективность в отношении минеральной плотности кости (BMD), превосходящую действие одних БПВП [5]. Это позволило приведенным авторам с осторожностью (в связи с небольшим количеством проведенных исследований) порекомендовать совместное применение классических противоревматических препаратов с фитотерапевтическими лекарственными средствами. Учитывая, что РА является иммуно-воспалительным заболеванием, соединения, обладающие противовоспалительными, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами, не могут не привлечь к себе пристального внимания. И именно такой активностью, как известно, обладают флавоноиды [6].

Разумеется, не следует переоценивать значимость влияния флавоноидов на течение и исходы такого тяжелого и многофакторного заболевания, как РА. Однако появляется все больше свидетельств, убеждающих в целесообразности применения целого ряда флавоноидов в комплексной терапии РА. Это обусловило появление за последние 25 лет большого количества исследований, посвященных данной проблеме, и послужило целью данного обзора литературы. Поиск литературы для подготовки обзора был проведен, с использованием базы данных и поисковых систем PubMed (включая MEDLINE) и Scopus, вплоть до 1 января 2025 года. Поиск сосредоточен на вопросах, касающихся патогенеза РА и механизмов действия различных флавоноидов, способных, по мнению многих исследователей, облегчить течение заболевания. Ряд близких к флавоноидам по действию полифенольных соединений (куркумин, ресвератрол и некоторые другие) был исключен. Всего было проанализировано 79 статей на русском и английском языках, в основном за последние 10 лет.

К сожалению, подавляющее число этих работ носит пока сугубо экспериментальный характер, ограничиваясь опытами *in vitro* и исследованиями на животных моделях. Поэтому клинических наблюдений на сегодняшний день крайне мало. Рассмотрим имеющиеся сведения.

Опыт применения флавоноидов при РА в клинике

Наибольшее внимание изначально привлек кверцетин. В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании 20 пациентов в условиях амбулаторного лечения были разделены на 3 группы, одну из которых составили больные, на протяжении 4 недель 3 раза в день получавшие капсулы, содержащие 166 мг кверцетина и 133 мг витамина С. Тяжесть заболевания оценивали с помощью опросника и визуальной аналоговой шкалы (VAS). Была зафиксирована тенденция к снижению VAS, что позволило авторам осторожно высказаться в пользу целесообразности дальнейших исследований [7]. Сходный результат был получен и при приеме 22-мя пациентами с РА глюкозамина-хондроитина-кверцетина гликозида на протяжении 3 месяцев [8], как и при назначении в течение 8 недель кверцетина в дозе 500 мг/сутки 51 женщине с РА [9]. Одной из приведенных групп исследователей [10] через 3 года удалось получить положительный эффект. В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании назначение кверцетина в дозе 500 мг/сутки женщинам с РА на протяжении 8 недель позволило зарегистрировать значительное улучшение состояния пациенток. Активность заболевания по шкале DAS-28 снижалась, как и утренняя скованность, и болевые ощущения. Но еще до этого привлекло внимание исследование, в котором различные дозы кверцетина добавляли к азатиоприну (100 мг/сутки), известному препарату, применяемому для лечения РА. Оказалось, что наибольшая из использованных доз кверцетина (1500 мг/сутки в течение 8 недель) существенно превосходила эффективность одного азатиоприна и группы, получавшей плацебо, по снижению содержания в сыворотке крови провоспалительного цитокина ИЛ-6, белков комплемента и молекулы межклеточной адгезии ICAM-1. Кроме того, добавление кверцетина увеличило сывороточную концентрацию противовоспалительного цитокина ИЛ-10 [11]. Приведенные данные, без сомнения, указывают на необходимость продолжать исследования по добавлению кверцетина к синтетическим БПВП при лечении РА. При этом нуждается в уточнении длительность применения и эффективная дозировка этого флавонола.

Из других клинических наблюдений относительно применения флавоноидов при РА отметим опыт, касающийся гесперидина. 19 пациентов с РА были включены в 12-недельное плацебо-контролируемое исследование, в котором 9 пациентов каждое утро получали напиток, содержащий 3 г альфа-гликозил гесперидина (Hsp-G), а 10 – плацебо. Кроме Hsp-G или плацебо, пациенты получали стандартную терапию. В результате в группе, получавшей флавоноид, у 3 из 9 пациентов улучшилось состояние в соответствии с критериями Американского колледжа ревматологии, тогда как в группе плацебо – у 1 из 10 [12]. Параллельно аналогичный эффект был получен авторами у мышей с коллаген-индуцированным артритом.

Наконец, нам удалось найти одно клиническое исследование, имеющее отношение к применению флавоноидов байкалина у пациентов с РА. Из 374 пациентов с диагнозом ишемической болезни сердца и РА выделили группу, принимавшую 500 мг байкалина ежедневно на протяжении 12 недель. Применение байкалина обусловило улучшение состояния больных со снижением содержания липидов в плазме крови и уменьшением воспаления суставов [13]. Полученные результаты позволили приведенным китайским авторам выразить осторожный оптимизм по поводу применения байкалина в лечении РА. Присоединимся к их мнению.

Флавоноиды в доклинических экспериментах

Флавонолы

В отличие от клинических исследований, значительный массив литературы посвящён влиянию флавоноидов на лечение и профилактику экспериментального артрита у грызунов, в той или иной мере воспроизводящего ревматоидный артрит человека. Среди них артрит: индуцируемый адьювантом (AIA), в том числе полным адьювантом Фрейнда (CFA), коллагеном (CIA), маслом (OIA), протеогликаном (PGIA), зимозаном (ZIA), оксидом титана (TiO₂), каррагенаном (CrIA) и другие. Наиболее частыми и адекватными признаны AIA, CFA и CIA. Воспроизведенный экспериментальный артрит, адекватный РА, оценивается по модифицированной шкале. Шкала включает оцениваемые в баллах такие “клинические” параметры, как изменение размеров голеностопных суставов, всей конечности, покраснение и изменение положения когтя.

Кверцетин и его производные

Уже первые исследования показали перспективность кверцетина как возможного средства вспомогательной те-

рапии РА. В одной из пилотных работ было установлено, что флавонолы кверцетин и рутин ослабляли развитие AIA. Причем наибольший эффект оказал гликозид кверцетина – рутин [7]. Сходная активность фиксировалась при использовании подкожных инъекций рутина самкам крыс с AIA, начиная с первого дня появления симптомов заболевания (лечебное действие) или с первых суток после иммунизации (профилактическое действие). У крыс обеих групп наблюдали подавление клинических признаков хронического артрита. Эффект превосходил действие гидрокортизона и прямо коррелировал с содержанием перитонеальных макрофагов и провоспалительных цитокинов в сыворотке крови [8]. Близкие результаты были получены в ряде других исследований в условиях AIA и CIA моделей РА при длительном введении кверцетина крысам и мышам [9, 10].

С помощью биохимических, гистопатологических и иммуногистохимических методов установлено, что кверцетин снижает инфильтрацию в очаг синовиального воспаления нейтрофилов и макрофагов, пролиферацию и дифференцировку CD4⁺T-клеток и ФПС. Это ведет к ингибированию выработки провоспалительных факторов, обеспечивающих развитие воспаления синовиальных тканей. Так, в результате применения кверцетина в сыворотке крови и синовиуме было зафиксировано существенное снижение содержания провоспалительных цитокинов, СРБ, ЦОГ-2, ПГЕ₂, ММП-3 и -9 [11–15].

Важную роль при этом играет ингибирование рекрутирования нейтрофилов в синовиальную ткань. В экспериментах на мышках с AIA кверцетин угнетал синовиальную инфильтрацию этих клеток [10]. Во-первых, это привело к резкому снижению выработки провоспалительных цитокинов. Кроме того, кверцетин ускорял апоптоз нейтрофилов, продолжительность жизни которых увеличивается в условиях воспаления. Ускорение апоптоза, по-видимому, было обусловлено активацией каспазы-3, запускающей как внутренний, так и внешний пути запрограммированной смерти нейтрофилов. Одновременно было показано, что флавонол ингибировал аутофагию нейтрофилов, что обусловило угнетение деконденсации хроматина и ингибирование последующего образования внеклеточных ловушек лейкоцитов [10, 16]. А подавление продукции и высвобождения провоспалительных цитокинов обусловило угнетение ряда путей внутриклеточного сигнализирования, обеспечивающих транскрипцию многочисленных провоспалительных факторов. Среди них – ингибирование геной экспрессии компонентов сигнальных путей NF-κB, MAPK, PI3K-AKT, активностиключевого провоспалительного фактора.

тельного фермента аденозиндезаминазы (ADA), а также образования инфламмосомы NLRP3, вероятно, за счет подавления пути GSK-3 β /NF- κ B/NLRP3. Кроме того, антифлогистическое действие кверцетина, возможно, обеспечивается активацией противовоспалительных факторов. Такой эффект достигается повышением активности ряда микроРНК (miR-26b и miR-20a), индукцией противовоспалительного пути Nrf2 – HO-1, изменением баланса макрофагов в пользу их поляризации в сторону фенотипа M2 [12, 13, 15, 17–21].

Ослабление развития воспалительного артрита у животных обусловлено также воздействием кверцетина на функциональную активность ФПС. В экспериментах *in vitro* флавонол угнетал агрессивный инвазивный фенотип ФПС, обеспечивающий продукцию провоспалительных факторов, формирование паннуса и активацию остеокластов (ОК), что в конечном счете, способствует деструкции хряща и кости. Было показано, что кверцетин ингибировал нестимулированную и индуцированную пролиферацию, миграцию и инвазию ФПС, подавлял активацию внутриклеточных маркеров и сигнальных путей NF- κ B и R3K/AKT, повышал уровень каспаз-3 и -9, Bax и Bcl-2, усиливая таким образом апоптоз ФПС. Кроме того, флавонол, благодаря ингибированию внутриклеточных сигнальных путей, подавлял в ФПС экспрессию RANKL и ММП-1, участвующих в процессе костной эрозии через активацию пролиферации и дифференцировки ОК [20, 21]. Установлено также, что кверцетин подавляет миграцию и инвазию ФПС за счет ингибирования F-актина, обеспечивающего эти процессы. По-видимому, обнаруженный эффект обусловлен активацией miR-146a и подавлением фактора транскрипции GATA 6 [22]. Известно, что уровень miR-146a снижен, а GATA 6 повышен при РА, и приведенные авторы подтвердили, что GATA 6 является нисходящей мишенью miR-146a [22]. Кроме того, кверцетин, подавляя сигнальные пути NF- κ B, mTOR, ERK, I κ B- α и AMPK, ослаблял деградацию внеклеточного матрикса хряща, защищая тем самым суставы от развивающегося в условиях РА хронического воспаления [20, 23].

Учитывая важную роль окислительного стресса в патогенезе РА, с одной стороны, и известную антиоксидантную активность флавоноидов, с другой, логично допустить влияние кверцетина на активность свободнорадикального окисления по ходу развития заболевания. У мышей с CIA, находившихся на диете с дефицитом витамина E, добавление в пищу кверцетина обусловило ослабление воспалительной реакции в суставных тканях до уровня животных, потреблявших нормальную диету [24]. Это позволило авторам высказать уве-

ренность в том, что положительный эффект кверцетина связан с комплексным противовоспалительным и антиоксидантным действием. Выяснилось также, что кверцетин, наряду со снижением активных форм кислорода (АФК), содержания малонового диальдегида (MDA) и барбитурат – чувствительных продуктов (TBARS) в суставах и плазме крови, активировал как неферментную, так и ферментную антиоксидантную защиту. Было обнаружено увеличение глутатиона (GSH), активности антиоксидантных ферментов в суставных тканях и сыворотке животных [11, 16, 24, 25]. В экспериментах *in vitro* с использованием клеток RAW264,7, стимулированных липополисахаридом (LPS), кверцетин увеличивал выработку фермента гемооксигеназы-1 (HO-1), что подтвердилось и *in vivo* в синовиальных тканях крыс с CIA [12, 25]. Недостаток этого фермента, по-видимому, имеет важное значение в патогенезе РА. Он активируется транскрипционным фактором Nrf2, обеспечивающим увеличение экспрессии антиоксидантных ферментов. HO-1, как известно, обладает выраженной антиоксидантной, противовоспалительной, антиапоптотической, антипролиферативной и иммуномодулирующей активностью. Антиоксидантный эффект HO-1 был показан на мышцах с ZIA – артритом, у которых кверцетин угнетал экспрессию мРНК субъединицы НАДФН-оксидазы и повышал экспрессию мРНК GSH, Nrf2 и HO-1 [13]. Это позволило цитируемым авторам предположить, что антиоксидантное действие флавоноида в значительной степени обусловлено активацией оси Nrf2/HO-1. По крайней мере, кверцетин, противовоспалительное действие которого не подвергается сомнению, не смог снизить уровень ряда провоспалительных факторов *in vitro* при воздействии на HO-1-трансфектные клетки [12]. Отсюда, кстати, прослеживается прямая связь между антиоксидантным и противовоспалительным эффектами кверцетина. Поскольку известно, что АФК являются решающим фактором активации инфламмосомы NLRP3, логичным выглядит предположение, согласно которому стимуляция кверцетином сигнального каскада Nrf2/HO-1, подавляя образование АФК, угнетает активность инфламмосомы NLRP3.

