

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»  
ИНСТИТУТ «МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО»

# КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2022, том 12, № 4

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

*А. В. Кубышкин* (главный редактор)  
*И. И. Фомочкина* (заместитель главного редактора)  
*М. А. Плотникова* (ответственный секретарь)  
*В. А. Белоглазов, К. А. Ефетов, А. М. Кацев*

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

*Л. ДуБаске* (Вашингтон, США), *Е. В. Евстафьева* (Симферополь, Россия),  
*В. П. Завьялов* (Турку, Финляндия), *И. Л. Кляритская* (Симферополь, Россия),  
*Я. Коки* (Люблин, Польша), *Ю. Л. Криворутченко* (Симферополь, Россия),  
*А. В. Матвеев* (Симферополь, Россия), *О. Матсуо* (Осакасама, Япония),  
*В. Ю. Михайличенко* (Симферополь, Россия), *С. Н. Орлов* (Монреаль, Канада),  
*А. В. Петров* (Симферополь, Россия), *А. Петросян* (Оаха, США),  
*М. Покорский* (Ополе, Польша), *О. А. Притуло* (Симферополь, Россия),  
*А. Г. Резников* (Киев, Украина), *И. Д. Сапегин* (Симферополь, Россия),  
*Г. М. Тарман* (Инсбрук, Австрия), *Т. Трояновский* (Люблин, Польша),  
*С. Э. Шибанов* (Симферополь, Россия), *Я. М. Шуба* (Киев, Украина),  
*А. Б. Хайтович* (Симферополь, Россия)

На первой странице обложки репродукция картины Роберта Тома «Средневековые больницы»  
(старейшая больница La Grand 'Chambre des Povres во Франции, основанная в 1443 году).

## АДРЕС РЕДАКЦИИ:

295051, бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»  
Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского»  
E-mail: [cjест\\_ma@mail.ru](mailto:cjест_ma@mail.ru)

Журнал является правопреемником Трудов КГМУ, издающихся с 1935 г.  
Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи,  
информационных технологий и массовых коммуникаций  
Российской Федерации. Свидетельство ПИ № ФС77-61787  
от 18 мая 2015 г.

Индекс издания ISSN: 2224-6444 (печатная версия), 2244-6452 (online)

С 07 декабря 2015 года журнал включен в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук».

В соответствии с распоряжением Минобрнауки России от 01.02.2022 г. №33-р о перечне рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученых степеней доктора наук (далее - Перечень) и вступлением в силу новой редакции номенклатуры научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, утвержденной приказом Минобрнауки России от 24.02.2021 №118, с изменениями, внесенными приказом Минобрнауки России от 27.09.2021 №886, журнал считается включенным в Перечень по следующим научным специальностям и соответствующим им отраслям наук:

- 1.5.2. Биофизика (медицинские науки),
- 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки),
- 1.5.4. Биохимия (медицинские науки),
- 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки),
- 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика (медицинские науки),
- 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки);
- 1.5.23. Биология развития, эмбриология (медицинские науки);
- 1.5.24. Нейробиология (медицинские науки);
- 3.1.33. Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки);
- 3.3.1. Анатомия человека (медицинские науки);
- 3.3.2. Патологическая анатомия (медицинские науки);
- 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки);
- 3.3.5. Судебная медицина (медицинские науки);
- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки);
- 3.3.7. Авиационная, космическая и морская медицина (медицинские науки);
- 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)

Подписной индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» — 80124  
Рекомендован к печати Ученым советом  
Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского»  
(протокол № 10 от 01.11.2022)

#### **УЧРЕДИТЕЛЬ**

**ФГАОУ ВО «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»**

*Журнал основан в 2010 году. Издается 4 раза в год.*

© Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

## ORIGINAL ARTICLES

- Баландин А. А., Панкратов М. К., Баландина И. А.**  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ  
ЧЕЛОВЕКА ОТ ЮНОШЕСКОГО ДО СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА.....5
- Balandin A. A., Pankratov M. K., Balandina I. A.**  
COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HUMAN DURA MATER FROM ADOLESCENCE  
TO OLD AGE .....5
- Вадюхин М. А., Демяшкин Г. А., Шаповалова Е. Ю., Марукян А. Х.**  
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО И ФРАКЦИОННОГО  
ЛОКАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ.....11
- Vadyukhin M. A., Demyashkin G. A., Shapovalova E. Y., Marukyan A. Kh.**  
MORPHOLOGICAL PICTURE OF THE SKIN AFTER SINGLE AND FRACTIONAL LOCAL ELECTRON  
IRRADIATION .....11
- Виноградов А. А., Андреева И. В., Симакова Е. С.**  
АДАПТАЦИЯ ПОРТАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ КРЫС К ВЫПОЛНЕНИЮ ЕЖЕДНЕВНОЙ,  
ДОЗИРОВАННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ В ВИДЕ ПРИНУДИТЕЛЬНОГО БЕГА.....16
- Vinogradov A. A., Andreeva I. V., Simakova E. S.**  
ADAPTATION OF RATS' PORTAL HEMODYNAMICS TO DAILY PHYSICAL ACTIVITY AS FORCED  
RUNNING .....16
- Зима Д. В., Макалиш Т. П., Непритимова Е. А., Зяблицкая Е. Ю.**  
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ  
МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА.....23
- Zima D. V., Makalish T. P., Nepritimova E. A., Ziablitskaia E. Yu.**  
STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE THYROID GLAND OF WHITE RATS DURING STRESS  
MODELING.....23
- Зуб А. А., Гайворонская Т. В.**  
КЛИНИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА НА  
ОСНОВЕ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА:  
РАНДОМИЗИРОВАННОЕ КОНТРОЛИРУЕМОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ.....29
- Zub A. A., Gayvoronская T. V.**  
CLINICAL AND BIOCHEMICAL EVALUATION OF THE EFFICACY OF EUCALYPTUS LEAF PREPARATION IN  
THE TREATMENT OF CHRONIC PERIODONTITIS: A RANDOMIZED CONTROLLED EXPERIMENTAL STUDY ....29
- Пархоменко А. И., Мороз Г. А.**  
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУБЪЕКТИВНОГО И ОБЪЕКТИВНОГО МЕТОДОВ ТЕСТИРОВАНИЯ  
ИНДИВИДУАЛЬНОГО БИОРИТМОТИПА У СПОРТСМЕНОВ .....37
- Parkhomenko A. I., Moroz G. A.**  
COMPARATIVE ANALYSIS OF SUBJECTIVE AND OBJECTIVE METHODS OF TESTING SPORTSMAN'  
INDIVIDUAL BIORHYTHMOTYPE .....37

<b>Репина Э. Ф., Тимашева Г. В., Каримов Д. О., Бакиров А. Б., Гимадиева А. Р., Хуснутдинова Н. Ю., Валова Я. В., Каримов Д. Д.</b> БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОДОСТРОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АКРИЛАМИДА И НА ФОНЕ КОРРЕКЦИИ .....	46
<b>Repina E. F., Timasheva G. V., Karimov D. O., Bakirov A. B., Gimadieva A. R., Khusnutdinova N. Yu., Valova Ya. V., Karimov D. D.</b> BIOCHEMICAL STATUS OF EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER SUBACUTE EXPOSURE TO ACRYLAMIDE AND ON THE BACKGROUND OF CORRECTION .....	46
<b>Шаповалова Е. Ю., Демяшкин Г. А., Саакян С. В., Каракаева Э. Б-Г., Зорин И. А., Марукян А. Х.</b> МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗАМИ 2 ГР И 8 ГР .....	54
<b>Shapovalova E. Y., Demyashkin G. A., Saakian S. V., Karakaeva E. B-G., Zorin I. A., Marukyana A. Kh.</b> MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE COLON EPITHELIUM AFTER ELECTRON IRRADIATION WITH DOSES OF 2 GY AND 8 GY .....	54
<b>Шаповалова Е. Ю., Демяшкин Г. А., Каракаева Э. Б-Г., Саакян С. В., Зорин И. А., Марукян А. Х.</b> ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИТЕЛИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗАМИ 2 ГР И 8 ГР .....	59
<b>Shapovalova E. Y., Demyashkin G. A., Karakaeva E. B-G., Saakian S. V., Zorin I. A., Marukyana A. Kh.</b> HISTOMORPHOMETRIC FEATURES OF THE JEJUNUM EPITHELIUM AFTER ELECTRON IRRADIATION WITH DOSES OF 2 GY AND 8 GY .....	59
<b>Реган О. В., Гуртовая А. К., Аблаева Р. Н., Агеева Е. С., Самохвалов И. М.</b> ГЕНЕРАЦИЯ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ В БЕЗСЫВОРОТОЧНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ .....	66
<b>Regan O. V., Gurtovaya A. K., Ablaeva R. N., Ageeva E. S., Samokhvalov I. M.</b> GENERATION OF MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS IN DEFINED CULTURE CONDITIONS .....	66
<b>ОБЗОРЫ</b>	
<b>REVIEWS</b>	
<b>Головкин И. О., Макалиш Т. П., Зима Д. В., Непритимова Е. А., Зяблицкая Е. Ю., Фомочкина И. И., Кубышкин А. В., Сафронюк С. Л.</b> РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ОНКОТРАНСФОРМАЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ .....	72
<b>Golovkin I. O., Makalish T. P., Zima D. V., Nepritimova E. A., Zyablitskaya E. Yu., Fomochkina I. I., Kubyshkin A. V., Safronyuk S. L.</b> THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN ONCOTRANSFORMATION OF THE THYROID GLAND .....	72
<b>Игнатова Ю. П., Макарова И. И., Страхов К. А.</b> КОГНИТИВНЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ: P300 В НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ .....	80
<b>Ignatova Yu. P., Makarova I. I., Strahov K. A.</b> COGNITIVE EVOCATED POTENTIALS: P300 IN NEUROPHYSIOLOGY AND CLINICAL PRACTICE .....	80

УДК: 611.819.5

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-4-5-10

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ ЧЕЛОВЕКА ОТ ЮНОШЕСКОГО ДО СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

**Баландин А. А., Панкратов М. К., Баландина И. А.**

Кафедра нормальной, топографической и клинической анатомии, оперативной хирургии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера», 614000, ул. Петропавловская, д. 26, Пермь, Россия

**Для корреспонденции:** Баландина Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной, топографической и клинической анатомии, оперативной хирургии, ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера», e-mail: balandina\_ia@mail.ru

**For correspondence:** Balandina I. A., MD, DSc, Professor, Head of the Department of Normal, Topographic and Clinical Anatomy, Operative Surgery, Perm State Medical University named after E. A. Wagner, e-mail: balandina\_ia@mail.ru

### Information about authors:

**Balandin A. A.**, <http://orcid.org/0000-0002-3152-8380>

**Pankratov M. K.**, <https://orcid.org/0000-0001-6556-6644>

**Balandina I. A.**, <http://orcid.org/0000-0002-4856-9066>

### РЕЗЮМЕ

Черепно-мозговая травма – достаточно распространенный и прогностически опасный вид травм, который может привести к тяжелым осложнениям. Среди них отдельно следует отметить субдуральную гематому, исход которой, по нашему мнению, зависит от разных факторов, в том числе и от возрастных морфологических особенностей твердой мозговой оболочки. Цель – провести сравнительную характеристику толщины твердой мозговой оболочки человека в юношеском, первом и втором периодах зрелого возраста, пожилого и старческого возраста. Работа выполнена в танатологическом отделении в период 2020–2021 гг. и основана на анализе результатов комплексного морфологического исследования твердой мозговой оболочки 229 трупов (118 мужчин и 111 женщины) в возрасте 16 – 88 лет включительно. Погибших, согласно их возрасту, разделили на пять групп (Возрастная периодизация. Москва, 1965). Забор аутопсийного материала осуществляли в области теменных костей в проекции сагиттального шва. Изготавливали гистологические срезы, использовали окраску гематоксилином и эозином и по ван Гизону. При анализе результатов исследования толщины твердой мозговой оболочки установили увеличение ее параметров к старческому возрасту как у мужчин, так и у женщин ( $p < 0,01$ ). Статистически достоверной разницы между параметрами ТМО в выборке мужчин и выборке женщин в каждом изучаемом возрастном периоде не выявлено ( $p > 0,05$ ). Гистологическое исследование выявило выраженную неупорядоченность волокон ткани твердой мозговой оболочки, так называемое ее «разволокнение» в пожилом и старческом возрасте. Результаты исследования в дальнейшем могут стать фундаментом к дальнейшему изучению возрастных изменений твердой мозговой оболочки человека, а также использоваться в таких клинических специальностях, как нейрохирургия, геронтология, травматология и реабилитация.

**Ключевые слова:** твердая мозговая оболочка, старение, возрастные особенности, соединительная ткань, черепно-мозговая травма, морфометрия.

### COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HUMAN DURA MATER FROM ADOLESCENCE TO OLD AGE

**Balandin A. A., Pankratov M. K., Balandina I. A.**

Perm State Medical University named after E. A. Wagner, Perm, Russia

### SUMMARY

Traumatic brain injury is a rather common and prognostically dangerous type of trauma, which can lead to severe complications. Among them we should separately mention subdural hematoma, the outcome of which, in our opinion, depends on various factors, including age-related morphological features of the dura mater. The aim was to carry out a comparative characterization of human dura mater thickness in adolescence, the first and second periods of adulthood, the elderly and the old age. The work was performed in the tanatology department in the period 2020-2021 and was based on the analysis of the results of the complex morphological study of the dura mater of 229 corpses (118 men and 111 women) aged 16 - 88 years inclusive. The dead, according to their age, were divided into five groups (Age Periodization. Moscow, 1965). Autopsy material was taken from the parietal bones in the projection of the sagittal suture. Histological sections were made, hematoxylin and eosin and van Gieson staining was used. When analyzing the results of the dura mater thickness study, we found an increase in its parameters by senile age in both men and women ( $p < 0.01$ ). There was no statistically significant difference between the parameters of the dura mater in the sample of men and in the sample of women in each age period studied ( $p > 0.05$ ). The histological study revealed a pronounced disordered fibers of the dura mater tissue, its so-called disintegration in old age. The results of the study

can become the basis for further study of age-related changes in the human dura mater, as well as be used in such clinical specialties as neurosurgery, gerontology, traumatology and rehabilitation in the future.

**Key words:** *dura mater, aging, age-related features, connective tissue, traumatic brain injury, morphometry*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) – достаточно распространенный и прогностически опасный вид травм, который может привести к тяжелым осложнениям. Отмечается крайне высокий риск инвалидизации пострадавшего, а также снижение его качества жизни в дальнейшем, ввиду неполного разрешения как когнитивных, так и неврологических нарушений [1-2]. Среди множества тяжелых осложнений ЧМТ отдельно следует отметить субдуральную гематому, исход которой, по нашему мнению, зависит от разных факторов, в том числе и от возрастных морфологических особенностей твердой мозговой оболочки (ТМО) [3].