Не исключено, что повышенная экспрессия HO-1 оказывает также благоприятный иммуномодулирующий эффект при РА, как это обнаружено при других аутоиммунных заболеваниях [12]. И действительно, на модели экспериментального язвенного колита у мышей было показано, что HO-1 облегчает течение заболевания, вмешиваясь в нарушенный баланс клеток Th₁₇/Th_{reg} [26]. Как известно, CD4⁺Т-клетки играют существенную роль в патогенезе РА. На модели CIA у мышей было замече-

но увеличение селезенки, масса которой снижалась при применении кверцетина. То, что селезенка играет важную роль в активации CD4⁺T-клеток, заставило обратить внимание на возможное воздействие флавоноида на T-лимфоциты. Установлено, что при РА изменяется баланс клеток Th₁₇/T_{reg} в пользу первых за счет усиленной дифференцировки Th₁₇. Это приводит к сверхпродукции интерлейкинов, усиливающих процесс синовиального воспаления. Кверцетин при энтеральном введении крысам с CIA облегчал течение заболевания на фоне угнетения провоспалительных цитокинов ИЛ-17 и ИЛ-21, ассоциированных с Th₁₇, и активации противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и TGF-β, секретируемых T_{reg} [12]. По-видимому, этим иммуномодулирующее действие кверцетина не ограничивается. Появились данные, свидетельствующие об ингибирующем действии этого флавоноида на образование аутоантител за счет прямого воздействия на B-лимфоциты. В экспериментах с артритом CIF внутривенное введение кверцетина, кроме снижения экспрессии гена одного из ключевых ферментов ADA и концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке, вызывало существенное уменьшение содержания ревматоидного фактора (RF) и антициклического цитруллинированного аутоантитела [23]. Снижение уровня аутоантител на модели CIA было зафиксировано в другом исследовании [20].

Были также предприняты попытки сравнить эффективность флавоноида с другими лекарственными средствами, традиционно используемыми для лечения РА. Естественно, наибольший интерес вызвало возможное синергистическое действие кверцетина с метотрексатом (MTX), который считается одним из наиболее эффективных препаратов при РА. У крыс с CIF – артритом совместное применение кверцетина с MTX дало максимальный противовоспалительный эффект, превосходящий действие каждого из препаратов по отдельности [19]. Правда, в исследованиях других авторов совместное применение кверцетина и MTX у мышей с CIA не выявило преимуществ комбинации перед монотерапией каждого из препаратов, хотя противартритное действие кверцетина даже превосходило MTX [27, 28]. В интересном исследовании на крысах с экспериментальным AIA комбинированное введение кверцетина и аторвастатина, известного антиатеросклеротического препарата, обеспечило сопоставимый с MTX эффект по выраженности противовоспалительного и антиоксидантного действия посредством угнетения сигнального пути GSK-3β/NF-κB/NLRP3 и повышения экспрессии miR-26b и miR-20a. В отличие от MTX, комбинация дополнительно проявила гепатопротекторное действие,

что лишь подчеркивает ее перспективность [29]. Таким образом, имеющиеся в распоряжении немногочисленные экспериментальные сведения указывают на перспективность исследований с использованием кверцетина, как минимум в качестве вспомогательного средства в ходе лечения РА.

Серьезным препятствием для широкого использования кверцетина, как и других флавоноидов, в терапии РА являются проблемы, обусловленные их низкой биодоступностью, плохой растворимостью в воде и быстрым прохождением через желудочно-кишечный тракт. Это затрудняет достижение необходимых концентраций в крови и достаточного количества флавоноидов в пораженных суставах [16, 30]. Для решения этой проблемы предпринимается ряд усилий, дающих положительные результаты. Основное направление состоит в попытках повышения биодоступности и растворимости, а также в загрузке кверцетина в носители, которые могут обеспечить доставку нужного количества флавоноида к суставу с последующим регулированием процесса его постепенного высвобождения [31]. Так, описан опыт создания ультрамалых наночастиц железа с кверцетином (Fe-Qur NCNs), что позволило увеличить растворимость и биодоступность флавоноида. В условиях *in vitro* эти наночастицы сохраняли способность скавенировать избыток АФК и ослабляли активацию сигнальных путей NF-κB. А в экспериментах *in vivo*, введенные мышам с CIA наночастицы Fe-Qur NCNs, облегчали клинические проявления артрита, уменьшали инфильтрацию воспалительных клеток, увеличивали фенотип противовоспалительных факторов, ингибировали активность ОК, тем самым уменьшая эрозию кости [32]. Сходный эффект наблюдался у крыс Wistar с AIA в результате применения наноносителя кверцетина в виде теллурида кадмия с покрытием из тиогликолевой кислоты (QDs-QE). Применение комплекса показало значительное ослабление воспаления, ускорение регенерации хряща, угнетение ПОЛ за счет активации антиоксидантных ферментов, снижение уровня СРБ и СОЭ, а также содержания RF. Причем эффект превосходил действие мощного НПВС диклофенака [33]. Высокого антиартритного эффекта удалось достигнуть и в недавних экспериментах с помощью синтеза методом тонкопленочной гидратации мицелл, содержащих MTX и кверцетин. Мицеллы обусловили постепенное высвобождение препаратов, низкую цитотоксичность и выраженное таргетирование макрофагов *in vitro*. *In vivo* же у крыс с CIA, кроме снижения экспрессии воспалительных факторов в сыворотке крови и подавления деструкции суставного хряща, наблюдали постепенное накопление препара-

тов на протяжении длительного времени в суставах, что и обеспечило выраженный терапевтический эффект [34]. Отметим также использование микрочастиц пектина/казеина, загруженных кверцетином. Такие микрокапсулы у крыс с АІА нормализовали уровень ПОЛ и АФК при отсутствии митохондриальной и гепатотоксичности [35]. А наночастицы хитозана, загруженные разными дозами кверцетина в условиях СІІ, уменьшали диаметр воспаленного голеностопного сустава, снижали содержание сывороточных маркеров окислительного стресса и воспалительных цитокинов [36].

Кемпферол

Потенциальное антиартритное действие выявлено и у других флавонолов. В экспериментах *in vitro* кемпферол проявил выраженную активность в отношении как не-стимулированных, так и активированных с помощью ИЛ-1 β ФПС. Флавонол ингибировал их пролиферацию, а также экспрессию мРНК и воспалительных факторов. Кроме того, кемпферол подавлял индуцированную активацию NF- κ B, а также фосфорилирование компонентов сигнальных путей MAPK. Полученные результаты позволили высказать предположение о том, что кемпферол ингибирует развитие воспаления и разрушение суставов при РА [37]. В модельных экспериментах с использованием мышей с СІА была продемонстрирована способность кемпферола снижать миграцию и инвазивность ФПС и подавлять индуцируемую ФНО- α активацию MAPK-киназы, что обусловило уменьшение тяжести артрита [38]. При проведении всестороннего исследования действия кемпферола использовали метод молекулярного докинга, эксперименты *in vitro* и *in vivo* [39]. *In silico* было показано, что кемпферол предположительно ингибирует рецепторы фактора роста фибробластов-3 (FGFR3), образуя ряд водородных связей с активным карманом домена киназы FGFR3. Подавление FGFR3 обуславливает угнетение рибосомальной киназы RSK2, что приводит к ингибированию пролиферации и миграции ФПС, как и высвобождения воспалительных цитокинов в синовиальной оболочке. Кроме того, это обусловило угнетение остеокластогенеза и обеспечило развитие противоартритного эффекта у мышей с СІА [39]. Приведенные сведения позволили назвать кемпферол перспективным кандидатным средством для лечения РА [37, 39].

Интерес привлекает и пренилированный гликозид кемпферола икариин. *In vitro* на клеточной модели показано, что икариин повышал выживаемость стимулированных синовиоцитов [39]. При воздействии на ФПС икариин ингибировал их пролиферацию и секрецию воспалительных цитокинов. Возможно, противоартритное

действие икариина реализуется через регулирование сигнальной оси miR-223-3p/NLRP3 [40]. Не исключено также, что противовоспалительное и, возможно, иммуномодулирующее действие икариина обусловлено существенным снижением количества клеток Th₁₇ и выработки ИЛ-17 посредством ингибирования сигнального пути STAT3 [41].

Другие флавонолы

Уменьшение отека конечностей, потери веса тела и повреждения суставов наблюдалось у крыс с АІА при применении флавонола морина. У самок крыс с СІА морин, сопоставимо с дексаметазоном, подавлял клинические и гистопатологические признаки экспериментального артрита, угнетая активность воспалительных цитокинов и ферментов. У крыс с АІА морин в комбинации с нестероидным противовоспалительным препаратом индометацином обеспечил развитие мощного противовоспалительного и противоартритного эффекта [42].

Исходя из выраженной противовоспалительной активности, перспективными в отношении РА представляются флавонолы фисетин, галангин и О-метилованный флавонол изорамнетин. Фисетин *in vitro* подавлял пролиферацию ФПС, а также продукцию воспалительных цитокинов [43]. Галангин в ФПС, стимулированных LPS, ингибировал повышенную экспрессию ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-18 и ПГЕ₂, а также ЦОГ-2 и iNOS, проявляя противовоспалительную и антиоксидантную активность. Противовоспалительная эффективность галангина, по всей видимости, была обусловлена угнетением сигнального пути NF- κ B/NLRP3 [44].

У мышей с СІА изорамнетин ослаблял проявления артрита, угнетая концентрацию воспалительных цитокинов и активность окислительного стресса. *In vitro* изорамнетин подавлял стимулированную ФНО- α жизнеспособность, миграцию и инвазивность ФПС, а также снижал уровень ММП, ФНО- α , ИЛ-6 и ИЛ-1 β . Докинг показал способность изорамнетина связываться с внеклеточной регулируемой киназой SRC, что и обусловило угнетение функциональной активности ФПС. При введении крысам с СІА фиксировалось снижение индекса артрита с уменьшением факторов воспаления в поврежденной синовиальной оболочке [45].

Флавоны

Апигенин

Апигенин *in vitro* ингибировал пролиферацию ФПС и активировал их апоптоз, а также угнетал жизнеспособность макрофагов человека [42, 46]. Сходный эффект был зафиксирован при использовании рамнозида апигенина,

который подавлял миграцию ФПС и угнетал экспрессию ММП-1, -3 и ФНО- α , по-видимому, за счет таргетирования сигнальных путей MAPK. При введении апигенина крысам с AIA и мышам с CIA наблюдалась задержка появления симптомов и ослабление тяжести заболевания со снижением воспалительной инфильтрации клеток в пораженные суставы и ослаблением гистопатологических признаков артрита. Флавор снижал созревание стимулированных LPS дендритных клеток (DC) и значительно уменьшал уровень молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, как и костимулирующих молекул на поверхности DC. Это, учитывая особенности патогенеза РА, указывает на возможность иммуномодулирующего эффекта апигенина [42, 46, 47]. Позднее на крысах с CIA было показано, что противоартритный эффект апигенина связан с ингибированием синовиальной гиперплазии и подавлением ангиогенеза.