В связи с возрастными морфофункциональными изменениями нервной ткани пациенты пожилого и старческого возраста находятся в группе риска повышенного травматизма, поскольку для них присущи проблемы с координацией, особенно при ходьбе [4; 5]. Однако, несмотря на быстрое развитие медицинских технологий, которые позволяют сдерживать процессы старения и профилактировать на ранних этапах возраст-ассоциированные болезни, травматизм, как плохо контролируемый психосоциальный фактор, устранить невозможно. Самыми частыми причинами получения травмы является дорожно-транспортные происшествия, бытовые и производственные травмы, действия криминального характера [6-8].

В целом старение представляет собой сложный, многокомпонентный биологический процесс постепенного нарушения важных функций организма. Являясь немодифицируемым фактором риска для развития осложнений, старение может приводить к психоэмоциональным, социальным и финансовым издержкам не только самим пострадавшим, но и их семей [9-11].

В научных работах, посвященных изучению ЧМТ у пожилых пациентов, исследователи выявили высокую значимость возраста пострадавшего на дальнейший прогноз его состояния. Весомость возраста настолько важна, что его поставили в один ряд с такими причинами, утяжеляющими общее состояние пострадавшего, как объем и локализация гематомы, выраженность дислокационного синдрома, наличие антикоагулянтной терапии у пациента в анамнезе [3; 12-15].

С одной стороны, этот факт возможно было бы объяснить тем, что ткани головного мозга подвергаются возрастным нейродегенератив-

ным изменениям, которые негативно влияют на качество сопротивления к нарушениям гомеостаза травматического генеза [11, 16-18]. С другой стороны, работ, освещающих возрастные морфологические особенности ТМО найти, не удалось, что и легло в основу нашего исследования, определив его цель.

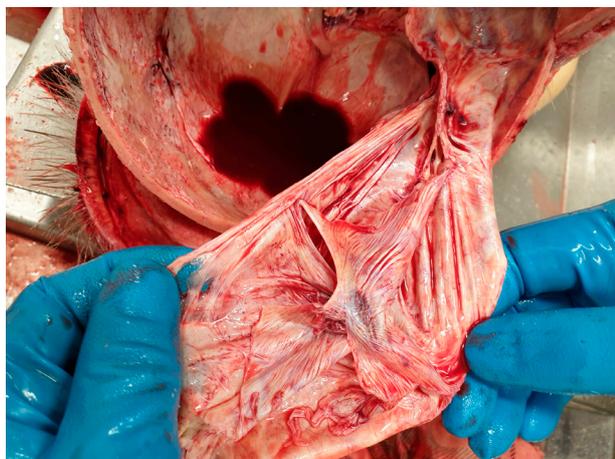
Цель исследования – провести сравнительную характеристику толщины ТМО человека в юношеском возрасте, первом и втором периодах зрелого возраста, пожилом и старческом возрасте.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в танатологическом отделении Государственного казенного учреждения здравоохранения особого типа Пермского края «Пермское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы» в период 2020–2021 гг. и основана на анализе результатов комплексного морфологического исследования ТМО 229 трупов (118 мужчин и 111 женщины) в возрасте 16 – 88 лет включительно. Исследование включало гистологический, морфометрический и статистический методы. На проведение исследования получено разрешение этического комитета Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е. А. Вагнера (№ 10 от 27.11.2019 г.).

Критерии включения: причина смерти людей – травмы или ранения груди/живота и таза; анамнестические данные погибших, исключающие патологию центральной и периферической нервной системы, а также наркотическую и алкогольную зависимость. Давность смерти, не превышающая 24 – 36 ч; хранение трупов в одинаковых условиях при температуре +2 °С; отсутствие макроскопических признаков патологии ТМО, выявляемых при заборе секционного материала. Погибших, согласно их возрасту, разделили на пять групп (Возрастная периодизация. Москва, 1965). I группа включала 41 умершего юношеского возраста (19 мужчин и 22 женщин) в возрасте 16 – 21 года, II группа – 49 умерших первого периода зрелого возраста (26 мужчин и 23 женщины) в возрасте 22 – 35 лет, III группа – 53 умерших второго периода зрелого возраста (27 мужчин и 26 женщин) в возрасте 36 – 59 лет, IV группа – 44 умерших пожилого возраста (23 мужчин и 21 женщину) погибших в возрасте 60 – 74 лет, V группа – 42 умерших старческого возраста (23 мужчин и 19 женщин) в возрасте 75 – 88 лет.

Забор аутопсийного материала осуществляли в области теменных костей, в проекции сагиттального шва (рис 1.).



**Рис 1. Забор ТМО после извлечения головного мозга из полости черепа**

Кусочки фиксировали в 10 % растворе забуференного по Лилли формалина (рН=7,2) в течение 24 ч. Изготавливали гистологические срезы,

использовали окраску гематоксилином и эозином и по ван Гизону. Количественный анализ исследуемых гистологических образцов проводили с использованием программного пакета BioVision, version 4,0 (Австрия). Захват изображений обеспечивали использованием цифровой камеры для микроскопа «САН V200» («Vision», Австрия).

Статистический анализ проводили с помощью программы Microsoft Excel 2014. Результаты представили в виде значений средней арифметической величины (М) и стандартной ошибки (m), медианы и 25-го и 75-го %, вариационного коэффициента. Параметрический t критерий Стьюдента использовали для проверки равенства средних значений в двух выборках. Достоверными считали отличия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе результатов установили утолщение ТМО к старческому возрасту как у мужчин, так и у женщин ( $p < 0,01$ ). Статистически достоверных различий между параметрами ТМО мужчин и женщин во всех исследуемых группах не выявлено ( $p > 0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1

**Сравнительная характеристика толщины ТМО у мужчин и женщин в юношеском возрасте, первом и втором периоде зрелого возраста, пожилом и старческом возрасте (мкм) (n=229)**

Возрастной период	M±m	Max	Min	σ	Cv	Me
Мужчины						
Юношеский возраст (n=19)	540,0±20,0	730,0	380,0	3,16	0,02	510,0
Первый период зрелого возраста (n=26)	630,0±30,0	870,0	420,0	4,47	0,03	620,0
Второй период зрелого возраста (n=27)	660,0±30,0	890,0	420,0	4,47	0,03	650,0
Пожилой возраст (n=23)	790,0±20,0	1050,0	570,0	4,47	0,03	750,0
Старческий возраст (n=23)	890,0±20,0	1070,0	690,0	3,16	0,01	870,0
Женщины						
Юношеский возраст (n=22)	540,0±30,0	730,0	320,0	4,47	0,04	540,0
Первый период зрелого возраста (n=23)	610,0±30,0	940,0	370,0	5,48	0,05	570,0
Второй период зрелого возраста (n=26)	630,0±20,0	770,0	400,0	3,16	0,02	650,0
Пожилой возраст (n=21)	820,0±20,0	1020,0	620,0	3,16	0,01	830,0
Старческий возраст (n=19)	850,0±30,0	1120,0	610,0	4,47	0,02	835,0

Результаты морфометрического исследования наглядно показывают, что с возрастом происходит постепенное утолщение ТМО. Так, у мужчин с юношеского возраста к старческому

возрасту толщина ТМО увеличилась на 64,8%, у женщин – на 57,4%.

При гистологическом исследовании выявили, что ТМО образована плотной неоформленной

соединительной тканью, содержащая кровеносные сосуды. В ней визуализируют три слоя – периостальный, менингеальный и погранично-клеточный. В ткани наблюдается незначительное количество фибробластов. В гистологических образцах у лиц юношеского и первого периода зрелого возраста коллагеновые волокна располагаются компактно, имеют определенное направление и плотную структуру. Начиная с пожилого возраста в образцах ТМО просматривается выраженная неупорядоченность волокон, так называемое «разволокнение» ткани. Кровеносные сосуды, как правило, локализуются преимущественно в периостальном слое (рис. 2, рис.3).

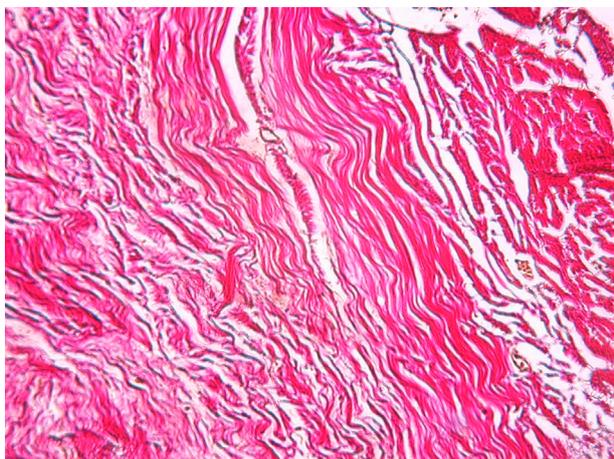


Рис 2. Фрагмент ТМО мужчины 25 лет. Окраска по ван Гизону. Увеличение 100.

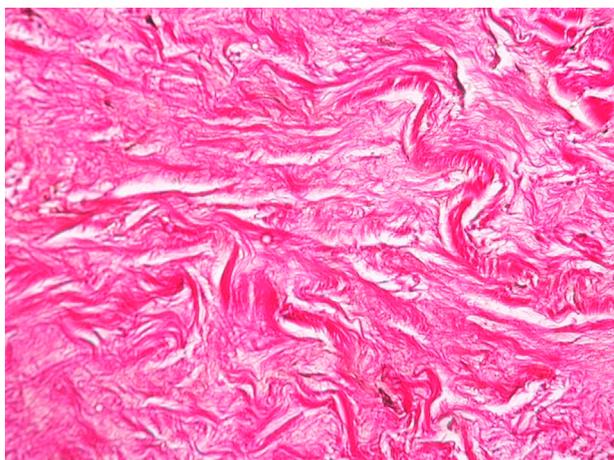


Рис 3. Фрагмент ТМО мужчины 78 лет. Окраска по ван Гизону. Увеличение 100.

### ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке проводимых ранее научных исследований возрастных изменений соединительной ткани в сухожилиях выявлены ее изменения у животных и человека на биохимическом уровне. Они заключаются в повышении

концентрации внеклеточного протеогликана, отложения липидов и солей кальция. На следующем уровне – клеточном – описано изменение во внеклеточном матриксе качества крепления «клеток-строителей» фибробластов. Окружающее клетки открытое пространство увеличивается, одновременно с этим количество контактов между фиксирующими клетками и коллагеновыми волокнами уменьшается. Все вышеперечисленное приводит к снижению прочности соединительной ткани [19-20]. Если же взять во внимание уровень еще более высокой организации – тканевой, то возрастные изменения соединительной ткани заключаются в ее утолщении. В исследованиях это объясняется тем, что толщина коллагеновых пучков уменьшается, а пространство между пучками – увеличивается. Данный процесс приводит к снижению плотности в соединительной ткани, так называемому «разволокнению» [21]. Эти изменения мы и выявили при гистологическом исследовании твердой мозговой оболочки человека в возрастном аспекте.

Подводя результаты к логическому завершению, следует отметить, что возрастные изменения, происходящие не только в головном мозге, но и в твердой мозговой оболочке, заключающиеся в ее утолщении путем нарушения компактности и плотности соединительной ткани, негативно влияют на последствия ЧМТ. Также уменьшается сопротивление к нарушениям гомеостаза травматического генеза и затрудняется реабилитация пострадавших.

### ВЫВОДЫ

1. Возрастные морфометрические особенности ТМО заключаются в ее утолщении с юношеского до старческого возраста и у мужчин, и у женщин ( $p < 0,01$ ).
2. Статистически достоверной разницы между параметрами ТМО в выборке мужчин и выборке женщин в каждом изучаемом возрастном периоде не выявлено ( $p > 0,05$ ).
3. Гистологическое исследование выявило выраженную неупорядоченность волокон ткани ТМО, так называемое ее «разволокнение» в пожилом и старческом возрасте.
4. Результаты исследования могут стать фундаментом к дальнейшему изучению возрастных изменений ТМО человека, а также использоваться в таких клинических специальностях, как нейрохирургия, геронтология, травматология и реабилитация.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Курилина Л. Р. Когнитивные нарушения у больных, оперированных по поводу травматических внутримозговых гематом. Бюллетень сибирской медицины. 2008;7(5-1):214-219. doi:10.20538/1682-0363-2008-5-1-214-219.

2. Bridgette D. Semple, Akram Zamani, Genevieve Rayner, Sandy R. Shultz, Nigel C. Jones. Affective, neurocognitive and psychosocial disorders associated with traumatic brain injury and post-traumatic epilepsy. *Neurobiology of Disease*. 2019;123:27-41. doi: 10.1016/j.nbd.2018.07.018

3. Недугов Г. В. Факторы риска дислокации головного мозга при травматических субдуральных гематомах. Казанский медицинский журнал. 2008;89(6):807-810.

4. Balandina I. A., Balandin A. A., Kosareva P. V., Borodulin D. V., Amarantov D. G., Zheleznov L. M. Comparative Organometric Characteristic Of The Cerebellum Of The Young And Old Age. *Advances in Gerontology*. 2017;7(1):95-99 doi: 10.1134/S2079057017010039

5. Gazibara T., Kurtagic I., Kusic-Tepavcevic D., Nurkovic S., Kovacevic N., Gazibara T., Pekmezovic T. Falls, risk factors and fear of falling among persons older than 65 years of age. *Psychogeriatrics*. 2017;17(4):215-223. doi:10.1111/psyg.12217

6. Клевно В. А., Максимов А. В. Клинико-анатомический анализ летальных исходов от дорожно-транспортного травматизма на госпитальном этапе оказания медицинской помощи. Крымский Журнал Экспериментальной и Клинической Медицины. 2019; 9(4): 5-10.

7. Powers M., Monson M. J. E., Zimmerman F. S., Einav S., Dries D. J. Anthropogenic Disasters. *Crit Care Clin*. 2019;35(4):647-658. doi: 10.1016/j.ccc.2019.06.002

8. Yerdessov Nurbek, Izdenov Asset, Beisenov Timur, Suleimenova Roza, Serik Bakhtiyar, Sraubaev Ermek. Industrial traumatism and occupational morbidity in mining industry of Kazakhstan. *J Public Health Res*. 2022;11(1):2169. doi: 10.4081/jphr.2021.2169

9. Анисимов В. Н. Старение и ассоциированные с возрастом болезни. Клиническая геронтология. 2005; 1:42-49.

10. Иржанова А. А., Супрун Н. Г. Проблемы социальной адаптации пожилых людей в пост-трудовой период. Гуманитарные научные исследования. 2015;12(52):219-222.

11. Michelle A. Erickson, William A. Banks. Age-Associated Changes in the Immune System and Blood-Brain Barrier Functions. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1632 doi: 10.3390/ijms20071632

12. Баландин А. А., Баландина И. А., Панкратов М. К. Эффективность лечения пациентов пожилого возраста с черепно-мозговой травмой, осложненной субдуральной гематомой. *Успехи геронтологии*. 2021;34(3):461-465. doi: 10.34922/AE.2021.34.3.017

13. Пурас Ю. В. Факторы риска развития неблагоприятного исхода в хирургическом лечении острой черепно – мозговой травмы. *Неотложная медицинская помощь*. 2012;2:26–33.

14. Alagoz F., Yildirim A.E., Sahinoglu M., Korkmaz M. Traumatic Acute Subdural Hematomas: Analysis of Outcomes and Predictive Factors at a Single Center. *Turkish Neurosurgery*. 2017;27(2):187–191. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.15177-15.2

15. Dong-Seong Shin, Sun-Chul Hwang. Neurocritical Management of Traumatic Acute Subdural Hematomas. *Korean J Neurotrauma*. 2020;16(2):113–125. doi: 10.13004/kjnt.2020.16.e43.

16. Balandina I. A., Balandin A. A., Balandin V. A., Zheleznov L. M. Regularities of Organometric Characteristics of Cerebellum in Young and Old Age. *Journal of Global Pharma Technology*. 2017;9(3):49-53.

17. Jéssica Costa, Solange Martins, Pedro A Ferreira, Ana M S Cardoso, Joana R Guedes, João Peça, Ana L Cardoso. The old guard: Age-related changes in microglia and their consequences. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2021;197:111512. doi: 10.1016/j.mad.2021.111512.

18. Teissier T., Boulanger E., Deramecourt V. Normal ageing of the brain: Histological and biological aspects. *Revue Neurologique*. 2020;176(9):649-660. doi: 10.1016/j.neurol.2020.03.017.

19. Peter Magnusson S., Michael Kjaer. The impact of loading, unloading, ageing and injury on the human tendon. *J Physiol*. 2019;597(5):1283–1298. doi: 10.1113/JP275450

20. Zhang J & Wang JH. Moderate Exercise Mitigates the Detrimental Effects of Aging on Tendon Stem Cells. *PLoS One*. 2015;10(6):e0130454. doi:10.1371/journal.pone.0130454

21. Valérie Haydont, Bruno A Bernard, Nicolas O Fortunel. Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2019;177:150-156. doi: 10.1016/j.mad.2018.03.006

## REFERENCES

1. Kurilina L. R. Cognitive disorders in the patients with traumatic intracranial hematomas after the operation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2008;7(5-1):214-219. (In Russ.) doi:10.20538/1682-0363-2008-5-1-214-219.

2. Bridgette D. Semple, Akram Zamani, Genevieve Rayner, Sandy R. Shultz, Nigel C. Jones. Affective, neurocognitive and psychosocial disorders associated with traumatic brain injury and post-traumatic epilepsy. *Neurobiology of Disease*. 2019;123:27–41. doi: 10.1016/j.nbd.2018.07.018.
3. Nedugov G. V. Risk factors for dislocation of the brain during traumatic subdural hematomas. *Kazan medical journal*. 2008; 89 (6): 807–810. (In Russ.).
4. Balandina I. A., Balandin A. A., Kosareva P. V., Borodulin D. V., Amarantov D. G., Zheleznov L. M. Comparative Organometric Characteristic Of The Cerebellum Of The Young And Old Age. *Advances in Gerontology*. 2017;7(1):95-99 doi: 10.1134/S2079057017010039
5. Gazibara T., Kurtagic I., Kistic-Tepavcevic D., Nurkovic S., Kovacevic N., Gazibara T., Pekmezovic T. Falls, risk factors and fear of falling among persons older than 65 years of age. *Psychogeriatrics*. 2017;17(4):215-223. doi: 10.1111/psyg.12217
6. Klevno V. A., Maksimov A. V. Clinical and anatomical analysis of deaths from road traffic injuries at the hospital stage of medical care. *Crimean journal of experimental and clinical medicine*. 2019; 9(4): 5-10. (In Russ.).
7. Powers M., Monson M. J. E., Zimmerman F. S., Einav S., Dries D. J. Anthropogenic Disasters. *Crit Care Clin*. 2019;35(4):647-658. doi: 10.1016/j.ccc.2019.06.002
8. Yerdessov Nurbek, Izdenov Asset, Beisenov Timur, Suleimenova Roza, Serik Bakhtiyar, Sraubaev Ermek. Industrial traumatism and occupational morbidity in mining industry of Kazakhstan. *J Public Health Res*. 2022;11(1):2169. doi: 10.4081/jphr.2021.2169
9. Anisimov V. N. Aging and age-related diseases. *Klinicheskaya gerontologiya*. 2005;1:42-49. (In Russ.).
10. Irzhanova A. A., Suprun N. G. The problem of social adaptation of elderly people in postremoval period. *Humanitarian research*. 2015;12(52):219-222. (In Russ.).
11. Michelle A. Erickson, William A. Banks. Age-Associated Changes in the Immune System and Blood–Brain Barrier Functions. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1632 doi: 10.3390/ijms20071632
12. Balandin A. A., Balandina I. A., Pankratov M. K. Effectiveness of treatment of elderly patients with traumatic brain injury complicated by subdural hematoma. *Advances in gerontology*. 2021;34(3):461-465. (In Russ.). doi:10.34922/AE.2021.34.3.017.
13. Puras Yu. V, Talypov A. E., Krylov V. V. Risk factors of adverse outcome in the surgical treatment. *Emergency medical care*. 2012;(2):26–33 (In Russ.).
14. Alagoz F., Yildirim A. E., Sahinoglu M., Korkmaz M. Traumatic Acute Subdural Hematomas: Analysis of Outcomes and Predictive Factors at a Single Center. *Turkish Neurosurgery*. 2017;27(2):187–191. doi:10.5137/1019-5149.JTN.15177-15.2
15. Dong-Seong Shin, Sun-Chul Hwang. Neurocritical Management of Traumatic Acute Subdural Hematomas. *Korean J Neurotrauma*. 2020;16(2):113–125. doi: 10.13004/kjnt.2020.16.e43
16. Balandina I. A., Balandin A. A., Balandin V. A., Zheleznov L. M. Regularities of Organometric Characteristics of Cerebellum in Young and Old Age. *Journal of Global Pharma Technology*. 2017; 9(3):49-53.
17. Jéssica Costa, Solange Martins, Pedro A Ferreira, Ana M S Cardoso, Joana R Guedes, João Peça, Ana L Cardoso. The old guard: Age-related changes in microglia and their consequences. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2021;197:111512. doi: 10.1016/j.mad.2021.111512.
18. Teissier T., Boulanger E., Deramecourt V. Normal ageing of the brain: Histological and biological aspects. *Revue Neurologique*. 2020;176(9):649-660. doi: 10.1016/j.neurol.2020.03.017.
19. Peter Magnusson S., Michael Kjaer. The impact of loading, unloading, ageing and injury on the human tendon. *J Physiol*. 2019;597(5):1283–1298. doi: 10.1113/JP275450
20. Zhang J & Wang JH. Moderate Exercise Mitigates the Detrimental Effects of Aging on Tendon Stem Cells. *PLoS One*. 2015;10(6):e0130454. doi:10.1371/journal.pone.0130454
21. Valérie Haydont, Bruno A Bernard, Nicolas O Fortunel. Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2019;177:150-156. doi: 10.1016/j.mad.2018.03.006

УДК 615.849.12

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-4-11-15

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО И ФРАКЦИОННОГО ЛОКАЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ

Вадюхин М. А.<sup>1</sup>, Демьяшкин Г. А.<sup>1</sup>, Шаповалова Е. Ю.<sup>2</sup>, Марукян А. Х.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)», 119048, ул. Трубецкая, 8 стр.2, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

**Для корреспонденции:** Демьяшкин Григорий Александрович, к.м.н., заведующий лабораторией гистологии и иммуногистохимии ИТМиБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); e-mail: dr.dga@mail.ru

**For correspondence:** Grigory Demyashkin, PhD, Head of Department of Histology and Immunohistochemistry, ITM of I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: dr.dga@mail.ru

### Information about authors:

Vadyukhin M. A., <https://orcid.org/0000-0002-6235-1020>

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Shapovalova E. Y., <http://orcid.org/0000-0003-2544-7696>

Marukyan A. Kh., <https://orcid.org/0000-0002-4619-7385>

### РЕЗЮМЕ

Рак кожи занимает четвертое место среди злокачественных новообразований. При их лечении применяют хирургические вмешательства, химиотерапевтические местно-действующие препараты и лучевую терапию. Однако, под действием ионизирующего излучения, помимо атипичных клеток, происходит повреждение паратуморальной ткани. Поэтому, одной из основных задач современной радиобиологии является создание экспериментальных моделей для исследования постлучевых повреждений кожи с целью их профилактики. Цель исследования – морфологическая оценка кожи после облучения электронами в различных дозах. Материал и методы. Крысы линии Вистар (n=50) были поделены на четыре группы: I – контрольная (n=20); остальным животным проводили локальное облучение кожи: II (n=10) – разовая облучающая доза 8 Гр; III (n=10) – разовая облучающая доза 40 Гр; IV (n=10) – 6 циклов ежедневно в дозе 13 Гр, суммарная облучающая доза составила 78 Гр. Полученные образцы исследовали гистологическим и морфометрическим методами на 10 сутки после однократного лучевого воздействия и на 15 сутки от начала фракционированного облучения. Результаты. Во фрагментах кожи после облучения электронами в дозе 8 Гр отмечали утолщение базального слоя эпидермиса и признаки расслоения рогового слоя. После облучения электронами в дозе 40 Гр в эпидермисе обнаружили только уплощенный базальный слой, сосочковый слой дермы сглажен, эпидермально-дермальное сочленение содержало микрополости. После фракционного облучения наблюдали деструкцию эпидермиса и интенсивную лейкоцитарную инфильтрацию дермы. Заключение. Наиболее глубокие повреждения кожи происходят после воздействия фракционного облучения электронами в суммарной дозе 78 Гр, при однократном облучении в дозе 40 Гр патологический процесс затрагивал только эпидермис. Однократное облучение электронами в дозе 8 Гр показало наименьшее местное повреждающее действие в эпидермисе.

**Ключевые слова:** облучение электронами, кератиноциты, эпидермис, дерма.

### MORPHOLOGICAL PICTURE OF THE SKIN AFTER SINGLE AND FRACTIONAL LOCAL ELECTRON IRRADIATION

Vadyukhin M. A.<sup>1</sup>, Demyashkin G. A.<sup>1</sup>, Shapovalova E. Y.<sup>2</sup>, Marukyan A. Kh.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>2</sup>Institution «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

### SUMMARY

Skin cancer ranks fourth among malignant neoplasms, with a mortality rate of 63.7 thousand as of 2020. In the treatment of malignant neoplasms, along with the use of surgical intervention, locally acting chemotherapeutic drugs, as well as radiation therapy, are used. Under the action of ionizing radiation, in addition to atypical cells, damage occurs to healthy paratumoral tissues that fall into the irradiation field. The skin is the organ in which the effects most quickly occur due to exposure to ionizing rays during local or general irradiation. The purpose of the study was a morphological assessment of the skin after electron irradiation at various doses. Material and methods. Mature Wistar rats (n=50) were divided into four groups: I – control (n=20); the rest of the animals after depilation underwent local irradiation of the skin on the outer surface of the thigh: group II (n=10) – a single irradiation dose of 8 Gy; group III (n=10) – a single irradiation dose 40 Gy; group IV (n=10) – 6 cycles daily at a dose of 13 Gy, the total irradiating dose was 78 Gy. The obtained samples were examined on the 10th day after a single radiation exposure and on the 15th day from the start of fractionated irradiation by histological and morphometric methods. Results. The epidermis of the skin of animals of the group II after irradiation with electrons at a dose of 8 Gy consisted of a thickened basal layer, and

signs of delamination were found in the stratum corneum. After electron irradiation at a dose of 40 Gy, the epidermis of the skin is represented by a single-layer flattened basal epithelium, the papillary layer of the dermis is smoothed, and microcavities are found between the epidermis and the dermis. In the skin of animals of group IV, the deepest lesions were observed: the epidermal layer was absent, the papillary layer was smoothed with intense leukocyte infiltration. Conclusion. The deepest skin damage occurs after exposure to fractional electron irradiation at a total dose of 78 Gy; with a single irradiation at a dose of 40 Gy, the pathological process affected the epidermis, and the dermis underwent minor morphological changes. A single electron irradiation at a dose of 8 Gy showed the least local damaging effect.

**Key words:** electron irradiation, morphometry, keratinocyte, epidermis, dermis.

Рак кожи занимает четвертое место среди злокачественных новообразований, а показатель смертности составляет 63,7 тыс. [1].

К немеланомному раку кожи относятся: базальноклеточный (75 – 97%), плоскоклеточный (5 – 15%) и рак придатков кожи (менее 1%) [2]. Эти виды отличаются друг от друга внешними признаками, а также скоростью развития и распространения, прогнозом выздоровления и выживаемости пациентов. Отдельно выделяют меланому – агрессивное злокачественное новообразование кожи (1,8% от всех онкологических заболеваний) [3].

В лечении злокачественных новообразований наряду с хирургическим вмешательством применяют химиотерапевтические местно-действующие препараты, а также лучевую терапию (ЛТ). Под действием ионизирующего излучения, помимо атипичных клеток, происходит повреждение паратуморальной ткани, попадающей в поле облучения.

Кожа, благодаря ее барьерной функции, является органом, в котором быстро возникают эффекты, обусловленные воздействием ионизирующих лучей при локальном или общем облучении, а также могут развиваться различные постлучевые повреждения, в том числе и отдаленные. На степень их выраженности влияют несколько факторов: возраст, физическое состояние, тип кожи, локализация и продолжительность воздействия [4].

Наиболее часто используемым и эффективным методом ЛТ является  $\gamma$ -облучение, которое, однако, сопровождается глубоким повреждением паратуморальной ткани. По мнению некоторых авторов,  $\beta$ -излучение вероятно является альтернативным методом с меньшей глубиной поражения [5]. Это связано с тем, что электроны, как наиболее новый способ облучения, теряют свою максимальную энергию уже в эпидермисе и распределяются по всему объему злокачественного новообразования, не вызывая при этом обширного повреждения окружающих и нижележащих тканей, таким образом создавая оптимальное фокусное поле облучения [6; 7].

На данный момент облучение электронами, а именно параметры его дозирования, глубина повреждения при однократном или фракцион-

ном использовании остаются малоизученными. Поэтому, одной из основных задач современной радиобиологии является создание экспериментальных моделей для исследования морфологических особенностей постлучевых повреждений кожи после облучения электронами. Полученные результаты могут быть экстраполированы на человека с целью подбора оптимальных доз облучения и нивелирования его побочных эффектов.