Лютеолин

При использовании метода сетевой фармакологии недавно была предсказана вероятная эффективность при РА флавоноид лютеолина. Анализ результатов молекулярного докинга показал, что лютеолин демонстрирует высокую степень связывания в сети «соединение-мишень». Это подтвердилось при использовании стимулированных макрофагов RAW264.7 и эндотелиальных клеток пупочных вен человека, также активированных LPS. Эффективность лютеолина была подтверждена на модели AIA у крыс. Сетевой анализ помог выявить сигнальные пути, связанные с воспалением и ангиогенезом, на которые воздействовал лютеолин, по-видимому, блокируя передачу сигналов от рецепторов TLR4 [48].

Байкалеин/байкалин

Ряд многообещающих исследований в области РА касается флавоноидов байкалеина и, особенно байкалина [49]. *In vitro* байкалеин проявил выраженную противовоспалительную активность в отношении стимулированных ФПС человека, подавляя их пролиферацию за счет угнетения транскрипционной активности NF- κ B. Этот эффект был опосредован фактором, ингибирующим миграцию макрофагов (MIF) сигнального каскада MAPK/ERK/p38. Кроме того, в ФПС байкалеин подавлял экспрессию мРНК ФНО α , ИЛ-6, ИЛ-1 β и АФК, демонстрируя противовоспалительную и антиоксидантную эффективность. А байкалин ингибировал жизнеспособность и миграцию ФПС, индуцировал апоптоз и эпителиально-мезенхимальный переход этих клеток, что было обусловлено угнетением сигнального пути PI3K/AKT/mTOR [50]. Отмечена также способность байкалина ингибировать дифферен-

цировку клеток Th₁₇, стимулированных ИЛ-17, и активировать клетки T_{reg} [51]. Выявленную терапевтическую эффективность проявил байкалин у животных с экспериментальным артритом. У мышей с CIA байкалин угнетал экспансию клеток T₁₇ и снижал экспрессию молекул адгезии, как и провоспалительных цитокинов [52]. В других исследованиях на мышках с CIA при внутрибрюшинном введении байкалина наблюдали ослабление клинических проявлений артрита и снижение болевой чувствительности на фоне уменьшения факторов воспаления в синовиуме за счет подавления сигнального пути JAK/STAT3 [53, 54]. А у самцов крыс с CIA при введении байкалина было зарегистрировано ослабление рентгенологических и гистологических признаков повреждения суставов наряду с дозозависимым снижением содержания провоспалительных цитокинов и уровня экспрессии мРНК и белков TLR2, MYD 88 и NF- κ B p65 в синовиальной ткани [55]. Аналогичный результат был зафиксирован и у крыс с AIA при применении байкалина с подавлением белков, обеспечивающих аутофагию [56].

Флаваноны

Гесперетины

Установлена способность этих флавоноидов благоприятно влиять на различные звенья патогенеза РА, включая развитие синовиального воспаления и свободнорадикального окисления, а также воздействие на иммунные клетки и костный гомеостаз. *In vitro* при воздействии на стимулированные ФПС и макрофаги мышей гесперетины подавляли секрецию воспалительных цитокинов, а также экспрессию маркеров поляризации макрофагов до провоспалительного фенотипа M1 [57, 58]. Наиболее убедительные результаты были продемонстрированы при применении гесперетинов на моделях РА у грызунов. Значительный вклад в изучение влияния этих флаванонов на течение экспериментального артрита у крыс и мышей внесли китайские исследователи из Аньхойского медицинского университета, г. Хэвэй [59]. В их экспериментах гесперидин и 7,3'-диметоксигесперетин ингибировали воспалительные проявления AIA за счет подавления функциональной активности ФПС, активации апоптоза этих клеток посредством стимуляции каспазы-3, а также угнетали активность сигнального пути JAK2/STAT3. Высказано предположение о том, что противовоспалительное действие гесперетинов при РА обусловлено подавлением сигнального пути PI3K/AKT, что может снизить рекрутирование воспалительных клеток в синовиум, ослабить процесс клеточной пролиферации в очаге и активировать апоптоз ФПС [58]. В другом исследовании на крысах с AIA геспери-

дин не только значительно улучшал состояние животных, уменьшая шкалу артрита, но и оказывал обезболивающий эффект. Авторы обнаружили также нормализацию показателей крови, снижение сывороточного уровня интерферона-гамма (IFN- γ) и ИЛ-4 и уменьшение содержания в печени АФК и производных TBARS [60]. Так что возникла необходимость определить, влияют ли антиоксидантные свойства гесперетина на течение экспериментального РА. Выяснилось, что длительное введение гесперидина самкам крыс сопровождалось снижением содержания в печени и плазме крови активных форм TBARS и АФК параллельно с увеличением активности антиоксидантных ферментов. А способность гесперидина скавенировать АФК была подтверждена *in vitro* [60, 61]. Обнаруженный эффект предположительно связан с подавлением гесперидином сывороточной активности IFN- γ и ИЛ-4 за счет угнетения секреторной функции CD4⁺T-хелперных клеток Th₁ и Th₂ соответственно. А поскольку эти клетки играют важную роль в активации клеточного и гуморального иммунитета, имеются основания полагать, что ингибирование гесперидином функциональной активности Th₁ и Th₂ вносит вклад в развитие аутоиммунного процесса при РА [60].

Нарингины

Появляется все больше сведений относительно перспективности применения при РА нарингина и его гликозилированных форм, таких как нарингенин и нарингенин-6-С-гликозид. На ФПС, полученных от пациентов с РА и активированных клетках RAW264.7, нарингенин ингибировал уровень цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, а также АФК. Кроме того, было зафиксировано снижение экспрессии ММП, деградирующих внеклеточный матрикс [62, 63]. Существенной находкой одного из процитированных выше исследований [63] явилось ускорение нарингином апоптоза ФПС, что ослабляет их функциональную активность при РА. Этот эффект был обусловлен повышением активности каспазы-3 и соотношения Вах/Vcl-2. Обнаруженное действие авторы, пользуясь методом сетевой фармакологии, связывают с угнетением сигнальных путей MAPK/ERK и PI3K/AKT. Противовоспалительный эффект нарингенинов был продемонстрирован и на моделях РА у животных [62]. Облегчение течения заболевания было зарегистрировано при применении нарингина у крыс и мышей с CIA, SFA и ZIA [64, 65]. При этом на фоне снижения в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов фиксировалось снижение функциональной активности CD4⁺T-лимфоцитов, играющих важнейшую роль в прогрессировании РА. Показано, что нарингенин уг-

нетал поляризацию CD4⁺T-клеток в селезенке и их миграцию в пораженные суставы. Наблюдавшийся эффект был обусловлен угнетением функционирования митохондрий, обеспечивающих энергией двигательную активность T-лимфоцитов [65].

Флаван-3-олы

Многообещающими для профилактики и возможно-го лечения РА выглядят некоторые флаван-3-олы (катехины). Целый ряд клинических наблюдений иллюстрирует интерес, который вызывает регулярное применение для этого зеленого чая или его экстрактов, содержащих целый набор катехинов с преобладанием эпигаллокатехина 3-галлата (EGCG). Исследователями из Японии, Ирана, Саудовской Аравии, Швеции показано, что потребление зеленого чая как с профилактической, так и с лечебной целью в количестве 4-6 чашек в день на протяжении нескольких месяцев дает весьма обнадеживающие результаты [66].

В экспериментах *in vitro* с использованием активированных ФПС от пациентов с РА наблюдали, что катехины и экстракты зеленого чая проявили противовоспалительную активность, наиболее выраженную у EGCG. Эта активность проявилась в подавлении выработки и секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов [42, 67]. Противовоспалительный эффект EGCG был обусловлен ингибированием активности ЦОГ-2, а также угнетением внутриклеточных сигнальных путей, обеспечиваемых NF- κ B и MAPK. Кроме того, активировался противовоспалительный каскад Nrf2/НО-1 [68]. Не исключено, что вклад в развитие противовоспалительного действия катехинов вносит их способность ингибировать активность киназы TAK-1, участвующей в передаче воспалительного сигнала в ответ на стимуляцию ИЛ-1 β , ФНО- α и Toll-подобных рецепторов. По крайней мере, в экспериментах с использованием молекулярного докинга было обнаружено, что флаван-3-олы занимали активный сайт в киназном домене TAK-1. При этом EGCG связывался с большей частью этого сайта [69]. В ФПС и фибробластах сухожилий EGCG подавлял продукцию ряда ММП, что приводило к ослаблению резорбции кости и формирования паннуса [67, 70]. Тот же катехин проявил способность модулировать активность иммунных клеток, таких как T- и B-лимфоциты, а также макрофаги, обеспечивая ослабление иммунного ответа и развитие иммунного воспаления. Кроме того, было предположено, что EGCG может ингибировать дифференцировку хелперных клеток Th₁₇ и увеличивать содержание клеток T_{reg} [67, 71]. Наконец, были получены доказательства того, что EGCG активирует апоптоз ФПС, что существен-

но ослабляет инвазивность последних. В этих же клетках катехин также ингибировал конститутивную и индуцированную экспрессию антиапоптотического белка Mcl-1 и активировал каспазу-3. Оба механизма повышали чувствительность ФПС к апоптозу [67].

Полученные *in vitro* результаты подтвердились при моделировании РА у грызунов. EGCG на этих моделях вызывал снижение уровня свободных радикалов, а также увеличение активности антиоксидантных ферментов и экспрессии Nrf2 и HO-1, нормализуя баланс окислительного и антиоксидантного процессов. При этом наблюдалась положительная динамика гистопатологических и рентгенологических показателей артрита [67, 68]. На моделях также было зафиксировано ослабление аутоиммунного процесса. Это указывает на подавление активности Th₁₇ клеток и увеличение содержания клеток T_{рег}, а также существенное снижение инфильтрации макрофагов в пораженные суставы [58, 68, 71].

Примечательно, что совместное применение флаван-3-олов с такими препаратами, как дексаметазон и метотрексат, усиливало взаимную терапевтическую эффективность [72, 73].

Изофлавоны

Интерес в контексте предупреждения и лечения РА представляют изофлавоны. Кроме известных противовоспалительных, антиоксидантных и иммуномодулирующих свойств этих флавоноидов, нельзя не обратить внимание на их эстрогенную активность. Интересующие нас литературные данные касаются в основном таких изофлавонов, как генистеин и даидзеин.

Генистеин

В экспериментах *in vitro* на стимулированных клетках МН7А генистеин заметно снижал секрецию ИЛ-1β, ИЛ-6 и ИЛ-8, предотвращал ядерную транслокацию NF-κB, фосфорилирование IκB-киназы и ингибирование киназы АМРК [74]. Полученные данные позволили авторам высказать предположение о том, что генистеин подавляет индуцированное ФНО-α воспаление, ингибируя каскад ROS/АКТ/NF-κB и способствуя активации АМРК в синовиоцитах человека. Сходную активность проявлял генистеин и в отношении ФПС от пациентов с РА. Прямое воздействие изофлавона на активированные ФПС обусловило ингибирование экспрессии ММП-9, а также пролиферацию синовиоцитов, обеспечиваемую ERK1/2 [75]. Благоприятный эффект генистеина подтвержден на моделях РА у животных [46, 76]. Введение изофлавона мышам с CIA обусловило развитие противовоспалительного и иммуномодулирующего эффектов, ингибируя

иммунные клетки и снижая уровень аутоантител к коллагену II. Кроме того, было продемонстрировано ингибирование генистеином аутоиммунного воспаления за счет восстановления баланса Т-лимфоцитов и гликозилирования иммуноглобулина IgG. При этом ослабление аутоиммунного воспаления было связано с угнетением свободнорадикального окисления и остановкой клеточного цикла синовиоцитов в фазе G1 [46].

Даидзеин

Рассматривая действие даидзеина, процитируем точку зрения, согласно которой «...Этот фитоэстроген является наиболее подходящим соединением для применения при РА ...» [46]. Экспериментальные данные показали, что даидзеин на модели РА у крыс ослаблял симптомы артрита и проявлял выраженное противовоспалительное действие, снижая плазменную концентрацию провоспалительных цитокинов, что получило подтверждение в исследованиях *in vitro* [77]. По-видимому, вклад в эффект даидзеина вносит антиоксидантное действие. Показана его способность снижать прооксидантную активность и повышать содержание антиоксидантных ферментов. Особо отметим обнаруженную у даидзеина способность восстанавливать сниженную у крыс с CIA активность ферментов параоксоназы и арилэстеразы, что также вносит вклад в его антиоксидантный эффект. Эти ферменты, проявляющие антиоксидантные свойства, как выяснилось, подавлены у пациентов с РА, что подчеркивает ценность эффекта даидзеина [46, 78, 79]. Попутно заметим, что помимо повышения активности отмеченных ферментов, даидзеин существенно снижал плазменный уровень триглицеридов, ЛПНП, ЛПОНП и повышал содержание ЛПВП. Это указывает на перспективность даидзеина как средства, снижающего риск развития атеросклероза у пациентов с РА [78].

Подводя итоги обсуждаемой проблеме, подчеркнем потенциальную терапевтическую эффективность целого ряда флавоноидов в лечении ревматоидного артрита. Первые немногочисленные клинические результаты, а также значительное число экспериментальных данных, полученных *in vitro* и на моделях РА у животных, убеждают в целесообразности применения флавоноидов в качестве лекарственных средств вспомогательной терапии при данной аутоиммунной патологии. На это указывают в первую очередь выраженные противовоспалительные, антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства рассматриваемых природных полифенолов. Не вызывает сомнений, что с решением проблемы повышения биодоступности флавоноидов они займут достойное место в комплексной терапии ревматоидного артрита.

**Литература
(п 4; 5; 7-29; 31-79 см. References)**

1. Насонов Е.Л. Проблемы иммунопатологии ревматоидного артрита: эволюция болезни. *Научно-практическая ревматология*. 2017; 55(3): 277-94. <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2017-277-294>
2. Насонов Е.Л. Современная концепция аутоиммунитета в ревматологии. *Научно-практическая ревматология*. 2023; 61(4): 397-420. <https://doi.org/10.47360/1995-4484-2023-397-420>
3. Рыкунова А.Я., Зверев Я.Ф. Современные представления о патогенезе ревматоидного артрита. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(4): 59-70. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2024.04.59-70>
6. Зверев Я.Ф., Рыкунова А.Я. Фармакология флавоноидов. Барнаул: КГБУ Типография Управления делами администрации Алтайского края. 2023. ISBN 978-5-600-03709-0
30. Зверев Я.Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Особенности и проблемы фармакокинетики. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2017; 15(2): 4-11. <https://doi.org/10.17816/RCF1524-11>

References

1. Nasonov E.L. Problems of rheumatoid arthritis. Evolution of the disease. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya*. 2017; 55(3): 277-94 <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2017-277-294> (in Russian)
2. Nasonov E.L. Modern concept of autoimmunity in rheumatology. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya*. 2023; 61 (4): 397-420. <https://doi.org/10.47360/1995-4484-2023-397-420> (in Russian)
3. Rykunova A.Ya., Zverev Ya.F. Modern concepts of the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2024; 68(4): 59-70. <https://doi.org/10.48612/pfiet/0031-2991.2024.04.59-70> (In Russian)
4. Ding Q., Hu W., Wang R., Yang Q., Zhu M., Li M. et al. Signaling pathways in rheumatoid arthritis: implications for targeted therapy. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2023; 8: 68. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01331-9>
5. Kwon D.Y, Gu J.H, Oh M, Lee E-J. Combination effects of herbal and western medicines on osteoporosis in rheumatoid arthritis: systematic review and meta-analysis. *Front. Pharmacol.* 2023; 14: 1164898. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1164898>
6. Zverev Ya. F., Rykunova A. Ya. *Pharmacology of flavonoids. [Farmakologiya flavonoidov]*. Barnaul, 2023. ISBN 978-5-600-03709-0 (in Russian)
7. Guardia T., Rotelli A.E., Juarez A.O., Pelzer L.E. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids, effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Farmaco*. 2001; 56(9): 683-7. [https://doi.org/10.1016/s0014-827x\(01\)01111-9](https://doi.org/10.1016/s0014-827x(01)01111-9)
8. Kauss T., Moynet D., Rambert J., Al-Kharrat A., Brajot S. et al. Rutoside decreases human macrophage-derived inflammatory mediators and improves clinical signs in adjuvant-induced arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2008; 10(1): R19. <https://doi.org/10.1186/ar2372>
9. Kawaguchi K., Kaneko M., Miyake R., Takimoto H., Kumazawa Y. Potent inhibitory effects of quercetin on inflammatory responses of collagen-induced arthritis in mice. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*. 2019; 19(3): 308-15. <https://doi.org/10.2174/1871530319666190206225034>
10. Yuan K., Zhu Q., Lu Q., Jiang H., Zhu M., Li X., Huang G., Xu A. Quercetin alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting neutrophil inflammatory activities. *J. Nutr. Biochem.* 2020; 84: 108454. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108454>
11. Ansari M., Khan N.H.A. Quercetin alleviate oxidative stress and inflammation through upregulation of antioxidant machinery and down-regulation of COX2 and NF-κB expression in collagen induced rheumatoid arthritis. *Int. J. Drug Dev. Res.* 2014; 6(1): 215-32.
12. Yang Y., Zhang X., Xu M., Wu X., Zhao F., Zhao C. Quercetin attenuates collagen-induced arthritis by restoration of Th₁₇/T_{reg} balance and activation of heme oxygenase 1-mediated anti-inflammatory effect. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 54: 153-62. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.11.013>
13. Guazelli C.F.S., Staurengo-Ferrari L., Zarpelon A.C., Pinho-Ribeiro F.A., Ruiz-Miyazawa K.W. et al. Quercetin attenuates zymosan-induced arthritis in mice. *Biomed. Pharmacother.* 2018; 102: 175-84. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.057>
14. Haleagrahara N., Hodgson K., Miranda-Hernandez S., Hughes S., Kulur A.B, Ketheesan N. Flavonoid quercetin-methotrexate combination inhibits inflammatory mediators and matrix metalloproteinase expression, providing protection to joints in collagen-induced arthritis. *Inflammopharmacology*. 2018; 26(5): 1219-32. <https://doi.org/10.1007/s10787-018-0464-2>
15. Shen P., Lin W., Ba X., Huang Y., Chen Z. et al. Quercetin-mediated SIRT1 activation attenuates collagen-induced mice arthritis. *J. Ethnopharmacol.* 2021; 279: 114213. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114213>
16. Liu X., Tao T., Yao H., Zheng H., Wang F., Gao Y. Mechanism of action of quercetin in rheumatoid arthritis models: meta-analysis and systematic review of animal studies. *Inflammopharmacology*. 2023; 31(4): 1629-45. <https://doi.org/10.1007/s10787-023-01196-y>
17. Shao Y-R., Xu D-Y., Lin J. Nutrients and rheumatoid arthritis: from the perspective of neutrophils. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1113607. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1113607>
18. Borghi S.M., Mizokami S.S., Pinho-Ribeiro F.A., Fattori V., Crespigio J. The flavonoid quercetin inhibits titanium dioxide (TiO₂)-induced chronic arthritis in mice. *J. Nutr. Biochem.* 2018; 53: 81-95. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.10.010>
19. El-Said K.S., Atta A., Mobasher M.A., Germoush M.O., Mohamed T.M., Salem M.M. Quercetin mitigates rheumatoid arthritis by inhibiting adenosine deaminase in rats. *Mol. Med.* 2022; 28: 24. <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00432-5>
20. Tang M., Zeng Y., Peng W., Xie X., Yang Y. et al. Pharmacological aspects of natural quercetin in rheumatoid arthritis. *Drug Des. Devel. Ther.* 2022; 16: 2043-53. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S364759>

21. Atta A., Salem M.M., El-Said K.S., Mohamed T.M. Mechanistic role of quercetin as inhibitor for adenosine deaminase enzyme in rheumatoid arthritis: systematic review. *Cell. Mol. Biol. Let.* 2024; 29(1): 14. <https://doi.org/10.1186/s11658-024-00531-7>
22. Zhao J., Chen B., Peng X., Wang K., Han F., Xu J. Quercetin suppresses migration and invasion by targeting miR-146a/GATA6 axis in fibroblast-like synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2020; 42(3): 2212–27. <https://doi.org/10.1080/08923973.2020.1742732>
23. Kim H-R., Kim B-M., Won J-Y., Lee K-A., Ko H-j.M. et al. Quercetin, a plant polyphenol, has potential for the prevention of bone destruction in rheumatoid arthritis. *J. Med. Food.* 2019; 22(2): 152–61. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.4259>
24. Saccol R.S.P., da Silveira K.L., Manzoni A.G., Abdalla F.H., de Oliveira J.S. Antioxidant, hepatoprotective, genoprotective, and cytoprotective effects of quercetin in a murine model of arthritis. *J. Cell. Biochem.* 2020; 121(4): 2792–801. <https://doi.org/10.1002/jcb.29502>
25. Endale M., Park S-C., Kim S., Kim S-H., Yang Y. et al. Quercetin disrupts tyrosine-phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase and myeloid differentiation factor-88 association, and inhibits MAPK/AP-1 and IKK/NF- κ B-induced inflammatory mediators production in RAW 264.7 cells. *Immunobiology.* 2013; 218(12): 1452–67. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2013.04.019>
26. Zhang L., Zhang Y., Zhong W., Di C., Lin X., Xia Z. Heme oxygenase-1 ameliorates dextran sulfate sodium-induced acute murine colitis by regulating Th17/Treg cell balance. *J. Biol. Chem.* 2014; 289(39): 26847–58. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.590554>
27. Haleagrahara N., Miranda-Hernandez S., Alim M.A., Hayes L., Bird G., Ketheesan N. Therapeutic effect of quercetin in collagen-induced arthritis. *Biomed. Pharmacother.* 2017; 90: 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.03.026>
28. Haleagrahara N., Hodgson K., Miranda-Hernandez S., Hughes S., Kulur A.B., Ketheesan N. Flavonoid quercetin-methotrexate combination inhibits inflammatory mediators and matrix metalloproteinase expression, providing protection to joints in collagen-induced arthritis. *Inflammopharmacology.* 2018; 26(5): 1219–32. <https://doi.org/10.1007/s10787-018-0464-2>
29. Ibrachim S.S.A., Kandil L.S., Ragab G.M., El-Sayyad S.M. Micro RNAs 26b, 20a inversely correlate with GSK-3 β /NF- κ B/NLRP-3 pathway to highlight the additive promising effects of atorvastatin and quercetin in experimental induced arthritis. *Int. Immunopharmacol.* 2021; 99: 108042. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108042>
30. Zverev Ya.F. Flavonoids through the eyes of a pharmacologist. Features and problems of pharmacokinetics. *Obzory' po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii.* 2017; 15(2): 4–11. <https://doi.org/10.17816/RCF1524-11> (In Russian)
31. Zverev Ya.F., Rykunova A.Ya. Modern nanocarriers as a factor in increasing the bioavailability and pharmacological activity of flavonoids. *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2022; 58(9): 1002–20. <https://doi.org/10.1134/s0003683822090149>
32. Han Z., Gao X., Wang Y., Cheng S., Zhong X. et al. Ultrasmall iron-quercetin metal natural product nanocomplex with antioxidant and macrophage regulation in rheumatoid arthritis. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2023; 13(4): 1726–39. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.11.020>
33. Jeyadevi R., Sivasudha T., Rameshkumar A., Ananth D.A., Aseervatham G.S.B. Enhancement of antiarthritic effect of quercetin using thioglycolic acid-capped cadmium telluride quantum dots as nanocarrier in adjuvant induced arthritic Wistar rats. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2013; 112: 255–63. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.07.065>
34. Li X., Wang X., Qu X., Shi N., Li Q. et al. Microenvironmental enzyme-responsive methotrexate modified quercetin micelles for the treatment of rheumatoid arthritis. *Int. J. Nanomedicine.* 2024; 19: 3259–73. <https://doi.org/10.2147/IJN.S457004>
35. Souza K.S., Moreira L.S., Silva B.T., Oliveira B.P.M., Carvalho A.S. et al. Low dose of quercetin-loaded pectin/casein microparticles reduces the oxidative stress in arthritic rats. *Life Sci.* 2021; 284: 119910. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119910>
36. Hannan A., Akhtar B., Sharif A., Anjum F., Pasha I. et al. Quercetin-loaded chitosan nanoparticles ameliorate adjuvant-induced arthritis in rats by regulating anti-oxidant enzymes and downregulating pro- and inflammatory cytokines. *Inflammopharmacology.* 2023; 31: 287–300. <https://doi.org/10.1007/s10787-022-01118-4>
37. Yoon H-Y., Lee E-G., Lee H., Cho I.J., Choi Y.J. et al. Kaempferol inhibits IL-1 β -induced proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and the production of COX-2, PGE2 and MMPs. *Int. J. Mol. Med.* 2013; 32(4): 971–7. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1468>
38. Pan D., Li N., Liu Y., Xu Q., Liu Q. et al. Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by blocking activation of the MAPK pathway. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 55: 174–82. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.12.011>
39. Lee C-J., Moon S-J., Jeong J-H., Lee S., Lee M-H. et al. Kaempferol targeting on the fibroblast growth factor receptor 3-ribosomal S6 kinase 2 signaling axis prevents the development of rheumatoid arthritis. *Cell. Death Dis.* 2018; 9(3): 401. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0433-0>
40. Luo H., Zhang R. Icarin enhances cell survival in lipopolysaccharide-induced synoviocytes by suppressing ferroptosis via the xc-/GPX4 axis. *Exp. Ther. Med.* 2021; 21: 72. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9504>
41. Wu Z.M., Luo J., Shi X.D., Zhang S.X., Zhu X.B., Guo J. Icarin alleviates rheumatoid arthritis via regulating miR-223-3p/NLRP3 signalling axis. *Autoimmunity.* 2020; 53(8): 450–8. <https://doi.org/10.1080/08916934.2020.1836488>
42. Hughes S.D., Ketheesan N., Haleagrahara N. The therapeutic potential of plant flavonoids on rheumatoid arthritis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017; 57(17): 3601–13. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1246413>
43. Lee J.D., Huh J.E., Jeon G., Yang H.R., Woo H.S. et al. Flavonol-rich RVHxR from *Rhus verniciflua* Stokes and its major compound fisetin inhibits inflammation-related cytokines and angiogenic factor in rheumatoid arthritis fibroblast-like synovial cells and *in vivo* models. *Int. Immunopharmacol.* 2009; 9(3): 268–76. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.11.005>
44. Fu Q., Gao Y., Zhao H., Wang Z., Wang J. Galangin protects human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via suppression of the