Цель исследования – морфологическая оценка кожи после облучения электронами в различных дозах.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные – крысы породы Вистар (n=50) были поделены на четыре группы: I – контрольная (n=20); остальным животным проводили локальное облучение кожного покрова на наружной поверхности бедра: II (n=10) – разовая облучающая доза (РОД) 8 Гр; III (n=10) – РОД 40 Гр; IV (n=10) – 6 циклов ежедневно в дозе 13 Гр, суммарная облучающая доза (СОД) составила 78 Гр. Облучение животных проводили на линейном акселераторе “NOVAC-11”. Животных всех групп (I – IV) выводили из эксперимента путем введения высоких доз анестетика на 10 сутки после однократного лучевого воздействия и на 15 сутки от начала фракционированного облучения. Все манипуляции выполняли согласно «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Гистологическое и морфометрическое исследование.

Фрагменты кожи фиксировали в растворе забуферного формалина, после проводки в автоматическом режиме заливали в парафиновые блоки, готовили серийные срезы (толщиной 3 мкм), депарафинировали, дегидратировали и окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические срезы изучали под микроскопом Leica DM2000 с микрофотосъемкой.

Полученные в результате подсчета данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 12 for Windows statistical

software package (IBM Analytics, США). Данные выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Сравнения проводились с использованием дисперсионного анализа. Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

**Макроскопическое исследование.** У животных контрольной группы кожа наружной поверхности бедра визуально не изменена, гладкая, нормальной окраски (белесоватая), с коротким шерстным покровом. У крыс II-ой группы кожа нормальной окраски с коротким волосяным покровом и эпидермальными пластинками белого цвета (сухой постлучевой эпидерматит). У животных III-ей группы – кожа розовая, на редком шерстном покрове также отмечали признаки сухого постлучевого эпидерматита. Кожа крыс IV-ой группы была ярко розового цвета с синюшным оттенком, с участками редкой и короткой шерсти – экссудативный лучевой дерматит с признаками локального восстановления волосяного покрова.

**Микроскопическое исследование.** В контрольной группе кожа состояла из эпидермиса, сосочкового и сетчатого слоев дермы и гиподермы с наличием придатков и обилием волосяных фолликулов (табл. 1, рис. 1А). В эпидермисе животных II-ой группы после облучения электронами в дозе 8 Гр наблюдали утолщение базального слоя в области воронок волосяных каналов, корневых влагалищ и волосяных луковиц. Роговой слой с признаками расслоения.

Придатки кожи (сальные, потовые железы, волосяные фолликулы) определялись на всех уровнях кожного покрова. В сосочковом слое дермы отмечали очаговую лейкоцитарную инфильтрацию (преимущественно полиморфно-ядерными лейкоцитами), а также умеренный периваскулярный отек. Часть кровеносных сосудов – расширены, в их просвете – сладжированные эритроциты (табл. 1, рис. 1Б).

После облучения электронами в дозе 40 Гр эпидермис представлен уплощенным базальным слоем, который местами отсутствовал. Сосочковый слой дермы сглажен, в сохранных мелких кровеносных сосудах просвет расширен, заполнен сладжированными эритроцитами. В эпидермально-дермальном сочленении обнаружили микрополости, содержащие слушенные клетки эпидермиса и полиморфно-ядерные лейкоциты. Волосяные фолликулы были видны на всех уровнях среза, сальные железы отсутствовали. Подкожно-жировая клетчатка – без изменений (табл. 1, рис. 1В).

В коже животных после фракционного облучения электронами СОД 78 Гр эпидермис отсутствовал, сосочковый слой дермы – сглажен и интенсивно инфильтрирован полиморфно-ядерными лейкоцитами. Сетчатый слой дермы и гиподерма – отечны, с разрыхленными коллагеновыми волокнами. Волосяные фолликулы и сальные железы деструктурированы. Кровеносные сосуды расширены, местами с отслойкой эндотелия, сладжем и агрегацией эритроцитов (табл. 1, рис. 1Г).

Таблица 1

#### Морфометрическое исследование кожи после облучения электронами в разных дозах, при $p < 0,05$ .

Группа	Толщина эпидермиса, мкм	Толщина дермы, мкм	Толщина гиподермы, мкм	Внутренний диаметр волосяного фолликула, мкм	Количество волосяных фолликулов в 1 мм <sup>2</sup>
Контроль	22.7 $\pm$ 1.1	381.8 $\pm$ 19.0	378.7 $\pm$ 18.8	36.5 $\pm$ 1.8	40.9 $\pm$ 2.0
8 Гр (однократно)	11.2 $\pm$ 0.5a	320.6 $\pm$ 15.8a	148.2 $\pm$ 7.3a	23.4 $\pm$ 1.1a	37.3 $\pm$ 1.8a
40 Гр (однократно)	4.1 $\pm$ 0.2b	223.9 $\pm$ 11.1b	84.6 $\pm$ 4.1b	9.5 $\pm$ 0.4b	31.6 $\pm$ 1.5b
78 Гр (фракционно)	-	901.2 $\pm$ 44.9c	518.7 $\pm$ 25.8c	-	-

**Примечание:** а контроль и 8 Гр (однократно), b контроль и 40 Гр (однократно), c контроль и 78 Гр (фракционно);  $p < 0,05$

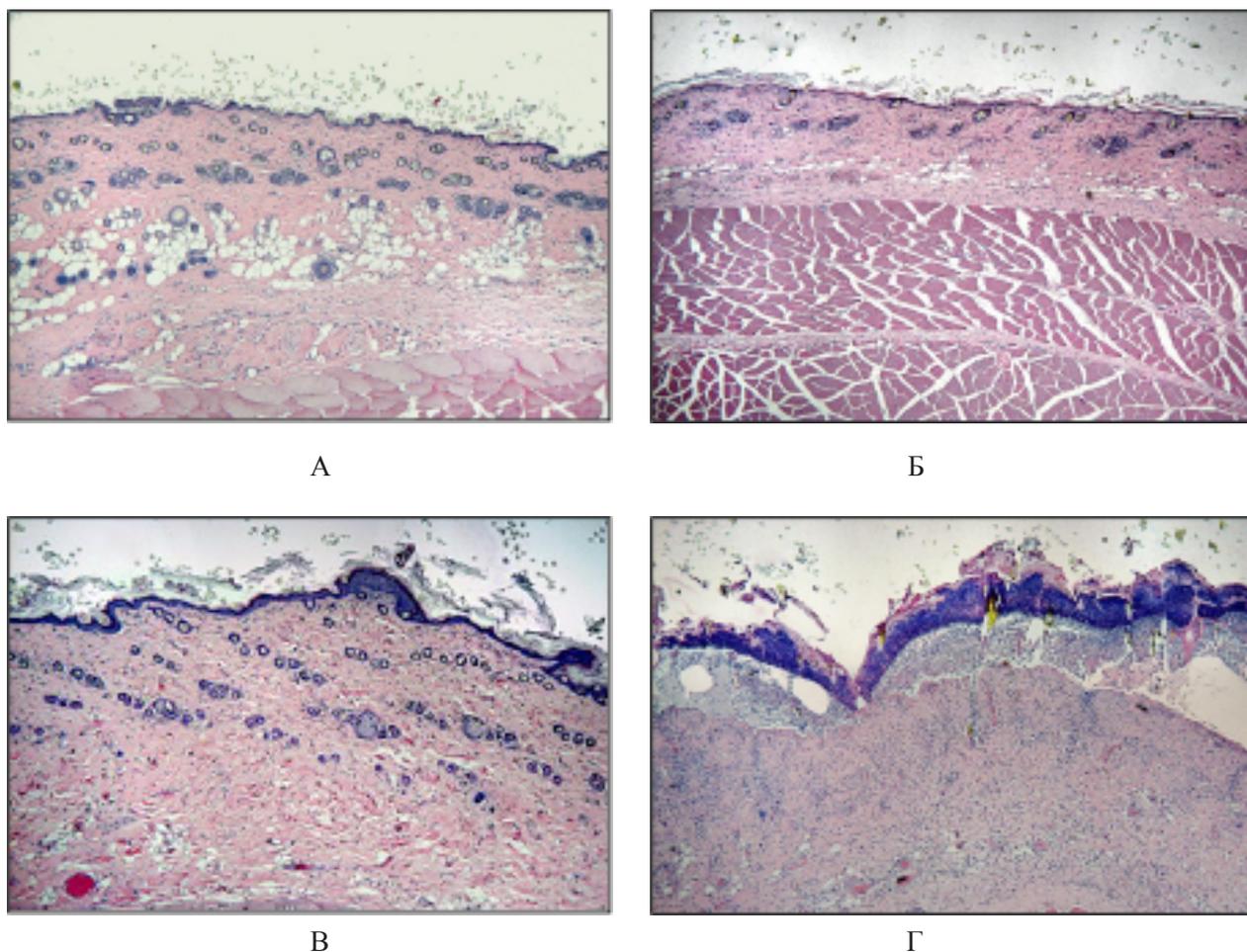
### ОБСУЖДЕНИЕ

В современной онкологии и радиобиологии данные о применении  $\beta$ -терапии при лечении рака кожи и её побочных эффектах немногочисленны.

Настоящая экспериментальная работа посвящена исследованию воздействия локального облучения электронами на кожу в дозах 8 Гр и 40

Гр (однократно) и 78 Гр (фракционно, 6 циклов по 13 Гр).

Известно, что после  $\gamma$ -облучения гибель кератиноцитов базального слоя можно обнаружить при воздействии небольших РОД в 3 – 5 Гр [8; 9]. Напротив, облучение электронами в дозе 8 Гр, как было показано в нашем исследовании, вызывает незначительное фокальное утолщение базального слоя эпидермиса.



**Рис. 1.** Фрагменты кожи на 10 сутки (I – III группы) и 15 сутки (IV группа); окраска – гематоксилином и эозином, увелич.  $\times 100$ . А – контроль; Б – после однократного облучения электронами в дозе 8 Гр; В – после однократного облучения электронами в дозе 40 Гр; Г – после фракционного облучения электронами в суммарной дозе 78 Гр.

Для повреждения сальных и потовых желез фотонами требуется облучение в дозе около 18 – 20 Гр. Было показано, что доза 45 Гр привела к их некрозу, патогенетически связанному с ишемией вследствие разрушения кровеносных сосудов [10; 11]. Однако, после локального облучения электронами в РОД 40 Гр сохранялись волосные фолликулы на всех уровнях среза.

Необходимо отметить, что впервые было проведено фракционное облучение кожи электронами в СОД 78 Гр (6 циклов по 13 Гр), при котором наблюдали наиболее глубокие повреждения кожи, такие как: деструкция эпидермиса и волосных фолликулов и сальных желез, отек гиподермы и сетчатого слоя дермы. Стенка кровеносных сосудов не была полностью разрушена, что было выявлено другими авторами при облучении низкими дозами, например, фотонами.

На основании имеющихся литературных данных и результатах проведенного исследования, можно заключить, что облучение электронами

в сравнении с другими видами излучения обладает меньшим местно-раздражающим действием. Это ещё раз доказывает необходимость дальнейшего изучения механизмов влияния электронотерапии на паратуморальную ткань и расширения области ее применения в клинической практике.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наиболее глубокие повреждения кожи происходят после воздействия фракционного облучения электронами в суммарной дозе 78 Гр, при однократном облучении в дозе 40 Гр патологический процесс затрагивал только эпидермис. Однократное облучение электронами в дозе 8 Гр показало наименьшее местное повреждающее действие в эпидермисе.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
2. Muntyanu A., Ghazawi F. M., Nedjar H. Non-Melanoma Skin Cancer Distribution in the Russian Federation. *Dermatology.* 2021;237(6):1007-1015. doi:10.1159/000512454.
3. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer.* 2021;10.1002/ijc.33588. doi:10.1002/ijc.33588.
4. Yang X., Ren H., Guo X., Hu C., Fu J. Radiation-induced skin injury: pathogenesis, treatment, and management. *Aging (Albany NY).* 2020;12(22):23379-23393. doi: 10.18632/aging.103932.
5. Черняев А. П., Колыванова М. А., Борщеговская П. Ю. Радиационные технологии в медицине. Часть 1. Медицинские ускорители. Вестник Московского университета. Серия 3: Физика. Астрономия. 2015;6:28-36. doi: 10.3103/S0027134915060090.
6. Pashazadeh A., Boese A., Friebe M. Radiation therapy techniques in the treatment of skin cancer: an overview of the current status and outlook. *J Dermatolog Treat.* 2019;30(8):831-839. doi: 10.1080/09546634.2019.1573310.
7. Lee M. J., Son H. J. Electron beam radiotherapy for Kaposi's sarcoma of the toe and web. *J Cancer Res Ther.* 2020;16(1):161-163. doi:10.4103/jcrt.JCRT\_115\_18.
8. Ward W. F., Molteni A., Ts'ao C., Hinz J. M. The effect of Captopril on benign and malignant reactions in irradiated rat skin. *Br J Radiol.* 1990;63(749):349-354. doi: 10.1259/0007-1285-63-749-349.
9. Ran X., Cheng T., Shi C. et al. The effects of total-body irradiation on the survival and skin wound healing of rats with combined radiation-wound injury. *J Trauma.* 2004;57(5):1087-1093. doi:10.1097/01.ta.0000141885.72033.c7.
10. McPartlin A. J., Slevin N. J., Sykes A. J., Rembielak A. Radiotherapy treatment of non-melanoma skin cancer: a survey of current UK practice and commentary. *Br J Radiol.* 2014;87(1043):20140501. doi: 10.1259/bjr.20140501.
11. Wang X. J., Lin S., Kang H. F. The effect of RHIZOMA COPTIDIS and COPTIS CHINENSIS aqueous extract on radiation-induced skin injury in a rat model. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:105. doi: 10.1186/1472-6882-13-105.

## REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Muntyanu A., Ghazawi F. M., Nedjar H. Non-Melanoma Skin Cancer Distribution in the Russian Federation. *Dermatology.* 2021;237(6):1007-1015. doi: 10.1159/000512454.
3. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer.* 2021;10.1002/ijc.33588. doi: 10.1002/ijc.33588.
4. Yang X., Ren H., Guo X., Hu C., Fu J. Radiation-induced skin injury: pathogenesis, treatment, and management. *Aging (Albany NY).* 2020;12(22):23379-23393. doi: 10.18632/aging.103932.
5. Chernyaev A. P., Kolyvanova M. A., Borshchegovskaya P. Y. Radiation technology in medicine: part 1. Medical accelerators. Moscow university physics bulletin. 2015;6:28-36. (In Russ.). doi: 10.3103/S0027134915060090.
6. Pashazadeh A., Boese A., Friebe M. Radiation therapy techniques in the treatment of skin cancer: an overview of the current status and outlook. *J Dermatolog Treat.* 2019;30(8):831-839. doi: 10.1080/09546634.2019.1573310.
7. Lee M. J., Son H. J. Electron beam radiotherapy for Kaposi's sarcoma of the toe and web. *J Cancer Res Ther.* 2020;16(1):161-163. doi: 10.4103/jcrt.JCRT\_115\_18.
8. Ward W. F., Molteni A., Ts'ao C., Hinz J. M. The effect of Captopril on benign and malignant reactions in irradiated rat skin. *Br J Radiol.* 1990;63(749):349-354. doi: 10.1259/0007-1285-63-749-349.
9. Ran X., Cheng T., Shi C. The effects of total-body irradiation on the survival and skin wound healing of rats with combined radiation-wound injury. *J Trauma.* 2004;57(5):1087-1093. doi:10.1097/01.ta.0000141885.72033.c7.
10. McPartlin A. J., Slevin N. J., Sykes A. J., Rembielak A. Radiotherapy treatment of non-melanoma skin cancer: a survey of current UK practice and commentary. *Br J Radiol.* 2014;87(1043):20140501. doi:10.1259/bjr.20140501.
11. Wang X. J., Lin S., Kang H. F. The effect of RHIZOMA COPTIDIS and COPTIS CHINENSIS aqueous extract on radiation-induced skin injury in a rat model. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:105. doi: 10.1186/1472-6882-13-105.

## АДАПТАЦИЯ ПОРТАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ КРЫС К ВЫПОЛНЕНИЮ ЕЖЕДНЕВНОЙ, ДОЗИРОВАННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ В ВИДЕ ПРИНУДИТЕЛЬНОГО БЕГА

Виноградов А. А., Андреева И. В., Симакова Е. С.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России), 390026, Рязань, Россия

**Для корреспонденции:** Виноградов Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры анатомии по курсу оперативной хирургии и топографической анатомии ФБГУ ВО РязГМУ Минздрава России, e-mail: alexanvin@yandex.ru

**For correspondence:** Vinogradov Alexander Anatolyevich, MD, Professor of the departments of anatomy on the course of operative surgery and topographic anatomy, Ryazan State Medical University named after academician I. P. Pavlov alexanvin@yandex.ru

### Information about authors:

**Vinogradov A. A.**, <https://orcid.org/0000-0003-0441-7121>

**Andreeva I. V.**, <https://orcid.org/0000-0001-6946-3036>

**Симакова Е. С.**, <https://orcid.org/0000-0001-8728-6395>

### РЕЗЮМЕ

На крысах в режиме спектрального доплера изучены возможности адаптации портальной гемодинамики к физической нагрузке в виде ежедневного принудительного бега. У интактных животных были определены возрастные изменения после 60- и 75-суточные наблюдения, а у экспериментальных животных – после 60-суточной ежедневной дозированной физической нагрузки и на 75 сутки после 15-суточного восстановительного периода. Установлено, что изменение диаметра воротной вены оказывает определенное влияние на показатели портальной гемодинамики. При увеличении диаметра уменьшалась линейная, но увеличивалась объемная скорость кровотока в воротной вене. В восстановительном периоде параметры портальной гемодинамики стремились к исходным показателям. Адаптации портальной гемодинамики к физической нагрузке включает компенсацию уменьшения линейной скорости кровотока увеличением объемной скорости кровотока в воротной вене.

**Ключевые слова:** крыса, беговая физическая нагрузка, адаптация, портальная гемодинамика.

### ADAPTATION OF RATS' PORTAL HEMODYNAMICS TO DAILY PHYSICAL ACTIVITY AS FORCED RUNNING

Vinogradov A. A., Andreeva I. V., Simakova E. S.

Ryazan State Medical University named after academician I. P. Pavlov, Ryazan, Russia

### SUMMARY

In rats, the adaptation of portal hemodynamics to physical exertion in the form of daily forced running was studied by ultrasound methods. The following parameters were determined: the diameter and cross-section of the portal vein, linear and volumetric blood flow rates, systolic-diastolic coefficient, resistance index and the index of spectral expansion of the portal vein. In intact animals, age-related changes were determined after 60- and 75-day observations and in experimental animals after 60-day daily dosed physical exertion and on day 75 after a 15-day recovery period. It was determined that the change in the diameter of explosives affects the portal hemodynamics indicators. With an increase in the diameter of the portal vein, the linear and volumetric velocity of blood flow in the portal vein decreased and increased. It was determined that in the recovery period, the parameters of portal hemodynamics tended to the initial indicators. The mechanisms of adaptation of portal hemodynamics to physical exertion include compensation for a decrease in the linear velocity of blood flow by increasing the volumetric velocity of blood flow in the portal vein.

**Key words:** rat, treadmill simulator, adaptation, portal hemodynamics, running physical activity.

В норме адаптация организма к физической нагрузке (ФН) определяется разнообразными функциями печени, которые обеспечивают и поддерживают высокую работоспособность. Особый интерес представляет адаптация к ФН портальной гемодинамики, которая является основным буферным регуляторным механизмом

поддержания адекватного функционирования печени [1; 2; 3]. Исследование изменений портальной гемодинамики также весьма актуально в связи с пандемией COVID-19, так как у многих пациентов, перенесших COVID-19, диагностировали мультисистемное поражение в том числе и печени [4; 5; 6]. Первостепенной задачей вос-

становления этих пациентов является физическая реабилитация [7; 8; 9; 10]. Дозированная физическая нагрузка является актуальной проблемой реабилитации не только для пациентов, перенесших COVID-19, но и для практически здоровых индивидуумов. Это связано с тем, что о пользе и вреде физической нагрузки в литературе имеются диаметрально противоположные мнения [11; 12]. В частности, остаются недостаточно изученными вопросы, касающиеся адаптации портальной гемодинамики к ежедневной дозированной ФН в виде принудительного бега [13; 14].

Для определения параметров портальной гемодинамики в практической и экспериментальной медицине применяют ультразвуковое исследование (УЗИ) с дуплексным сканированием и цветовым доплеровским картированием (ЦДК) воротной вены (ВВ), что позволяет информативно оценить параметры печеночного кровотока [15; 16; 17].

Цель работы: в эксперименте на крысах изучить особенности адаптации портальной гемодинамики к дозированной ФН в виде принудительного бега.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в осенне-зимний период на молодых (14-16 месяцев) белых крысах-самцах массой 200-230 г, которые содержались в условиях вивария на стандартном рационе. Содержание и обращение с животными в эксперименте (включая анестезию и эвтаназию передозировкой золетила) осуществляли соответственно принципам «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [19], приказу Министерства Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», «Санитарно-эпидемиологических требований к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (СП 2.2.1.3218-14). Животные содержались по 5 особей в стандартных клетках при температуре воздуха 20-22°C, относительной влажности 40-60%, световом режиме 12:12 с включением света в 800, потребляли корм «Фаворит» (Россия) и воду при свободном доступе. Отлучение от корма проводили за 2 ч до ФН [14; 18].

Моделирование физической нагрузки путем дозированного, принудительного бега осуществляли на беговой дорожке (патент РФ 2677193). Контроль быстроты движения беговой дорожки осуществляли регулятором скорости (патент РФ 2677193). Животных опытной группы еже-

дневно подвергали ФН с начальной скоростью 5 км/час. Постепенно скорость бега доводили до 9-10 км/час [13]. Продолжительность эксперимента составляла от 45 до 53 минут (49,4±2,5 мин). Время нахождения крыс на беговой дорожке зависело от продуктивности бега.

В условиях наркоза (золетил 20 мг/кг массы) в положении на спине с помощью ультразвуковых сканеров: SonoSite Titan (США) и Sonoace-8000 (Medison, Южная Корея) с линейным датчиком в режиме цветного доплеровского картирования (ЦДК) в проекции ВВ визуализировали цветовой сигнал, и спектр кровотока в ВВ в режиме спектрального доплера. У животных контрольной группы (КГ) возрастные изменения портальной гемодинамики изучали на 75 сутки наблюдения. У животных опытной группы (ОГ) на 60 сутки определяли влияние ежедневной дозированной ФН в виде принудительного бега на портальную гемодинамику и на 75 сутки – влияние 15-суточного восстановительного периода на портальную гемодинамику. С помощью доплеровского сканирования изучали: диаметр (D в см) ВВ; линейную скорость кровотока – пиковую систолическую (V<sub>ps</sub> в см/с), конечную диастолическую (V<sub>ed</sub> в см/с) и усредненную по времени среднюю (TAV в см/с.) скорости кровотока в ВВ. Среднюю объемную скорость кровотока (Q<sub>ср.</sub> в мл/мин) в ВВ вычисляли по формуле –  $Q_{ср.} = S \times TAV \times 60$ . Поперечное сечение (S в см<sup>2</sup>) ВВ вычисляли по формуле –  $S = \pi D^2 / 4$ . При определении фактического влияния ФН на портальную гемодинамику учитывали возрастные изменения, определенные у животных КГ. У животных ОГ после 60-суточной ежедневной ФН был 15-суточный восстановительный период.

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью программы «StatSoft Statistica 13.0» (США, номер лицензии AXA003J115213FAACD-X, Statsoft.ru) и Microsoft Excel for MAC ver. 16.24 (ID 02984-001-000001). Определяли: среднюю арифметическую выборки (M); ошибку средней арифметической выборки (m); вероятность ошибки (p); квартиль – отношение медианы к максимальному и минимальному показателям выборки (δ); t-критерий Стьюдента. При распределении данных, отличных от нормальных, в независимых выборках статистическую значимость различий оценивали по U-критерий Манна-Уитни. Наличие связи между исследуемыми группами определяли с помощью коэффициента корреляции Пирсона (R). Коэффициент корреляции менее 0,3 определял слабую корреляционную связь; 0,3-0,5 – умеренную; 0,5-0,7 – заметную; 0,7-0,9 – высокую; 0,9-1,0 – весьма высокую корреляционную связь.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В начале наблюдения у животных КГ исходный показатель (ИП) D ВВ был в пределах  $0,086 \pm 0,001$  см. С возрастом (через 75 суток) установлено увеличение D ВВ до  $0,10 \pm 0,003$  см ( $p=0,001$ ). Увеличение D ВВ сопровождалось увеличением S ВВ, размер которого в начале наблюдения составлял  $0,0058 \pm 0,0001$  см<sup>2</sup>, а к 75 суткам увеличивался до  $0,0078 \pm 0,0004$  см<sup>2</sup> ( $p=0,001$ ).

У животных КГ с увеличением D ВВ линейная скорость кровотока в ВВ уменьшалась. Vps в ВВ в начале наблюдения составляла  $9,87 \pm 0,077$  см/с, а к 75 суткам уменьшалась до  $9,66 \pm 0,017$  см/с ( $p=0,025$ ). Ved в ВВ –  $4,93 \pm 0,082$  см/с, а к 75 суткам –  $4,59 \pm 0,019$  см/с ( $p=0,003$ ). TAV в ВВ –  $7,41 \pm 0,088$  см/с, а к 75 суткам –  $7,13 \pm 0,012$  см/с ( $p=0,006$ ) соответственно.

Увеличение S ВВ, несмотря на уменьшение TAV, сопровождалось увеличением Qcp. с  $2,57 \pm 0,026$  мл/мин до  $3,33 \pm 0,169$  мл/мин ( $p=0,002$ ) к 75 суткам.

У животных ОГ ИП D ВВ был в пределах  $0,083 \pm 0,001$  см. После ежедневной дозированной ФН в виде принудительного бега к 60 суткам D ВВ увеличивался до  $0,120 \pm 0,006$  см ( $p=0,001$ ). А после 15-суточного восстановительного периода он уменьшался до  $0,100 \pm 0,003$  см ( $p=0,016$ ). Диаметр ВВ через 60 суток был больше ИП на  $43,98 \pm 4,321\%$ . После восстановительного периода он уменьшался в сравнении 60-суточным показателем на  $23,84 \pm 5,001\%$ , но оставался больше ИП на  $16,64 \pm 1,349\%$ . После вычета данных возрастных изменений, определенных у животных КГ, оказалось, что фактически D ВВ животных ОГ после восстановительного периода увеличивался на  $4,27 \pm 2,889\%$ .

Изменения D ВВ в неодинаковой степени пропорциональной зависимости влияли на показатели портальной гемодинамики животных КГ. Линейная скорость кровотока в ВВ (Vps, Ved и TAV) изменялась в обратной пропорциональной зависимости от изменения D ВВ.

В начале наблюдения Vps в ВВ колебалась в пределах  $9,89 \pm 0,033$  см/с. После 60-суточного эксперимента она уменьшалась до  $8,16 \pm 0,241$  см/с ( $p=0,001$ ), а к концу восстановительного периода увеличивалась до  $9,14 \pm 0,190$  см/с ( $p=0,004$ ), но оставалась ниже ИП. После восстановительного периода Vps в ВВ была меньше ИП на  $7,37 \pm 1,768\%$ . Однако фактически после вычета возрастных изменений, она была меньше ИП на  $5,23 \pm 2,298\%$ .

ИП Ved в ВВ составлял  $4,86 \pm 0,063$  см/сек. После 60-суточного эксперимента Ved в ВВ уменьшалась до  $3,03 \pm 0,224$  см/с ( $p<0,003$ ), а

после восстановительного периода увеличивалась до  $4,08 \pm 0,172$  см/с ( $p=0,002$ ), но оставалась ниже ИП. Ved в ВВ к 75 суткам была меньше ИП на  $15,99 \pm 2,831\%$ . Фактически, после вычета возрастных изменений, в сравнении с ИП Ved в ВВ уменьшалась на  $9,24 \pm 4,294\%$ .

Изменение показателей Vps и Ved в ВВ оказывало прямо пропорциональное влияние на TAV в ВВ, ИП которой был в пределах  $7,36 \pm 0,05$  см/с. К 60 суткам TAV в ВВ уменьшалась до  $5,60 \pm 0,294$  см/с ( $p=0,001$ ), а после восстановительного увеличивалась до  $6,61 \pm 0,192$  см/с ( $p=0,004$ ), но оставалась ниже ИП. К 75 суткам TAV в ВВ была меньше ИП на  $10,21 \pm 2,039\%$ . Фактически же (без учета возвратных изменений) TAV в ВВ была меньше ИП на  $6,54 \pm 3,10\%$ .

Показатель Qcp. в ВВ зависела от показателей TAV и S ВВ. Показатель S ВВ находился в прямой зависимости от изменения D ВВ. ИП S ВВ составлял  $0,0055 \pm 0,0006$  см<sup>2</sup>. К 60 и 75 суткам показатель S ВВ увеличивался до  $0,0114 \pm 0,0013$  см<sup>2</sup> ( $p=0,003$ ) и  $0,0079 \pm 0,0005$  см<sup>2</sup> ( $p=0,013$ ) соответственно. К 75 суткам эксперимента показатель S ВВ увеличивался в сравнении с ИП на  $44,51 \pm 12,896\%$ . Однако фактическое увеличение было на  $10,28 \pm 6,989\%$ .