NF- κ B/NLRP3 pathway. *Mol. Med. Rep.* 2018; 18(4): 3619–24. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9422>

45. Liu X-R., Li S-F., Mei W-Y., Liu X-D., Zhou R-B. Isorhamnetin downregulates MMP2 and MMP9 to inhibit development of rheumatoid arthritis through SRC/ERK/CREB pathway. *Chin. J. Integr. Med.* 2024; 30(4): 299–310. <https://doi.org/10.1007/s11655-023-3753-6>

46. Chakraborty D., Gupta K., Biswas S. A mechanistic insight of phytoestrogens used for rheumatoid art-hritis: on evidence-based review. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 133: 111039. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111039>

47. Cao D., Fan Q., Li Z., Chen M., Jiang Y. et al. Transcriptomic profiling revealed the role of apigenin-4'-O- α -L-rhamnoside in inhibiting the activation of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via MAPK signaling pathway. *Phytomedicine.* 2022; 102: 154201. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154201>

48. Xiao B., Li J., Qiao Z., Yang S., Kwan H-Y. et al. Therapeutic effects of *Siegesbeckia orientalis* L. and its active compound luteolin in rheumatoid arthritis: network pharmacology, molecular docking and experimental validation. *J. Ethnopharmacol.* 2023; 317: 116852. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116852>

49. Dinda B., Dinda S., DasSharma S., Banik R., Chakraborty A., Dinda M. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against inflammatory disorders. *Eur. J. Med. Chem.* 2017; 131: 68–80. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.004>

50. Zhang X., Guan X., Piao Y., Che X., Si M., Jin J. Baicalein induces apoptosis of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through inactivation of the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2022; 2022: 3643265. <https://doi.org/10.1155/2022/3643265>

51. Yang J., Yang Y., Chu Y., Li M. Identification of baicalin as an immunoregulatory compound by controlling T_H17 cell differentiation. *PLoS One.* 2011; 6 (2): e17164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017164>

52. Yang X., Yang J., Zou H. Baicalin inhibits IL-17-mediated joint inflammation in murine adjuvant-induced arthritis. *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013: 268065. <https://doi.org/10.1155/2013/268065>

53. Wang C., Song Y., Wang X., Mao R., Song L. Baicalin ameliorates collagen-induced arthritis through the suppression of Janus kinase 1 (JAK1)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling in mice. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 9213–222. <https://doi.org/10.12659/MSM.910347>

54. Sun F., Gu W. Baicalin attenuates collagen-induced arthritis via inhibition of JAK₂-STAT₃ signaling and regulation of Th17 cells in mice. *J. Cell. Commun. Signal.* 2019; 13(1): 65–73. <https://doi.org/10.1007/s12079-018-0475-1>

55. Bai L., Bai Y., Yang Y., Zhang W., Huang L. et al. Baicalin alleviates collagen-induced arthritis and suppresses TLR2/MYD88/NF- κ B p65 signaling in rats and HELS-RAs. *Mol. Med. Rep.* 2020; 22(4): 2833–41. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11369>

56. Chen X., Wang Y., Cai J., Wang S., Cheng Z. et al. Anti-inflammatory effect of baicalin in rats with adjuvant arthritis and its autophagy-related mechanism. *Technol. Health Care.* 2022; 30(S1): 191–200. <https://doi.org/10.3233/THC-228018>

57. Wang X-H., Dai C., Wang J., Liu R., Li L., Yin Z-S. Therapeutic effect of neohesperidin of TNF- α -stimulated human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Chin. J. Nat. Med.* 2021; 19(10): 741–9. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(21\)60107-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(21)60107-3)

58. Qi W., Lin C., Fan K., Chen Z., Liu L. et al. Hesperidin inhibits synovial cell inflammation and macrophage polarization through suppression of the PI3K/AKT pathway in complete Freund's adjuvant-induced arthritis in mice. *Chem. Biol. Interact.* 2019; 306: 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.04.002>

59. Li R., Li J., Cai L., Hu C-m., Zhang L. Suppression of adjuvant arthritis by hesperidin in rats and its mechanisms. *JPP.* 2008; 60(2): 221–8. <https://doi.org/10.1211/jpp.60.2.0011>

60. Adefegha S.A., Bottari N.B., Leal D.B., de Andrade C.M., Scheitinger M.R. Interferon gamma/interleukin-4 modulation, anti-inflammatory and antioxidant effects of hesperidin in complete Freund's adjuvant (CFA)-induced arthritis model of rats. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2020; 42(5): 509–20. <https://doi.org/10.1080/08923973.2020.1814806>

61. Umar S., Kumar A., Sajad M., Zargan J., Ansari M.. et al. Hesperidin inhibits collagen-induced arthritis possibly through suppression of free radical load and reduction in neutrophil activation and infiltration. *Rheumatol. Int.* 2012; 33 (3): 57–63. <https://doi.org/10.1007/s00296-012-2430-4>

62. Zhang G., Sun G., Guan H., Li M., Liu Y. et al. Naringenin nanocrystals for improving anti-rheumatoid arthritis activity. *Asian J. Pharm. Sci.* 2021; 16(6): 816–25. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2021.09.001>

63. Aihaiti Y., Cai Y.S., Tuerhong X., Yang Y.N., Ma Y. et al. Therapeutic effects of naringin in rheumatoid arthritis: network pharmacology and experimental validation. *Front. Pharmacol.* 2021; 12: 672054. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.672054>

64. Bussmann A.J.C., Borghi S.M., Zaninelli T.H., Dos Santos T.S., Guazelli C.F.S. et al. The citrus flavanone naringenin attenuates zymosan-induced mouse joint inflammation: induction of Nrf2 expression in recruited CD45 hematopoietic cells. *Inflammopharmacology.* 2019; 27(6): 1229–42. <https://doi.org/10.1007/s10787-018-00561-6>

65. Jiang Y-P., Wen J-J., Zhao X-X., Gao Y-C., Ma X. et al. The flavonoid naringenin alleviates collagen-induced arthritis through curbing the migration and polarization of CD4⁺T lymphocyte driven by regulating mitochondrial fission. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24: 279. <https://doi.org/10.3390/ijms24010279>

66. Xie X., Fu J., Gou W., Qin Y., Wang D. et al. Potential mechanism of tea for treating osteoporosis, osteoarthritis, and rheumatoid arthritis. *Front. Med.* 2024; 11: 1289777. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1289777>

67. Ahmed S. Green tea polyphenol epigallocatechin 3-gallate in arthritis: progress and promise. *Athritis Res. Ther.* 2010; 12(2): 208. <https://doi.org/10.1186/ar2982>

68. Kciuk M., Garg A., Rohilla R., Dhankhar S., Dhiman S. et al. Therapeutic potential of plant-derived compounds and plant extracts in rheumatoid arthritis-comprehensive review. *Antioxidants (Basel).* 2024; 13(7): 775. <https://doi.org/10.3390/antiox13070775>

69. Singh A.K., Umar S., Riegsecker S., Chourasia M., Ahmed S. Regulation of transforming growth factor β -activated kinase activation by epigallocatechin-3-gallate in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts: suppression of K(63)-linked autoubiquitination of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68(2): 347–58. <https://doi.org/10.1002/art.39447>

70. Sivasakthi P., Priya E.S., Selvan P.S. Molecular insights into phytochemicals exhibiting anti-arthritis activity: systematic review: John Di Battista. *Inflamm. Res.* 2021; 70(6): 665–85. <https://doi.org/10.1007/s00011-021-01471-0>
71. Liu X., Wang Z., Qian H., Tao W., Zhang Y. et al. Natural medicines of targeted rheumatoid arthritis and its action mechanism. *Front Immunol.* 2022; 13: 945129. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.945129>
72. Roy S., Sannigrahi S., Vaddepalli R., Ghosh B., Pusp P. A novel combination of methotrexate and epigallocatechin attenuates the overexpression of pro-inflammatory cartilage cytokines and modulates antioxidant status in adjuvant arthritic rats. *Inflammation.* 2012; 35(4): 1435–447. <https://doi.org/10.1007/s10753-012-9457-2>
73. Roy S., Sannigrahi S., Ghosh B., Pusp P., Roy T. Combination therapy of dexamethasone with epigallocatechin enhances tibiotarsal bone articulation and modulates oxidative status correlates with cartilage cytokines expression in the early phase of experimental arthritis. *Eur. J. Pharmacol.* 2013; 698(1–3): 444–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.11.004>
74. Li J., Li J., Yue Y., Hu Y., Cheng W. et al. Genistein suppresses tumor necrosis factor α -induced inflammation via modulating reactive oxygen species/Akt/nuclear factor κ B and adenosine monophosphate-activated protein kinase signal pathways in human synovial cell MH7A cells. *Drug Des. Devel. Ther.* 2014; 8: 315–23. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S52354>
75. Zhang Y., Dong J., He P., Li W., Zhang Q. et al. Genistein inhibits cytokines or growth factor-induced proliferation and transformation phenotype in fibroblast-like synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Inflammation.* 2012; 35(1): 377–87. <https://doi.org/10.1007/s10753-011-9365-x>
76. Ramesh P., Jagadeesan R., Sekaran S., Dhanasekaran A., Vimalraj S. Flavonoids: classification, function, and molecular mechanisms involved in bone remodelling. *Front. Endocrinol (Lausanne).* 2021; 12: 779638. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.779638>
77. Erdayandi G.E., Yilmaz O., Kerimoglu G., Sahin E., Dogan S.Y. Can intra-articular daidzein injection reduce oxidative damage and early osteoarthritis in a rabbit temporomandibular joint model? *BMC Oral Health.* 2024; 24(1): 1193. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04990-4>
78. Ahmad S., Alam K., Hossain M.M., Fatima M., Firdaus F. et al. Anti-arthritis and cardioprotective action of hesperidin and daidzein in collagen-induced rheumatoid arthritis. *Mol. Cell. Biochem.* 2016; 423(1–2): 115–27. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2830-y>
79. Isik A., Koca S.S., Ustundag B., Celik H., Yildirim A. Paraxonase and arylesterase levels in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2007; 26: 342–8. <https://doi.org/10.1007/s10067-006-0300-8>

Сведения об авторах:

Зверев Яков Федорович, доктор мед. наук, проф. каф. патологической физиологии Алтайского государственного медицинского университета, e-mail: zveyasha@mail.ru

Рыкунова Анна Яковлевна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии Алтайского государственного медицинского университета, e-mail: zveranna@mail.ru.

УДК 615.32

© Коллектив авторов, 2025

Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., Тимохина А.С., Дыдыкина А.А., Семкина О.А.**Трава топинамбура – перспективный источник биологически активных веществ**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), 117216, Россия, Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

Введение. Статья посвящена экспериментальным исследованиям по изучению фармакологической активности сухого экстракта травы топинамбура. Трава топинамбура содержит биологически активные вещества (БАВ), включая фенольные соединения, которые обладают антиоксидантным, противовоспалительным и гепатопротекторным действием. Ранее нами было установлено, что экстракт травы топинамбура обладает гепатопротекторным действием, уменьшая отрицательное воздействие тетрахлорметана на печень лабораторных крыс, что подтверждено биохимическими и гистологическими исследованиями. **Цель работы:** выявление возможных механизмов гепатопротекторного действия экстракта, а также оценка его противовоспалительной активности *in vitro* и *in vivo*.

Методика. Объект исследования – сухой экстракт травы топинамбура, содержание суммы фенольных соединений в котором в пересчете на хлорогеновую кислоту составляет $5,13 \pm 0,44\%$, а также фракции БАВ различной полярности: этилацетатная, бутанольная, спиртовая и водная. Оценка возможных механизмов антиоксидантного и противовоспалительного действия БАВ травы топинамбура проводили с использованием специфических ферментных биотест-систем на основе цитохрома P450, глутатионтрансферазы и индуцибельной NO-синтазы, входящих в Биологическую коллекцию специфических ферментных биотест-систем ФГБНУ ВИЛАР. Изучение противовоспалительной активности *in vivo* проводили на модели формалинового отека лап мышей.

Результаты. В условиях данной модели экстракт уменьшает отек на 15%, оказывая тем самым достоверно выраженное противовоспалительное действие. В опытах *in vitro* активность экстракта проявляется через связывание БАВ с ферментами, что позволяет предположить возможные механизмы антиоксидантного и противовоспалительного действия этого растения.

Заключение. Таким образом, экстракт травы топинамбура по результатам проведенных исследований перспективен для создания новых эффективных лекарственных растительных препаратов.

Ключевые слова: биологическая активность; противовоспалительная активность; специфические ферментные биотест-системы; экстракт травы топинамбура.

Для цитирования: Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., Тимохина А.С., Дыдыкина А.А., Семкина О.А. Трава топинамбура – перспективный источник биологически активных веществ. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 196–205

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.196-205

Для корреспонденции: Лупанова Ирина Александровна, руководитель Центра доклинических исследований ФГБНУ ВИЛАР, доктор биол. наук, e-mail: lupanova@vilarnii.ru

Участие авторов: Концепция и дизайн исследования – Лупанова И.А., Ферубко Е.В.; сбор и обработка материала – Курманова Е.Н., Тимохина А.С., Дыдыкина А.А.; статистическая обработка – Курманова Е.Н., Лупанова И.А.; написание текста – Лупанова И.А., Курманова Е.Н.; редактирование текста – Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Семкина О.А. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Финансирование: Исследование не имело спонсорской поддержки. Данная работа проведена согласно плану научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Проведение доклинических исследований лекарственных средств растительного происхождения» (FGUU-2025-0003) и «Сохранение, развитие и изучение биокolleкций различного направления с целью проведения приоритетных фундаментальных и прикладных исследований» (FGUU-2025-0001).

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

Поступила 12.09.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

Lupanova I.A., Ferubko E.V., Kurmanova E.N., Timohina A.S., Didikina A.A., Semkina O.A.

Helianthus tuberosus aerial parts: An emerging source of bioactive constituents

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7 Grina Str., Moscow, 117216, Russian Federation

Introduction. This study investigates the pharmacological properties of a dry extract obtained from *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) herb, a rich source of bioactive compounds (BAC), including phenolic derivatives with demonstrated antioxidant, anti-inflammatory, and hepatoprotective effects. Building upon prior findings confirming the extract's hepatoprotective efficacy-evidenced by its mitigation of carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats through biochemical and histopathological assessments. **The aim** of the work elucidates the mechanistic basis of such effects and evaluates its anti-inflammatory potential using *in vitro* and *in vivo* models.

Methodology. The research focuses on a standardized dry extract containing $5.13 \pm 0.44\%$ total phenolics (expressed as chlorogenic acid equivalents), alongside fractionated BACs of differential polarity (ethyl acetate, butanol, alcoholic, and aqueous fractions). Mechanistic studies employed specialized enzymatic bioassay systems (cytochrome P450, glutathione transferase, and inducible NO synthase) from the VILAR Research Institute's Biological Collection to delineate the detoxification and anti-inflammatory pathways. *In vivo* anti-inflammatory activity was assessed via a formalin-induced murine paw edema model.

Results. In this model, the extract elicited a statistically significant 15% reduction in edema. Complementary *in vitro* analyses revealed enzyme-BAC interactions as a plausible molecular foundation for the observed bioactivity.

Summary. Collectively, these findings underscore the therapeutic potential of *H. tuberosus* extract as a candidate for developing novel plant-derived pharmaceuticals with hepatoprotective and anti-inflammatory applications.

Keywords: biological activity; anti-inflammatory activity; specific enzymatic bioassay systems; *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) herb extract

For citation: Lupanova I.A., Ferubko E.V., Kurmanova E.N., Timokhina A.S., Dydykina A.A., Semkina O.A. *Helianthus tuberosus* aerial parts: An emerging source of bioactive constituents. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 196–205. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.196-205

Author's contribution: concept and design of the study – Lupanova I.A., Ferubko E.V.; collection and processing of material – Timokhina A.S., Kurmanova E.N., Dydykina A.A.; statistical processing – Kurmanova E.N., Lupanova I.A. text writing – Lupanova I.A., Kurmanova E.N., editing – Lupanova I.A., Ferubko E.V., Semkina O.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Irina A. Lupanova*, PhD (Biology), Head of the Preclinical Research Center, e-mail: lupanova@vilarnii.ru

Information about authors:

Irina A. Lupanova, <https://orcid.org/0000-0001-8183-2877>

Ekaterina V. Ferubko, <https://orcid.org/0000-0003-1949-2597>

Elena N. Kurmanova, <https://orcid.org/0000-0002-9243-5268>

Anna S. Timohina, <https://orcid.org/0000-0002-3658-5093>

Albina A. Didikina, <https://orcid.org/0009-0001-1449-9805>

Olga A. Semkina, <https://orcid.org/0000-0002-2611-4490>

Financing. This study received no external funding. The work was conducted as part of the state research projects of the VILAR Research Institute: «Preclinical studies of herbal medicinal products» (FGUU-2025-0003); «Preservation, development, and study of specialized biological collections for priority fundamental and applied research» (FGUU-2025-0001).

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest. The manuscript contains original, unpublished material.

Received 12.09.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

Введение

Лекарственные средства растительного происхождения (ЛСРП) применяются в медицине для профилактики и лечения различных заболеваний по всему миру благодаря содержанию большого количества биологически активных веществ (БАВ) широкого спектра действия. Однако, одной из важных проблем использования растений как источника БАВ является доступность исходного материала. Во многих случаях, когда ЛСРП выводятся на рынок, популяции растений, входящих в его состав, оказываются под угрозой из-за обильного сбора [1]. Одним из решений данной проблемы является комплексная переработка растений в рамках использования ресурсосберегающих технологий с целью производства не только целевого продукта, но и продуктов на основе образующегося вторичного сырья.

Интересным объектом исследования с этой точки зрения является топинамбур (*Helianthus tuberosum* L.) – многолетнее травянистое растение семейства Астровые (*Asteraceae*), рода *Helianthus*. Он широко культивируется во многих странах при различных условиях окружающей среды и характеризуется хорошей устойчивостью к заморозкам, засухе и малому содержанию питательных веществ в почве. Выращивание топинамбура не требует слишком тщательного ухода и дополнительной защиты из-за его высокой устойчивости к вредителям и болезням растений [2]. Различные возможности использования топинамбура представлены в **таблице 1**.

Подземная часть топинамбура представлена клубнями, которые состоят из воды (75–79%), углеводов (15–16%), белков (2–3%) и жиров (2–3%). Кроме того, в них содержатся другие микроэлементы, такие как фосфор (P), калий (K), кальций (Ca), магний (Mg) и железо (Fe), составляющие около 0,5% от их свежей массы. Клубни также содержат такие витамины, как витамин С и витамин А [12]. Среди углеводов, содержащихся в клубнях, инулин может составлять до 80% и более. Остальные сахара представлены фруктозой, сахарозой и глюкозой [13]. Благодаря такому богатому составу клубней, топинамбур культивируется в основном для производства функциональных пищевых ингредиентов, таких как растворимая клетчатка (инулин), олигофруктоза (фруктоолигосахарид) и фруктоза [14].

Однако, с точки зрения ресурсосберегающих технологий, большой интерес также представляет и надземная часть данного растения, так как в ее составе присутствуют фенольные соединения (по некоторым данным, до 7,03% [15]), которые обладают антиоксидантным, противовоспалительным и гепатопротективным действием [16]. В листьях топинамбура также обнаружены полиацетиле-

ны и их производные, сесквитерпены [17]. Эти БАВ обладают противомикробной и противогрибковой активностью. Кроме того, недавние исследования показали, что сесквитерпеновые лактоны гермакранового типа, выделенные из топинамбура, обладают противоопухолевыми и цитотоксическими свойствами.

Целью данной работы являлась оценка биологической активности биоактивных веществ (БАВ) экстракта травы топинамбура в опытах *in vitro* и *in vivo*.

Методика

Объекты исследования получены из Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР:

- 1) сухой экстракт травы топинамбура, содержание суммы фенольных соединений в котором в пересчете на хлорогеновую кислоту в экстракте составляет $5,13 \pm 0,44$ %;
- 2) фракции БАВ различной полярности: этилацетатная (ЭА), бутанольная (Бут), спиртовая (СП) и водная (Вод).

В качестве препаратов сравнения использовали экстракт плодов расторопши пятнистой Силимар® (АО ФармЦентр ВИЛАР, Россия) и Бутадион® («Оболенское – фармацевтическое предприятие ЗАО», Россия).

Оценку возможных механизмов антиоксидантического и противовоспалительного действия БАВ травы топинамбура проводили с использованием специфических ферментных биотест-систем (СФБТС) на основе цитохрома P450 (цитP450), глутатионтрансферазы (ГТФ) [18] и индуцибельной NO-синтазы [19]. В работе использовали следующие реактивы фирмы «Merck» (Германия): дитиотреитол, дезоксихолат натрия, анилин, диметилаланин, НАДФН (β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный), 2,4-динитрохлорбензол, дитионит натрия, глутатион восстановленный, дитиотреитол, L-аргинин, 6,7-диметил-5,6,7,8-тетрагидроптерин (ДМТП). Данные исследования проводились с использованием биообъектов Уникальной научной установки «Биоколлекции ФГБНУ ВИЛАР».

Дизайн эксперимента по изучению противовоспалительной активности *in vivo*: в эксперименте были задействованы белые нелинейные мыши массой 20–22 г в количестве 30 особей. Исследования одобрены биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР (протокол № 121 от 16.02.2024). Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБТ» ФМБА России (Московская область). Животные содержались в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе.

Исследования выполняли согласно Решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Пра-

вил надлежащей лабораторной практики ЕАЭС», Национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Исследования выполняли по согласованному письменному плану и в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП), в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспе-

риментально-биологических клиник (вивариев) и «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.).