В начале наблюдения ИП Qcp. в ВВ колебался в пределах  $2,41 \pm 0,245$  мл/мин. К 60 суткам экспериментального воздействия показатель увеличивался до  $3,78 \pm 0,269$  мл/мин ( $p<0,005$ ), а после восстановительного периода – до  $3,11 \pm 0,177$  мл/мин ( $p<0,046$ ). При сопоставлении с ИП Qcp. в ВВ было установлено, что к 75 суткам показатель Qcp. в ВВ увеличивался на  $29,89 \pm 11,939\%$ . Фактически же увеличение было на  $6,71 \pm 2,72\%$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено статистически значимое изменения D ВВ на портальную гемодинамику (таблица) доминирующее влияние оказывают изменения D ВВ. Показатели линейной скорости кровотока в ВВ (Vps, Ved и TAV) уменьшались при увеличении D ВВ. При этом происходило увеличение S ВВ и, как следствие, увеличение Qcp. в ВВ.

При сопоставлении показателей возрастных и экспериментальных изменений линейного и объемного кровотоков в ВВ установлено, что понижение TAV в ВВ компенсировалось повышением Qcp. в ВВ вследствие прогрессивного увеличения S ВВ. Причем процентное повышение Qcp. в ВВ относительно к ИП значительно превышало процентное понижение TAV. При уменьшении линейной скорости кровотока в ВВ перфузия печени изменялась незначительно вследствие увеличения Qcp. в ВВ. Этот факт

Таблица

	$\delta$				Уэмп.		R	
	%	ИП	60 сутки	75 сутки	60 сутки	75 сутки	60 сутки	75 сутки
КГ D (см)	25	0,085	-	0,098	-	0		0,984
	50	0,086	-	0,100				
	75	0,087	-	0,103				
ОГ D (см)	25	0,080	0,113	0,098	0	1	0,866	0,612
	50	0,080	0,120	0,100				
	75	0,088	0,128	0,103				
КГ S (см <sup>2</sup> )	25	0,0055	-	0,0075	-	0	-	0,973
	50	0,0058	-	0,0079				
	75	0,0059	-	0,0084				
ОГ S (см <sup>2</sup> )	25	0,005	0,010	0,0078	0	2	0,866	0,525
	50	0,005	0,011	0,0079				
	75	0,0061	0,013	0,0082				
КГ Vps (см/с)	25	9,823	-	9,633	-	0	-	0,830
	50	9,900	-	9,650				
	75	9,948	-	9,675				
ОГ Vps (см/с)	25	9,843	7,923	9,073	0	0	0,989	0,899
	50	9,865	8,125	9,210				
	75	9,903	8,433	9,288				
КГ Ved (см/с)	25	4,895	-	4,590	-	0	-	0,885
	50	4,930	-	4,60				
	75	5,003	-	4,610				
ОГ Ved (см/с)	25	4,793	2,790	3,962	0	0	0,962	0,975
	50	4,875	2,998	4,113				
	75	4,905	3,256	4,241				
КГ TAV (см/с)	25	7,360	-	7,115	-	0	-	0,841
	50	7,420	-	7,130				
	75	7,480	-	7,130				
ОГ TAV (см/с)	25	7,323	5,355	6,520	0	0	0,984	0,968
	50	7,375	5,560	6,660				
	75	7,405	5,840	6,763				
КГ Qcp. (мл/мин)	25	2,554	-	3,216	-	0	-	0,992
	50	2,583	-	3,366				
	75	2,613	-	3,573				
ОГ Qcp. (мл/мин)	25	2,228	3,532	3,070	0	2	0,873	0,685
	50	2,239	3,772	3,138				
	75	2,644	4,018	3,186				

**Примечание:**  $\delta$  – квартиль; Уэмп. – U эмпирическое U-критерия Манна-Уитни; Укр. – U критическое U-критерия Манна-Уитни (Укр.= 3-7); R – коэффициент корреляции Пирсона.

можно расценивать как адаптацию портальной гемодинамики к изменениям, связанных с ФН. В соответствии с законом непрерывности потока, который указывает на то, что объемная скорость кровотока в системе трубок различного диаметра постоянна и независима от поперечного сечения трубки. Можно считать, что в фиксированный отрезок времени  $Q_{ср}$  в ВВ будет постоянной [17]. Ветви ВВ при формировании внутриорганный сосудистого русла печени создают непрерывную сеть сосудов, суммарное поперечное сечение которых превышает поперечное сечение ВВ.

Анализ экспериментальных данных дает возможность полагать, что изменения портальной гемодинамики в процессе ФН носят транзитный характер. В частности, после вычета показателей возрастных изменений, определенных в процессе наблюдения у животных КГ, за 15-суточный восстановительный период фактическая разница основных показателей портальной гемодинамики животных ОГ в сравнении с ИП в каждом отдельном случае незначительно отличалась от ИП. Возможно, что при увеличении времени восстановительного периода, показатели портальной гемодинамики практически не будут отличаться от ИП. Поэтому, школьные учителя физического воспитания и тренера спортивных секций должны чередовать продолжительную ФН с восстановительным периодом.

Но остаточная разница наводит на мысль о влиянии других факторов на портальную гемодинамику. По-видимому, на портальную гемодинамику оказывает влияние изменение внутрисосудистого давления и скорости кровотока в каудальной полой вене, в которую осуществляется отток крови из печени по печеночным венам. В нормальных условиях колебания каудального кровотока не влияют на отток крови из печени. Тем не менее, при беговой нагрузке повышается приток крови к нижним конечностям, что сопровождается увеличением венозного оттока в нижнюю полую вену. Установлено, что увеличение показателей каудальной гемодинамики сохраняется и после прекращения ФН [20], что может оказывать негативное влияние на отток крови по печеночным венам.

По-видимому, выявленные остаточные изменения портальной гемодинамики могут быть следствием увеличения показателей каудальной гемодинамики.

Однако, влияние изменения гемодинамики в каудальной полой вене при ФН на портальную гемодинамику в настоящее время исследовано недостаточно полно и требует целенаправленного изучения.

## ВЫВОДЫ

1. На адаптацию портальной гемодинамики к ФН оказывает доминирующее влияние изменение D ВВ.

2. Параметры портальной гемодинамики находятся в неодинаковой степени пропорциональной зависимости от изменения D ВВ.

3. При увеличении D ВВ уменьшается линейная скорость кровотока ( $V_{ps}$ ,  $V_{ed}$ ,  $TAV$ ) в ВВ, но увеличивается  $Q_{ср}$ , что является одним из механизмов адаптации портальной гемодинамики к ФН.

4. Изменения параметров портальной гемодинамики являются транзитными; после прекращения ФН параметры портальной гемодинамики стремятся к ИП.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Митьков В. В., Черешнева Ю. Н., Федотов И. Г., Митькова М. Д., Серебренников В. А. Влияние дыхания, физической и пищевой нагрузки на характер кровотока в воротной и печеночных венах. Ультразвуковая диагностика. 2000;(3):78–83.

2. Bombelli L., Genitoni V., Biasi S. Materazzo C., Bonfanti G. Liver Hemodynamic Flow Balance by Image Directed Doppler Ultrasound Evaluation in normal Subjects. Journal of Clinical Ultrasound. Gut. 1991;30:503–509.

3. Eipel C., Abshagen K., Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: the hepatic arterial buffer response revisited. World Journal of Gastroenterology. 2010;16(48):6046–6057. doi:10.3748/wjg.v16.i48.6046.

4. Кравчук Ю. А. Особенности ведения пациентов с заболеваниями печени в условиях пандемии COVID-19. Известия Российской Военно-медицинской академии. 2021; 40(3):57–62. doi:10.17816/rmmar76270.

5. Никитин И. Г., Ильченко Л. Ю., Федоров И. Г., Тополян Г. Г. Поражение печени при COVID-19: два клинических наблюдения. Альманах клинической медицины. 2020;48(6):412–421. doi:10.18786/2072-0505-2020-48-053.

6. Xu L., Liu J., Lu M., Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. Liver Int. 2020;40(5):998–1004. doi:10.1111/liv.14435.

7. Бубнова М. Г., Персиянова-Дуброва А. Л., Лямина Н. П. Реабилитация после новой коронавирусной инфекции (COVID-19): принципы

и подход. *CardioСоматика*. 2019;11(4): 6–14. doi: 10.26442/222117185.4.200570.

8. Тришкин Д. В., Крюков Е. В., Фролов Д. В., Зайцев А. А., Костюченко О. М., Геворкян А. Р. Физическая реабилитация пациентов с новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 (COVID-19) в стационаре. *Военно-медицинский журнал*. 2020;341(9) 13–19. doi:10.17816/RMMJ82354.

9. Фролов Д. В., Крюков Е. В., Светлицкая М. В., Костюченко О. М., Зайцев А. А., Чернов С. А., Чернецов В. А. Физическая реабилитация пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в военном стационаре с использованием телекоммуникационных технологий. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2020;19(4):266–274. doi: 10.17816/1681-3456-2020-19-4-10.

10. Guan W. J., Ni Z. Y., Hu Y., Liang W. H., Ou C. O., He J. X., Liu L., Shan H., Lei C. L., Hui D. S. C., Du B. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

11. Шутьева Е. Ю., Зайцева Т. В. Влияние спорта на жизнь и здоровье человека. *Научно-методический электронный журнал «Концепт»*. 2017;(4):1–4.

12. Янченко, С. В., Минина В. А. Влияние профессионального и любительского спорта на организм человека. *Молодой ученый*. 2018;14(200):257–60.

13. Беляева Г. С., Пекин А. В., Данилов Н. А., Ерофеев А. И. Экспериментальная модель оценки физической работоспособности у мелких лабораторных животных при формировании положительной мотивации. *Прикладные проблемы безопасности технических и биотехнических систем*. 2015;(1):28–32.

14. Иванов Д. Г., Александровская Н. В., Афонькина Е. А., Ерошкин П. В., Семенов А. Н., Бусыгин Д. В. Адаптационные изменения у крыс при ежедневном выполнении физической нагрузки в методике «Бег на тредбане». *Биомедицина*. 2017;(2):4–22.

15. Андреева И. В., Виноградов А. А. Перспективы использования современных методов визуализации в морфологических и экспериментальных исследованиях. *Наука молодых*. 2015;(4):59–69.

16. Андреева И. В., Виноградов А. А., Жесткова Т. М., Калина, Н. В. Симаков Р.Ю., Симакова Е. С., Григорьев А. С., Святивода Р. В. Современные возможности изучения гемодинамики в экспериментальных исследованиях. *Дальнево-*

*сточный медицинский журнал*. 2019;(2):54–58. doi: 10.35177/1994-5191-2019-1-54-58.

17. Лелюк В. Г., Лелюк С. Э. Ультразвуковая оценка периферической венозной системы в норме и при различных патологиях: учебное методическое пособие. М.; 2004.

18. Липатов В. А., Крюков А. А., Северинов Д. А., Саакян А. Р. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Часть 2. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2019;27(1):80–92. doi:10.23888/PAVLOVJ201927180-92.

19. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. *Strasbourg*. 1986:52.

20. Asplund C. A., O'Connor F. G., Noakes T.D. Exercise-associated collapse: an evidence-based review and primer for clinicians. *Br. J. Sports Med*. 2011;45(14):1157–1162. doi:10.1136/bjsports-2011-090378.

## REFERENCES

1. Mitkov V. V., Cheresheva Yu. N., Fedotov I. G., Mitkova M. D., Serebrennikov V. A. The influence of respiration, physical and nutritional stress on the nature of blood flow in the portal and hepatic veins. *Ultrasound diagnostics*. 2000;(3):78–83. (In Russ.).

2. Bombelli L., Genitoni V., Biasi S., Materazzo C., Bonfanti G. Liver Hemodynamic Flow Balance by Image Directed Doppler Ultrasound Evaluation in normal Subjects. *Journal of Clinical Ultrasound*. *Gut*. 1991;30:503–509.

3. Eipel C., Abshagen K., Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: the hepatic arterial buffer response revisited. *World Journal of Gastroenterology*. 2010;16(48):6046–6057. doi:10.3748/wjg.v16.i48.6046.

4. Kravchuk Yu. A. Management of patients with liver disease in the context of the pandemic COVID-19. *Bulletin of the Russian Military medical Academy*. 2021;40(3):57–62 (In Russ.). doi:10.17816/rmmar76270.

5. Nikitin I. G., Ilchenko L. Yu., Fedorov, I. G., Topalian G. G. Defeat liver damage in COVID-19: two clinical observations. *Almanac of clinical medicine*. 2020;48(6):412–421. (In Russ.). doi:10.18786/2072-0505-2020-48-053.

6. Xu L., Liu J., Lu M., Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int*. 2020;40(5):998–1004. doi:10.1111/liv.14435.

7. Bubnova M. G., Persyanova-Dubrova A. L., Lyamina N. P. Rehabilitation after a new coronavirus infection (COVID-19): principles and

- approach. *CardioComatics*. 2019;11(4):6–14 (In Russ.). doi:10.26442/222117185.4.200570.
8. Trishkin D. V., Kryukov E. V., Frolov D. V., Zaitsev A. A., Kostyuchenko O. M., Gevorkyan A. R. Physical rehabilitation of patients with a new coronavirus infection SARS-CoV-2 (COVID-19) in the hospital. *Military Medical Journal*. 2020;341(9):13–19 (In Russ.).
9. Frolov D. V., Kryukov E. V., Svetlitskaya M. V., Kostyuchenko O. M., Zaitsev A. A., Chernov S. A., Chernetsov V. A. Physical rehabilitation of patients with a new coronavirus infection COVID-19 in a military hospital using telecommunication technologies. *Physiotherapy, balneology and rehabilitation*. 2020;19(4):66–274. (In Russ.). doi:10.17816/1681-3456-2020-19-4-10.
10. Guan W. J., Ni Z. Y., Hu Y., Liang W. H., Ou C. O., He J. X., Liu L., Shan H., Lei C. L., Hui D. S. C., Du B. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(18):1708–1720. doi:10.1056/NEJMoa2002032.
11. Shutyeva E. Yu., Zaitseva T. V. The influence of sports on human life and health. *Scientific and methodological electronic journal «Concept»*. 2017;(4):1–4. (In Russ.).
12. Yanchenko, S. V., Minina V. A. The influence of professional and amateur sports on the human body. *Young scientist*. 2018;14(200):257–260. (In Russ.).
13. Belyaeva G. S., Pekin A. V., Danilov N. A., Erofeev A. I. Experimental model for assessing physical performance in small laboratory animals in the formation of positive motivation. *Applied problems of safety of technical and biotechnical systems*. 2015;(1):28–32. (In Russ.).
14. Ivanov, D. G., Alexander N. In., Afonkina E. A., Eroshkin P. V., Semenov A. N., Busygin D. V. Adaptive changes in rats by daily practice of physical activity in the method of «Running on a treadmill». *Biomedicine*. 2017;(2):4–22. (In Russ.).
15. Andreeva I. V., Vinogradov A. A. Prospects of using modern visualization methods in morphological and experimental studies. *Nauka molodykh*. 2015;(4):59–69 (In Russ.).
16. Andreeva I. V., Vinogradov A. A., Zhestkova T. M., Kalina, N. V. Simakov R. Yu., Simakova E. S., Grigoriev A. S., Svyatyvoda R. V. Modern possibilities of studying hemodynamics in experimental studies. *Far Eastern Medical Journal*. 2019;(2):54–58 (In Russ.). doi:10.35177/1994-5191-2019-1-54-58.
17. Lelyuk V. G., Lelyuk S. E. Ultrasound assessment of the peripheral venous system in normal conditions and in various pathologies: a teaching manual. M.; 2004. (In Russ.).
18. Lipatov V. A., Kryukov A. A., Severinov D. A., Saakyan A. R. Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research of the conduct. *I.P. Pavlov Russian medical biological herald*. 2019;27(1):80–92. doi:10.23888/PAVLOVJ201927180-92. (In Russ.).
19. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg. 1986:52.
20. Asplund C. A., O'Connor F. G., Noakes T.D. Exercise-associated collapse: an evidence-based review and primer for clinicians. *Br. J. Sports Med.* 2011;45(14):1157–1162. doi:10.1136/bjSports-2011-090378.