Фармакологические свойства объектов исследования изучали при их внутривенном введении в течение 4 дней. Опытные животные были разделены на 3 группы по 10 особей. Первая группа – контрольные животные. Вторая группа животных получала экстракт

Таблица 1 / Table 1

Варианты использования топинамбура в промышленности**Industrial applications of *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke)**

Промышленность Industry	Применение Application	Комментарии Remarks
Химическая и пищевая Chemical and food	Производство этанола Ethanol production	<p>Благодаря высокому содержанию инулина, топинамбур является одним из наиболее перспективных растений для производства таких продуктов, как биоэтанол, биобутанол и биодизель [3].</p> <p>Thanks to its substantial inulin content, Topinambur is considered one of the most promising plant sources for the production of bioethanol, biobutanol, and biodiesel [3].</p>
	Производство бутанола Butanol production	
	Производство биотоплива Biofuel production	
	Производство пребиотиков Prebiotic production	<p>Инулин является одним из наиболее распространенных природных пребиотиков, используемых в качестве пищевой добавки, а топинамбур – одним из основных источников инулина среди высших растений [4]. Разными учеными показано положительное влияние топинамбура на микробиом кишечника различных животных, а также на усвоение ими различных микроэлементов и на содержание лакто- и бифидобактерий [5, 6].</p> <p>Inulin occupies a prominent position among natural prebiotics utilised as food additives, and Jerusalem artichoke stands out as one of the principal sources of inulin derived from higher plants [4]. The positive impact of Jerusalem artichoke on the gut microbiome of various animals, as well as on the absorption of different micronutrients and the levels of lacto- and bifidobacteria [5, 6].</p>
	Производство молочной и масляной кислоты Production of lactic and butyric acid	<p>Впервые процесс производства L-молочной кислоты был предложен в 1942 году [7], и выход продукта при развитии промышленности постоянно увеличивается с использованием различных методов.</p> <p>The initial proposal for the production of L-lactic acid dates back to 1942 [7]. As the industry has evolved, continuous efforts have been made to enhance product yield through the application of various methods.</p>
	В качестве пищевой добавки As a food additive	<p>Продукты, содержащие инулин для диетического и лечебно-профилактического питания (сиропы, порошки для производства на их основе кондитерских, хлебобулочных, молочных изделий и безалкогольных напитков) [8].</p> <p>Inulin-containing dietary and лечебно-профилактические (therapeutic and prophylactic) products (syrops, powders for the production of confectionery, bakery, dairy products, and soft drinks) [8].</p>
Пищевой ингредиент Food ingredient	<p>Клубни можно употреблять в сыром виде (сладкие, с хрустящей текстурой) или в приготовленном виде (в салатах и супах, во фритюре, запеченные, вареные или в виде пюре) [9].</p> <p>The tubers can be consumed either raw (sweet, with a crisp texture) or cooked (in salads, soups, deep-fried, baked, boiled, or mashed) [9].</p>	

Промышленность Industry	Применение Application	Комментарии Remarks
Сельское хозяйство Agricultural industry	Кормовая добавка Feed additives	Богатый источник углеводов, белка, клетчатки и других важных компонентов, полезных для домашнего скота. Укрепляет иммунную и пищеварительную систему животных [10]. A rich source of carbohydrates, proteins, fibre, and other essential components beneficial for livestock, strengthening the animals' immune and digestive systems [10]
Фармацевтическая Pharmaceutical industry	Потенциальный источник различных БАВ A prospective source of diverse bioactive substances	Помимо широкого использования клубней топинамбура как источника инулина, в народной медицине различных стран мира используют и надземную часть растения при переломах, отеках и в качестве жаропонижающего средства [2, 9]. Кроме того, БАВ надземной части (стебли, листья) обладают антимикробной, противогрибковой, антиоксидантной и противоопухолевой активностью [11]. Топинамбур является потенциальным источником лимонной и янтарной кислот, а также сорбитола [3]. In addition to the widespread use of Jerusalem artichoke tubers as an inulin source, the aerial parts of the plant are employed in traditional medicine worldwide for treating fractures, oedemas, and as an antipyretic [2, 9]. The bioactive compounds (stems and leaves) exhibit antimicrobial, antifungal, antioxidant, and antitumour activities [11]. Jerusalem artichoke is a potential source of citric and succinic acids, as well as sorbitol [3].

сухого топинамбура в дозе 500 мг/кг, третья группа – препарат сравнения бутадион в изоэффективной дозе 20 мг/кг. Все вещества суспендировали в 1% крахмальном геле. Контрольным животным вводили в эквивалентном объеме 1% крахмальный гель также в течение 4 дней до введения формалина, через 1 час после.

Формалиновый отёк вызывали однократным субплантарным введением под апоневроз задней правой лапки мыши через час после последнего введения препаратов – 0,05 мл 1% формалина. Через 3 часа после этого, на пике воспаления, животных подвергли эвтаназии с помощью углекислого газа и регистрировали массу ампутированных конечностей мышей с развитием отёка и здоровых конечностей, а также рассчитали прирост объёма экссудата (мг).

О развитии отёка судили по разнице в массе лапок контрольных и опытных животных и рассчитывали противозксудативный эффект по формуле:

$$\% \text{ угнетение отека} = \frac{P_o - P_k}{P_k} \cdot 100,$$

где P_k – разность масс лапок с отёком и без отёка у животных контрольной группы; P_o – разность масс лапок с отёком и без отёка у животных опытной группы.

Статистические данные обрабатывали с помощью лицензионной программы «Statistica version 13» (ТВСО Software Inc, США). Для оценки значимости различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. Для оценки значимости различий в трех экспериментальных

группах применяли метод однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с последующим апостериорным анализом (post-hoc analysis). Достоверность различий с контролем считали при $p < 0,05$.

Результаты

Согласно последним исследованиям, экстракты из травы топинамбура оказывают антиоксическое действие: они выводят токсины из организма (например, алкоголь, тяжелые металлы, радионуклиды и др.) [20]. Ранее нашими исследованиями также было установлено, что экстракт травы топинамбура в дозе 500 мг/кг обладает гепатопротекторным действием, уменьшая отрицательное воздействие тетрахлорметана на печень лабораторных животных (крыс), что подтверждено биохимическими и гистологическими исследованиями [21].

Для выявления возможных механизмов антиоксического действия БАВ экстракта травы топинамбура использовали СФБТС на основе ключевых ферментов системы биотрансформации-детоксикации: цитохрома P450 (цитP450) и глутатионтрансферазы (ГТФ). Мы изучали непосредственное влияние экстракта и фракций БАВ экстракта травы топинамбура в условиях опытов *in vitro*. Для удобства оценки влияния образцов на скорость ферментативных реакций *in vitro* результаты представлены в **таблице 2** в процентах от контроля.

Из **таблицы 2** видно, что спиртовая и водная фракции при внесении в инкубационную среду ускоряли ско-

Таблица 2 / Table 2

Результаты влияния объектов исследования на скорость цитохрома P₄₅₀ и глутатионтрансферазы в опытах *in vitro*
Results of the effect of study objects on the activity of cytochrome P₄₅₀ and glutathione S-transferase in *in vitro* experiments

Вариант опыта Variant of the experiment	Скорость реакций, цитохром P ₄₅₀ , M ± m Reaction rate, cytochrome P ₄₅₀ , M ± m				Скорость реакций, глутатион- трансфераза, M ± m Rate of reaction catalysed by glutathione S-transferase, M ± m	
	Анилингидроксилаза Aniline hydroxylase		Деметилаза Demethylase			
	нмоль/мин·мг белка nmol/min·mg protein	%	нмоль/мин·мг белка nmol/min·mg protein	%	нмоль/мин·мг белка nmol/min·mg protein	%
Контроль Control	6,9 ± 0,36	100	7,8 ± 0,4	100	56,4 ± 0,38	100
Экстракт травы топинамбура Extract of <i>Helianthus tuberosus</i> herb	13,1 ± 0,35	190	9,39 ± 0,43	120	64,5 ± 0,41*	114
Спиртовая фракция Ethanollic fraction	12,1 ± 0,38*	176	12,6 ± 0,37*	162	70,3 ± 0,36*	125
Водная фракция Water extract fraction	11,3 ± 0,38*	165	13,4 ± 0,46*	171	65,2 ± 0,42*	116
Бутанольная фракция Butanolic fraction	8,53 ± 0,35*	124	7,9 ± 0,41	102	50,5 ± 0,48*	90
Этилацетатная фракция Ethyl acetate fraction	6,7 ± 0,44	97	7,8 ± 0,39	101	37,4 ± 0,41*	66
Силимар® Silimar®	5,95 ± 0,46*	142	5,47 ± 0,48*	142	220,1 ± 0,32*	131

Примечание. * – далее и везде, статистическая значимость отличий от контроля при $p < 0,05$

Note. * – hereinafter, statistical significance relative to control ($p < 0.05$).

рость ферментативных реакций цитохрома P₄₅₀ и глутатионтрансферазы.

Согласно литературным данным, гепатопротекторное действие многих лекарственных средств связано с их антиоксидантной и противовоспалительной активностью [22]. Как известно, воспаление – важный патогенетический компонент многих заболеваний различной этиологии, в том числе при различных заболеваниях гепатобилиарной системы. Воспаление возникает как реакция организма на патогенный раздражитель и вызываемое им повреждение [23].

В этой связи на втором этапе наших исследований было проведено изучение противовоспалительной активности экстракта травы топинамбура на модели 1% формалинового отека при четырёхдневном введении мышам. Результаты представлены в **таблице 3**.

По результатам проведенных исследований установлено, что экстракт травы топинамбура оказывает неболь-

шое, но статистически значимое противовоспалительное действие: экстракт травы топинамбура достоверно уменьшает формалиновый отек на 15%.

Для выявления возможных механизмов противовоспалительного действия БАВ экстракта травы топинамбура изучали влияние самого экстракта и фракций БАВ различной полярности на активность индуцибельной NO-синтазы с использованием специфической ферментной биотест-системы *in vitro* на ее основе [19], так как iNOS является маркером воспалительного процесса в организме. Результаты исследования представлены в **таблице 4**.

С применением СФБТС на основе индуцибельной NO-синтазы подтверждена противовоспалительная активность бутанольной и водной фракций экстракта. Внесение их в инкубационную среду снижало активность фермента на 67 и 19 % по отношению к контролю.

Таблица 3 / Table 3

Результаты изучения противовоспалительной активности топинамбура травы экстракта сухого на модели 1% формалинового отека при четырёхдневном введении мышам

Results of the study on the anti-inflammatory activity of dry *Helianthus tuberosum* herb extract, evaluated using a mouse model of 1% formalin-induced paw edema after four days of administration

Группы животных, n = 10 Groups of animals, n = 10	Прирост объема экссудата на пике воспаления, мг Peak inflammation exudate volume increment, mg	% угнетения отека % inhibition of edema
Контроль Control	115,3 ± 8,2	-
Экстракт топинамбура, 500 мг/кг <i>Topinambur</i> extract 500 mg/kg	100,1 ± 4,5*	15
Бутадион®, 20 мг/кг Butadion® 20 mg/kg	84,7 ± 10,3	27

Обсуждение

Как показали проведенные нами исследования и результаты наших коллег в России и за рубежом, трава топинамбура является перспективным источником большого количества биологически активных веществ широкого

спектра действия [24–27]. Однако необходимы дополнительные исследования, чтобы идентифицировать все БАВ, которые отвечают за фармакологические свойства и механизм их действия.

Так, полученные нами данные о влиянии БАВ травы топинамбура на активность ключевых ферментов био-

Таблица 4 / Table 4

Результаты влияния объектов исследования на скорость индуцибельной NO-синтазы в опытах *in vitro*

The effect of test subjects on inducible NO-synthase activity *in vitro*

Вариант опыта Experiment variant	Скорость реакции, нмоль/мин*мг белка Reaction rate, nmol/min*mg protein	Активность, % Activity, %
Контроль (без препарата) Control (no treatment)	6,12 ± 0,29	100
Экстракт Extract	5,2 ± 0,22	93
Спиртовая фракция Alcohol fraction	7,26 ± 0,31*	130
Бутанольная фракция Butanol fraction	2,01 ± 0,10*	33
Этилацетатная фракция Ethyl acetate fraction	7,95 ± 0,39*	142
Водная фракция Water fraction	4,93 ± 0,21*	81

трансформации позволяют предположить один из возможных механизмов их антигепатотоксического действия за счет связывания с цитохромом P450 и глутатионтрансферазой. Спиртовая и водная фракции исследованного нами экстракта активировали данные ферменты и содержат в своем составе в преобладающем количестве сумму фенольных соединений, в том числе гидроксикоричные кислоты, что может свидетельствовать об их доминирующей роли в антиоксидантном эффекте указанных фракций, а также суммарного экстракта в целом.