УДК: 159.9:616-018.1-092+616.441.63

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-4-23-28

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА

Зима Д. В., Макалиш Т. П., Непритимова Е. А., Зяблицкая Е. Ю.

Центральная научно-исследовательская лаборатория, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

**Для корреспонденции:** Зяблицкая Евгения Юрьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: evgu79@mail.ru

**For correspondence:** Evgeniia Yu. Ziablitskaia, MD, Leading Researcher at the Central Research Laboratory, Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: evgu79@mail.ru

### Information about authors:

Zima D. V., <http://orcid.org/0000-0003-4732-0311>

Makalish T. P., <http://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Nepritimova E. A., <http://orcid.org/0000-0001-8989-3615>

Zyablitskaya E. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

### РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты экспериментального исследования структурно-функциональных изменений щитовидной железы самцов и самок белых крыс при моделировании иммобилизационного стресса и ограничении питания с дефицитом йода. При помощи исследования лейкоцитарной формулы крови, морфологических методик, иммуноферментного анализа гормонов в сыворотке установлена чувствительность щитовидной железы к действию стрессовых факторов. Отмечена динамика уровня кортизола, кортикостерона, тироксина, трийодтиронина и тиреотропного гормона, подтверждающая максимальное напряжение щитовидной железы самок при адаптационных реакциях к стрессу. Структурные изменения при хроническом действии стрессовых факторов также зависят от пола животных. Монофакторный стресс задерживает дифференцировку ткани щитовидной железы крыс, изменяет индекс пролиферации тироцитов: на 7 сутки он растет у самок (от 2,4% до 11,3%) и не меняется у самцов, а к 21-м суткам снижается до 1,3-1,5%, что сопровождается прогрессивным ростом экспрессии маркера апоптоза. Комбинированный стресс вызывает неравномерную дифференцировку щитовидной железы: среди участков незрелой ткани образуются гипертрофические фолликулы, на фоне прогрессивного роста экспрессии маркера апоптоза; у самок объем железы увеличивается на 30,2%.

**Ключевые слова:** стресс, щитовидная железа, морфология, пролиферация, апоптоз.

### STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE THYROID GLAND OF WHITE RATS DURING STRESS MODELING

Zima D. V., Makalish T. P., Nepritimova E. A., Ziablitskaia E. Yu.

Institution «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

### SUMMARY

The article presents the results of an experimental study of structural and functional changes in the thyroid gland of male and female white rats during the simulation of immobilization stress and restriction of nutrition with iodine deficiency. With the help of a study of the leukocyte formula of blood, morphological techniques, and enzyme immunoassay of hormones in serum, the sensitivity of the thyroid gland to the action of stress factors was established. The dynamics of the level of cortisol, corticosterone, thyroxine, triiodothyronine, and thyrotropic hormones were noted, confirming the maximum tension of the thyroid gland of females during adaptive reactions to stress. Structural changes in the chronic action of stress factors also depend on the sex of the animals. Monofactor stress delays the differentiation of thyroid tissue in rats, and changes the thyrocyte proliferation index: on day 7 it grows in females (from 2,4% to 11,3%) and does not change in males, and by day 21 it decreases to 1,3-1,5%, which is accompanied by a progressive increase in the expression of the apoptosis marker. Combined stress causes uneven differentiation of the thyroid gland: hypertrophic follicles are formed among areas of immature tissue, against the background of a progressive increase in the expression of the apoptosis marker; in females, the volume of the gland increases by 30,2%.

**Key words:** stress, thyroid gland, morphology, proliferation, apoptosis.

Высокая прогрессирующая заболеваемость хирургической патологией щитовидной железы, существенная доля рака среди узлов образований, вероятность техногенных катастроф и

дестабилизация ядерной энергетической отрасли в мире в XXI веке потенцируют дальнейший прирост заболеваемости и делают актуальными исследования патогенеза хирургической пато-

логии щитовидной железы. По данным Global Cancer Statistics 2020 рак щитовидной железы находится на первом месте среди опухолей эндокринной системы и у молодых людей его доля составляет 8-12% среди всех злокачественных новообразований [1-5].

Понимание патогенеза развития болезни и знание маркеров ранних патологических изменений дает ключ к профилактической и лечебной тактике врача, оценке риска возникновения патологии и ее прогрессии [6; 7]. Изучению роли стресса в возникновении тиреоидной патологии посвящено много работ, демонстрирующих комбинированное и изолированное действие стрессоров [8]. Показаны изменения структуры щитовидной железы при стрессе, имеющие тяжелые последствия, включая развитие аутоиммунного тиреоидита и рака. Иммуноморфологические исследования показывают неоднозначную связь структурных преобразований щитовидной железы при различных формах рака с динамикой пролиферации и апоптоза тироцитов [9]. Многие факторы патогенеза рака щитовидной железы вызывают оксидативный стресс, который инициирует повреждения ДНК, онкотрансформацию тироцитов и поддерживает онкогенез [10]. Однако нет систематизированных данных, обобщающих роль стресса в инициации заболеваний щитовидной железы. Изменения ее структуры и функции при разных видах стресса мало детализированы в зависимости от пола и возраста, динамики клеточных популяций.

Целью нашего исследования являлась оценка структурно-функциональных изменений щитовидной железы белых крыс при моделировании стресса.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 100 белых крысах линии Wistar, в работу взяли поровну самцов и самок в возрасте ранней половой зрелости с массой тела 150-160 г.

Крыс контрольной группы подвергали хендлингу во время ухода и взвешивания.

Для моделирования алиментарного стресса крыс на протяжении трех недель кормили прокаленным зерном и поили дистиллированной водой с добавлением 2 мг/л NaBr, не давая другого корма и воды. Таким образом, животные получали бедный по составу однообразный рацион и воду, бедную йодом и обогащенную его антагонистом бромом. Такой состав воды характерен для грунтовых вод западных районов и открытых источников пресной воды степной части Крыма, где концентрация брома превышает предельно допустимую (0,2 мг/дм<sup>3</sup>).

Гипокинетический стресс моделировали, помещая животных ежедневно на 20 часов в фиксаторы (animal restrainers) AE1001-R1 (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). Данную модель можно назвать и иммобилизационным стрессом.

Комбинированный стресс – это продолжение эксперимента с алиментарным стрессом, когда животных, выдержавших три недели ограничения питания, подвергали фиксации в рестрейнерах при тех же условиях, что и крыс группы с гипокинезией, не меняя рацион и состав воды.

Длительность острого стресса составила 7 суток, хронического – 21 сутки. На каждом этапе исследовали 10 животных – по 5 самок и 5 самцов. У крыс в динамике (1, 7, 14, 21 день) субингвально брали кровь для гематологического исследования и определения уровня гормонов методом иммуноферментного анализа (ИФА). Использовали анализатор Mythic 18 (“Orphee”, Швейцария). На основании критериев Гаркави-Квакиной формула крови подтверждает стадию стресса. Коэффициент л/нс (соотношение лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов) показывает стресс-реакцию (<1), реакцию тренировки (1-2) и активации (2-4).

Для ИФА использовали анализатор Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США), наборы для определения кортизола «Кортизол-ИФА» K210; «Кортикостерон-ИФА» K210R, свободного и общего тироксина «СвТ4-ИФА», «Т4-ИФА», тиреотропного гормона ТТГ «ТТГ-ИФА», производитель ООО «Хема» (Россия).

Для морфологического исследования крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом. Для гистологии использовано оборудование Leica (Германия, Австрия) и Millestone (Италия) – для преаналитического (вырезная станция, гистопроцессор LOGOS, микротом Leica RM 2255) и аналитического этапов работы (иммуногистостейнер BondMax, Микроскоп MD 2000 с цифровой камерой, сканер Aperio CS2 Leica), использованы расходные материалы Бивитрум (Россия), Leica (Германия). На парафиновых срезах толщиной 4 мкм проводили морфометрические исследования в программе ImageJ.

Динамика клеточной кинетики определена уровнем экспрессии маркера пролиферации Ki-67 (MM1, Novocastra, Великобритания), мембранного маркера готовности клетки к апоптозу FAS-R (ab 82419, Abcam, США, разведение 1:200). Оценку экспрессии ядерного маркера Ki-67 проводили методом подсчет всех иммунопозитивных клеток при увеличении 400x в 10 полях зрения. Оценку маркера FAS-R с мембранной и цитоплазматической локализацией проводили полуколичественным методом.

При анализе количественных показателей использовали «MS Office – Excel», «STATISTICA – 10.0», параметрические и непараметрические методы. Определяли форму и меру связи методом Спирмена. Внутригрупповые различия оценивали с помощью критерия Вилкоксона, между группами – Манна-Уитни. Исследования на крысах выполнены с соблюдением биоэтических международных и отечественных требований обращения с лабораторными животными.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели крови крыс при гипокинетическом и комбинированном стрессе лабильны, снижение индекса стресса (от 5,5 до 1,1-1,3 единиц) начинается со 2 недели и отражает успешность модели стрессирования животных (табл. 1). На 2-3 неделях показатели достигают значения реакции тренировки и стресс-реакции, изменяется уровень гормонов в крови. Алиментарный стресс не меняет изученные показатели, а эффект 21-дневного воздействия алиментарного стресса отражен в столбце «1 сутки комбинированного стресса». У интактных животных уровень тироксина зависит от пола, у самцов он ниже на 54,0% (табл. 2). При гипокинетиче-

ском стрессе у самцов и самок снижается уровень кортизола и повышается уровень кортикостерона. У самок выявлена тенденция к росту тиреотропного гормона, при этом у самцов его уровень снижается в 2,0-6,0 раз ( $p < 0,05$ ), при этом уровень тироксина сохраняется в пределах контрольных цифр (5,6-12,5 нмоль/л).

В период 3-4 месяцев у крыс происходит дозревание ткани щитовидной железы. Стресс меняет структуру щитовидной железы крыс. На органном уровне у самок на 21 сутки комбинированного стресса выявлено увеличение объема щитовидной железы от  $39,6 \pm 3,8$  мм<sup>3</sup> до  $56,7 \pm 4,0$  мм<sup>3</sup> ( $p \leq 0,05$ ). Действие стресса на тканевом уровне проявлено у всех групп животных с 7-14 суток, с максимумом к 21 дню. При алиментарном стрессе органы 110-суточных крыс, выглядят как железы 90-суточных контрольных животных, у самцов задержка дифференцировки ткани щитовидной железы на фоне ограничения питания более выражена. Монофакторное воздействие вызывает задержку дифференцировки ткани, а комбинированный стресс меняет структуру щитовидной железы: вызывает неравномерную пролиферацию, образование фолликулов причудливой формы с изменением высоты тироцитов.

Таблица 1

Индекс Гаркави-Квакиной у крыс под действием стресса

Группа	Исследуемая группа, длительность эксперимента							
	гипокинетический стресс				комбинированный стресс			
	1 сутки	7 сутки	14 день	21 день	1 сутки	7 сутки	14 день	21 день
самцы	5,5±0,3	7,0±2,9*	2,9±0,5	2,9±1,2*	3,3±0,6	3,1±0,3●	2,9±0,9	1,3±0,1*
самки	5,5±0,6▲	9,4±2,2*	3,8±0,5	2,1±0,2*	4,8±0,3*	4,4±0,3▲	2,2±0,2*●	1,1±0,2*●

**Примечания:** достоверность при  $p \leq 0,05$ : \* - по отношению к 1 суткам; ● – к группе с изолированным стрессом; ▲ - к группе крыс противоположного пола.