Полученные нами результаты противовоспалительной активности экстракта подтверждаются данными ученых из Китая, согласно которым БАВ травы топинамбура оказывали противовоспалительное действие на модели ксилон-индуцированного отека уха у мышей BALB / С и каррагинан-индуцированного отека лапы у крыс SD [28]. Оноя и соавт. оценивали противовоспалительное действие метанолового экстракта листьев *H. tuberosus* на модели отека лап крыс, вызванного введением яичного альбумина. Противовоспалительный эффект растительного экстракта зависел от дозы. Введение 300 мг/кг экстракта вызывало уменьшение воспаления на 33,33%, в то время как у животных контрольной группы (вводили ацетилсалициловую кислоту) происходило уменьшение воспаления на 36,36% [29].

Ученые из Японии проводили скрининг БАВ из листьев топинамбура, обладающих противовоспалительной активностью, и установили, что гелиагнин ингибирует продукцию NO в клетках мышечных макрофагов RAW 264.7 в условиях опытов *in vitro* [30]. В связи с этим мы также провели исследование по определению возможного механизма противовоспалительного действия травы топинамбура, основанного только на уменьшении уровня оксида азота (NO), оценивая ингибирование индуцибель-

ной NO-синтазы путем связывания содержащихся в ней БАВ с данным ферментом. В результате опытов *in vitro* показано, что наиболее выраженное снижение активности фермента происходило при внесении в инкубационную среду бутанольной и водной фракций экстракта, что позволяет предположить наличие в них БАВ с противовоспалительным действием, но требует дальнейших исследований в этом направлении и может помочь нам лучше понять весь потенциал растения и его безопасность для здоровья человека.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного нами исследования в условиях опытов *in vitro* и *in vivo* показали, что БАВ экстракта травы топинамбура обладают антиоксидантной и противовоспалительной активностью. Трава топинамбура является перспективным источником биологически активных веществ, таких как кемпферол-3-О-гликозид, кверцетин-3-О-гликозид, битеин, кофейная, феруловая и другие гидроксикоричные кислоты, которые обладают широким спектром фармакологического действия, что особенно важно при разработке лекарственных средств растительного происхождения в рамках ресурсосберегающих технологий, способствующих улучшению качества и повышению экономической эффективности готовой продукции.

Данная работа проведена согласно плану научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Проведение доклинических исследований лекарственных средств растительного происхождения» (FGUU-2025-0003) и «Сохранение, развитие и изучение биокolleкций различного направления с целью проведения приоритетных фундаментальных и прикладных исследований» (FGUU-2025-0001).

Литература

(п.п. 1–15; 22–30 см. References)

16. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Часть первая* / Под ред. А.Н. Миронова. Москва; Гриф и К; 2012.
17. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии Москва; Медицина; 2000.
18. Лупанова И.А., Стрелкова Л.Б., Савина Т.А., Ферубко Е.В. Исследование биологической активности экстракта из клеточной культуры родиолы розовой (*Rhodiola Rosea* L.) с применением специфических ферментных биотест-систем в условиях *in vitro*. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2017; 3 (17): 9–15.
19. Лупанова И.А., Цыбулько Н.С., Савина Т.А., Ферубко Е.В. Исследование биологической активности экстракта из биомассы женьшеня обыкновенного (*Panax Ginseng* s.a. Mey) с применением специфических ферментных биотест-систем *in vitro*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017; 3 (20): 104–6.
20. Куркин В.А. Фенилпропаноиды как важнейшая группа биологически активных соединений лекарственных растений. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 12 (7): 1338–42.
21. Макаренко А.Н., Карандеева Ю.К. Адаптация к гипоксии как защитный механизм при патологических состояниях. *Вестник проблем биологии и медицины*. 2013; 2 (100): 27–32.

References

- Wagner H., Nigg H., Winterhoff H. Plant adaptogens. *Phytomedicine*. 1994; 1 (1): 63–76. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(11\)80025-5](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(11)80025-5)
- Panossian A., Wikman G., Wagner H. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action. *Phytomedicine*. 1999; 6 (4): 287–300. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(99\)80023-3](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(99)80023-3)
- Cordell G.A. Sustainable medicines and global health care. *Planta Med*. 2011; 77 (11):1129–38. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1270731>
- Zenk M.H. The impact of plant cell culture on industry. In *Frontiers of Plant Tissue Culture*. International Association for Plant Tissue Culture. 1978; 1–13.
- Liberti L. E., Der Mardersian A. Evaluation of commercial ginseng products. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1978; 10: 1487–89.
- Murthy H.N., Georgiev M.I., Kim Y.S., Jeong C.S., Kim S.J., Park S.Y., et al. Ginsenosides: prospective for sustainable biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014; 98(14): 6243–54. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5801-9>
- Jeziorek M., Sykłowska-Baranek K., Pietrosiuk A. Hairy Root Cultures for the Production of Anti-cancer Naphthoquinone Compounds. *Current Medicinal Chemistry*. 2018; 25(36): 4718–39. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170821161844>
- Esmaealzadeh N., Iranpanah A., Sarris J., Rahimi R. A literature review of the studies concerning selected plant-derived adaptogens and their general function in body with a focus on animal studies *Phytomedicine*. 2022; 105: 1543–54. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154354>
- Murthy H.N., Dandin V.S., Park S.-Y., Paek K.-Y. Quality, safety and efficacy profiling of ginseng adventitious roots produced in vitro. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018; 102(17): 7309–17. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9188-x>
- Pu W.-L., Zhang M.-Y., Bai R.-Y., Sun L.-K., Li W.-H., Yu Y.-L., et al. Anti-inflammatory effects of *Rhodiola rosea* L.: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020; 121: 109552. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109552>
- Marchev A., Dinkova-Kostova A., György Z., Mirmazloum I., Aneva I., Georgiev M. *Rhodiola rosea* L.: from golden root to green cell factories. *Phytochemistry Reviews*. 2016; 15: 515–36. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9453-5>
- Phillipson J.D., Anderson L.A. Ginseng-quality, safety and efficacy? *Pharm J*. 1984; 232:161–5.
- Paek K.Y., Murthy H.N., Hahn E.J., Zhong J.J. Large scale culture of ginseng adventitious roots for production of ginsenosides. *Advances in Biochemical Engineering /biotechnology*. 2009; 113:151–76. https://doi.org/10.1007/10_2008_31
- Asyakina L., Sukhikh S., Ivanova S., Prosekov A., Ulrikh E., Chupahin E., Babich O. Determination of the Qualitative Composition of Biologically-Active Substances of Extracts of In Vitro Callus, Cell Suspension, and Root Cultures of the Medicinal Plant *Rhodiola rosea*. *Biomolecules*. 2021; 11:365. <https://doi.org/10.3390/biom11030365>
- Wu S., Zu Y., Wu M. High yield production of salidroside in the suspension culture of *Rhodiola sachalinensis*. *J. Biotechnol*. 2003; 106(1): 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2003.07.009>
- Nonclinical Drug Study Guidelines. Part one. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. CHast' pervaya]*. Ed. A.N. Mironov. Moscow; Vulture and K; 2012. (in Russian)
- Sernov L.N., Gatsura V.V. *Elements of experimental pharmacology. [Elementy eksperimental'noj farmakologii]*. Moscow; Medicine; 2000. (in Russian)
- Lupanova I.A., Strelkova L.B., Savina T.A., Ferubko E.V. Study of biological activity of *Rhodiola rosea* L. extract from cell culture using specific enzyme biotest systems in vitro. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv*. 2017; 3 (17): 9–15. (in Russian)
- Lupanova I.A., Tsybulko N.C., Savina T.A., Ferubko E.V. Study of the biological activity of an extract from the biomass of common ginseng (*Panax ginseng* c.a. Mey) using specific enzyme biotest systems in vitro. *Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv*. 2017; 3 (20): 104–106. (in Russian)
- Kurkin V.A. Phenylpropanoids as the most important group of biologically active compounds of medicinal plants. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovaniy*. 2015; 12 (7): 1338–42. (in Russian)
- Makarenko A.N., Karandeeva Yu. K. Adaptation to hypoxia as a protective mechanism in pathological states. *Vestnik problem biologii i mediciny*. 2013; 2 (100): 27–32. (in Russian)
- Lagunin A., Povydysh M., Ivkin D., Luzhanin V. et al. Antihypoxic Action of *Panax Japonicus*, *Tribulus Terrestris* and *Dioscorea Deltoidea* Cell Cultures: In Silico and Animal Studies. *Molecular Informatics*. 2020; 39(11): e2000093. <https://doi.org/10.1002/minf.202000093>
- Ali M.B., Hahn E.J., Paek K.-Y. Protective role of *Panax ginseng* extract on lipid peroxidation and antioxidant status in polyethylene glycol induced *Spathiphyllum* leaves. *Biochem. Eng. J*. 2006; 32(3): 143–8. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.09.013>
- Lim H.K., Kim Y.W., Lee D.H., Cho S.K., Cho M. The antifibrotic and antioxidant activities of hot water extract of adventitious root culture of *Panax ginseng* (ARCP). *J. Appl. Biol Chem*. 2007; 50(2): 78–84.
- Murthy H.N., Dandin V.S., Lee E.J., Paek K.Y. Efficacy of ginseng adventitious root extract on hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol*. 2014; 153(3): 917–21. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.062>
- Hong M.H., Lim H.K., Park J.E., Jun N.J., Lee Y.J., Cho M., et al. The antihypertensive and vasodilating effects of adventitious root extracts of wild ginseng. *J. Korean. Soc. Appl. Biol. Chem*. 2008; 51(2): 102–7.
- Yu G.J., Choi I.W., Kim G.Y., Kim B.W., Park C., Hong S.H., et al. Antiinflammatory potential of saponins derived from cultured wild ginseng root in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Int. J. Mol. Med*. 2015; 35(6): 1690–8. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2165>
- Lee I.S., Kim S.K., Jeon M.H., Jeon W.K. Ethyl acetate extract from tissue-cultured mountain ginseng adventitious roots inhibits in vitro platelet aggregation in whole human blood and augments peripheral blood flow in mice. *J Ginseng Res*. 2011; 35(4): 442–8. <https://doi.org/10.5142/jgr.2011.35.4.442>
- Murthy H.N., Dandin V.S., Paek K.Y. Hepatoprotective activity of ginsenosides from *Panax ginseng* adventitious roots against carbon tetrachloride treated hepatic injury in rats. *J. Ethnopharmacol*, 2014; 158(A): 442–6. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.10.047>
- Oh C.H., Kang P.S., Kim J.W., Kwon J., Oh S.H. Water extracts of cultured mountain ginseng stimulate immune cells and inhibit cancer cell proliferation. *Food Sci. Biotechnol*. 2006; 15(3): 369–73.

Сведения об авторах:

Лупанова Ирина Александровна, доктор биол. наук, рук. Центра доклинических исследований, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», e-mail: lupanova@vilarnii.ru

Ферубко Екатерина Владимировна, доктор мед. наук, зав. отд. экспериментальной фармакологии, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», e-mail: eferubko@yandex.ru

Курманова Елена Николаевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. экспериментальной фармакологии, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», e-mail: kurmanova1968@yandex.ru

Тимохина Анна Сергеевна, аспирант, науч. сотр. лаб. микробиологических исследований, Центра доклинических исследований, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», e-mail: mail.t.a.s.77777@mail.ru

Дыдыкина Альбина Александровна, мл. науч. сотр. лаб. микробиологических исследований, Центра доклинических исследований, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», e-mail: marketing_dmk@mail.ru

Семкина Ольга Александровна, канд. фарм. наук, вед. науч. сотр. отд. химии и технологии природных соединений Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», e-mail: semkina@vilarnii.ru