Индекс пролиферации тироцитов имеет в целом отрицательную динамику, за исключением раннего периода гипокинетического стресса у самок, когда он на 7 сутки возрастает (от 2,4% до 11,3, при  $p \leq 0,05$ ), но в дальнейшем происходит его снижение до 1,3-1,5% при прогрессивном росте экспрессии FAS-R в изолированной и комбинированной модели стресса. Большинство параметров при алиментарном стрессе не меняются, в отличие от иммобилизационного. Изменение показателей индекса Ki-67 и FAS-R у экспериментальных животных указывает на роль стресса в развитии нарушения клеточной кинетики щитовидной железы, показывает механизм трансформации тироцитов преимущественно не за счет увеличения пролиферативной активности, свойственной другим видам эпителиальной ткани, а за счет ухода клетки от

программируемой гибели путем внешней активации апоптоза и от надзора клеточного звена иммунной системы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммобилизационный стресс вызывает у крыс реакцию повышенной активации на 14-21 сутки, сопровождающуюся снижением уровня кортизола в крови в 1,7-5,7 раз ( $p < 0,05$ ) и ростом кортикостерона. Комбинированный стресс к 21 дню вызывает стресс-реакцию со снижением уровня кортизола и ростом кортикостерона, сохранением выработки тироксина на уровне контрольных цифр (5,6-12,5 нмоль/л), при этом у самцов уровень тиреотропного гормона снижается в 2,0-6,0 раз ( $p < 0,05$ ), а у самок имеет тенденцию к росту. Монофакторный стресс задерживает дифференцировку ткани щитовидной железы крыс,

Таблица 2

## Динамика уровня гормонов в сыворотке крови крыс под действием стресса

Показатели (нг/мл)	Исследуемая группа, длительность эксперимента							
	изолированный стресс				комбинированный стресс			
	1 сутки (конт- роль фон)	7 суток (острый стресс)	14 день (подострый стресс)	21 день (хрони- ческий стресс)	1 сутки (3 недели алимент. стресса)	7 суток (острый стресс)	14 день (подострый стресс)	21 день (хрони- ческий стресс)
самцы♂								
Кортизол	32,5± 7,4	5,7± 2,9*	10,0± 2,8*	10,9± 2,5*	38,7± 7,5	25,5± 4,2●	9,7± 2,4*	25,7± 4,1●
Кортико- стерон	213,0± 6,6	441,6± 22,1*	496,0± 35,3*	613,4± 6,1*▲	239,4± 20,6	473,6± 10,2*	570± 9,3*▲	622,8± 7,1*▲
ТТГ	2,2± 0,5	2,1± 0,4	3,0± 0,6	2,8± 0,7	1,1± 0,2●	1,9± 0,6	0,5± 0,1●	1,2± 0,3
T <sub>4</sub> сво- бодный	5,1± 1,5	7,4± 1,1	11,1± 0,9	7,0± 2,1	7,5± 0,9	5,6± 1,2	12,5± 1,8*	10,0± 2,8
T <sub>4</sub> общий	120,0± 7,6	110,12± 7,4	105,4± 8,2	100,4± 7,6	119,4± 5,9	109,9± 7,1	101,9± 5,3	99,3± 4,4
самки♀								
Кортизол	33,1± 3,4	5,8± 3,0*	19,3± 3,8*	18,0± 2,4*	24,8± 1,2▲●	11,1± 3,5▲*	13,5± 2,7*	23,3± 1,4
Кортико- стерон	206,0± 7,15	438,6± 16,7*	472,4± 29,1*	530± 29,5*	208± 6,7	463,3± 8,1*	502± 25,8*	576,2± 10,6*
ТТГ	1,2± 0,3	1,4± 0,3	3,6± 1,4	0,76± 0,1▲	2,7± 1,3	0,9± 0,2	1,5± 0,4	2,2± 0,6
T <sub>4</sub> сво- бодный	11,0± 0,8▲	11,0± 1,5	11,0± 1,6	11,0± 0,7	7,5± 1,3	9,4± 1,0	11,9± 0,8*	9,4± 2,3
T <sub>4</sub> общий	116,7± 9,8	105,1± 7,8	98,2± 5,7	90,1± 5,26	123,4± 9,1	115,9± 6,2	108,2± 6,1	103,1± 7,8

**Примечания:** достоверность при  $p \leq 0,05$ : \* - по отношению к 1 суткам; ● – к группе с изолированным стрессом; ▲ - к группе крыс противоположного пола.

изменяет индекс пролиферации тироцитов: на 7 сутки он растет у самок (от 2,4% до 11,3%,  $p \leq 0,05$ ) и не меняется у самцов, а к 21-м суткам снижается до 1,3-1,5%, что сопровождается прогрессивным ростом экспрессии маркера апоптоза. Комбинированный стресс вызывает неравномерную дифференцировку щитовидной железы: среди участков незрелой ткани образуются гипертрофические фолликулы, на фоне прогрессивного роста экспрессии рецепторов апоптоза; у самок объем железы увеличивается на 30,2% ( $p \leq 0,05$ ). На наш взгляд это пример зоообразования у животных под действием стресса. Данные результаты актуальны для проверки гипотезы изменения исследуемых маркеров в клинике при пролиферативных и аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания № FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

**Funding.** This work was financially supported by state task No FZEG-2020-0060 of the Russian Ministry of Science in the field of scientific research on the topic «Algorithms for molecular-genetic diagnosis of malignant neoplasms and approaches

to their targeted therapy using cellular and genetic technologies».

### ЛИТЕРАТУРА

1. Bray F., Laversanne M., Weiderpass E., Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*. 2021;127(16):3029–3030. doi: 10.1002/cncr.33587

2. World Health Organization (WHO). Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2019. – WHO, 2020. Accessed December 11, 2020. – who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-l.

3. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71:209–249. doi:10.3322/caac.21660

4. Безруков О. Ф. Узловой зоб в крымском регионе: этиологические проблемы и перспективы диагностики. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2011;3–4:171–178.

5. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Москва: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. – 252 с.

6. Глушаков Р. И., Козырко Е. В., Соболев И. В., Ермолова С. А., Власьева О. В., Кузин А. А., Тапильская Н. И. Заболевания щитовидной железы и риск возникновения нетиреоидной патологии. *Казанский медицинский журнал*. 2017;98(1):77–84. doi:10.17750/KMJ2017-7

7. Ромашенко П. Н., Майстренко Н. А., Криволапов Д. С., Симонова М. С. Инновационные технологии в диагностике и безопасном хирургическом лечении заболеваний щитовидной железы. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2022;24(1):9–15. doi: 10.17816/brmma73249

8. Asif F. Noor-Ul-Amin M., Ahmad M. R. Identification of the risk factors of the thyroid cancer by using logit model in Lahore. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*. 2018;31(6):2391–2396. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.15.6243

9. Cruz A. C., Ramaswamy M., Ouyang C., Klebanoff C.A., Sengupta P., Yamamoto T.N., Meylan F., Thomas S. K., Richoz N., Eil R., Price S., Casellas R., Rao V. K., Lippincott-Schwartz J., Restifo N. P., Siegel R. M. Fas/CD95 prevents autoimmunity independently of lipid raft localization and efficient apoptosis induction.

*Nat Commun*. 2016;23;7:13895. doi: 10.1038/ncomms13895.

10. Liu H., Hou C., Zeng Q., Zhao L., Cui Y., Yu L., Wang L., Zhao Y., Nie J., Zhang B., Wang A. Role of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in rat thyroid toxicity caused by excess fluoride and/or iodide. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2016;46: doi: 10.1016/j.etap.2016.08.007277–285.

### REFERENCES

1. Bray F., Laversanne M., Weiderpass E., Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*. 2021;127(16):3029–3030. doi: 10.1002/cncr.33587

2. World Health Organization (WHO). Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2019. – WHO, 2020. Accessed December 11, 2020. – who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-l.

3. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71:209–249. doi:10.3322/caac.21660

4. Bezrukov O. F. Nodular goiter in the Crimean region: etiological problems and diagnostic prospects. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2011;3–4:171–178. (In Russ.).

5. Kaprin A. D., Starinsky V. V., Shakhzadova A. O. Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality). Moscow: MNIOI im. P. A. Herzen - branch of the Federal State Budgetary Institution «NMITs Radiology» of the Ministry of Health of Russia, 2021. – 252 с. (In Russ.).

6. Glushakov R. I., Kozyrko E. V., Sobolev I. V., Ermolova S. A., Vlaseva O. V., Kuzin A. A., Tapilskaya N. I. Thyroid diseases and risk of non-thyroidal pathology. *Kazan medical journal*. 2017;98(1):77–84. (In Russ.). doi:10.17750/KMJ2017-7

7. Romashchenko P. N., Maystrenko N. A., Krivolapov D. S., Simonova M. S. Innovative technologies in the diagnosis and safe surgical treatment of thyroid diseases. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2022;24(1):9–15. (In Russ.). doi: 10.17816/brmma73249

8. Asif F. Noor-Ul-Amin M., Ahmad M. R. Identification of the risk factors of the thyroid cancer by using logit model in Lahore. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*. 2018;31(6):2391–2396. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.15.6243

9. Cruz A. C., Ramaswamy M., Ouyang C., Klebanoff C.A., Sengupta P., Yamamoto T.N.,

- Meylan F., Thomas S. K., Richoz N., Eil R., Price S., Casellas R., Rao V. K., Lippincott-Schwartz J., Restifo N. P., Siegel R. M. Fas/CD95 prevents autoimmunity independently of lipid raft localization and efficient apoptosis induction. *Nat Commun.* 2016;23;7:13895. doi: 10.1038/ncomms13895.
10. Liu H., Hou C., Zeng Q., Zhao L., Cui Y., Yu L., Wang L., Zhao Y., Nie J., Zhang B., Wang A. Role of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in rat thyroid toxicity caused by excess fluoride and/or iodide. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2016;46: doi: 10.1016/j.etap.2016.08.007277–285.

УДК: 616.314.18-002:577:001.89:615.012.8

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-4-29-36

## КЛИНИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА: РАНДОМИЗИРОВАННОЕ КОНТРОЛИРУЕМОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Зуб А. А.<sup>1,2</sup>, Гайворонская Т. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. им. Митрофана Седина, д. 4, Краснодар, 350063, Россия

<sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Стоматологическая поликлиника № 3» Министерства здравоохранения Краснодарского края, ул. Тургенева, д. 203, г. Краснодар, 350078, Россия

Для корреспонденции: Зуб Анна Андреевна, аспирант кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: anna.zub\_1994@mail.ru

For correspondence: Zub Anna Andreevna, postgraduate student, chair of dental and maxillofacial surgery, Kuban State Medical University, e-mail: anna.zub\_1994@mail.ru

### Information about author:

Zub A. A., <https://orcid.org/0000-0002-3543-3733>

Gayvoronskaya T. V., <https://orcid.org/0000-0002-8509-2156>

### РЕЗЮМЕ

Проведен анализ результатов лечения 50 пациентов с диагнозом хронический генерализованный пародонтит. Контрольную группу составили 20 людей со здоровым пародонтом. Эффективность терапевтического лечения оценивалась с помощью основных клинических параметров (индексы ОНI-S и SBI, глубина пародонтального кармана при зондировании и потеря прикрепления) и оценки концентрации биохимических показателей (каталаза, супероксиддисмутаза, общая антиоксидантная активность и малоновый диальдегид) в десневой жидкости до и после лечения. Пациенты с диагнозом хронический генерализованный пародонтит были разделены на 2 группы: основную и сравнения. Группа сравнения (25 человек) получала базовую терапию и традиционное консервативное лечение. В основной группе (25 человек) применяли базовую терапию и традиционное консервативное лечение с дополнительным включением препарата «Хлорофиллипт». В контрольной группе (20 человек) проводилась базовая терапия. Обе группы ХГП до лечения не имели существенных различий в отношении индексов ОНI-S, SBI, глубины пародонтальных карманов и потери прикрепления, но статистически значимо отличались от значений контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Через 14 дней лечения наблюдалась положительная динамика всех клинических параметров в обеих группах ХГП, однако в основной группе, где применялся «Хлорофиллипт», индекс кровоточивости десен SBI был в 1,75 раза ниже, чем в группе сравнения ( $p=0,006$ ). В этот же временной промежуток наблюдалась выраженная положительная динамика в изменении уровня всех исследуемых биохимических показателей в обеих группах ХГП: уровень каталазы повысился на 88% в основной группе и на 23% в группе сравнения, уровень супероксиддисмутазы повысился на 37% в основной группе и на 24% в группе сравнения, уровень общей антиоксидантной активности повысился на 111% и 112% соответственно, а уровень малонового диальдегида снизился на 20% в основной группе и на 17% в группе сравнения. Разница в уровнях всех биохимических показателей между основной группой и группой сравнения не была статистически значимой. Через 6 месяцев наблюдения при межгрупповом сравнении групп ХГП было выявлено, что уровень каталазы и супероксиддисмутазы в основной группе был выше в 1,4 и в 1,3 раза ( $p=0,012$  и  $p < 0,001$ ), а уровень малонового диальдегида был ниже в 3,6 раз ( $p=0,009$ ), чем в группе сравнения, что является статистически значимым. Корреляционный анализ показал, что значимая положительная корреляция наблюдалась между каталазой и индексом SBI ( $Rho=0,279$ ;  $p=0,05$ ), каталазой и потерей прикрепления ( $Rho=0,326$ ;  $p=0,021$ ), супероксиддисмутазой и потерей прикрепления ( $Rho=0,327$ ;  $p=0,021$ ), малоновым диальдегидом и индексом SBI ( $Rho=0,338$ ;  $p=0,016$ ). Установленная по результатам настоящего исследования нормализация клинических и биохимических показателей свидетельствует о эффективности препарата «Хлорофиллипт» и позволяет рекомендовать его в качестве дополнения к традиционному терапевтическому лечению хронического пародонтита. Результаты определения уровня каталазы, супероксиддисмутазы, общей антиоксидантной активности и малонового диальдегида у пациентов с хроническим пародонтитом могут быть потенциально полезны для раннего выявления лиц, находящихся в «группе риска» развития хронического пародонтита, контроля активности заболевания и регистрации ответа на лечебные мероприятия.

**Ключевые слова:** хронический пародонтит, хлорофиллипт, каталаза, супероксиддисмутаза, общая антиоксидантная активность, малоновый диальдегид, десневая жидкость.

**CLINICAL AND BIOCHEMICAL EVALUATION OF THE EFFICACY OF EUCALYPTUS LEAF PREPARATION IN THE TREATMENT OF CHRONIC PERIODONTITIS: A RANDOMIZED CONTROLLED EXPERIMENTAL STUDY**Zub A. A.<sup>1,2</sup>, Gayvoronskaya T. V.<sup>1</sup><sup>1</sup>Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia<sup>2</sup>Regional Dental Clinic No. 3, Krasnodar, Russia**SUMMARY**

The results of treatment of 50 patients diagnosed with chronic generalized periodontitis (CGP) were analyzed. The control group consisted of 20 periodontologically healthy individuals. The efficacy of the therapeutic treatment was evaluated using basic clinical parameters (OHI-S and SBI indices, periodontal pocket roughness at probing and attachment loss) and assessment of the concentration of biochemical parameters (catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant activity (TAA) and malondialdehyde (MDA)) in the gingival crevicular fluid before and after treatment. Patients diagnosed with chronic generalized periodontitis were divided into 2 groups: a main group and a comparison group. The comparison group (25 people) received basic therapy and traditional conservative treatment. The main group (25 people) used basic therapy and traditional conservative treatment with the additional inclusion of «Chlorophyllipt» drug. In the control group (20 people) treatment was limited to basic therapy only. Both CGP groups had no significant differences before treatment with respect to OHI-S indices, SBI, periodontal pocket depth and attachment loss, but were statistically significantly different from the control group values ( $p < 0.001$ ). After 14 days of treatment, positive dynamics of all clinical parameters was observed in both groups of CGP, but in the main group where «Chlorophyllipt» was used, the gingival bleeding index SBI was 1.75 times lower than in the comparison group ( $p = 0.006$ ). In the same time interval was observed pronounced positive dynamics in changing the levels of all studied biochemical parameters in both groups of CGP: the level of CAT increased by 88% in the main group and by 23% in the comparison group, the level of SOD increased by 37% in the main group and by 24% in the comparison group, the level of TAA increased by 111% and 112% respectively, and the MDA level decreased by 20% in the main group and by 17% in the comparison group. The difference in the levels of all biochemical parameters between the main group and the comparison group was not statistically significant. After 6 months of observation, an intergroup comparison of CGP groups revealed that CAT and SOD levels were 1.4 and 1.3 times higher in the study group ( $p = 0.012$  and  $p < 0.001$ ), while MDA levels were 3.6 times lower ( $p = 0.009$ ) than in the comparison group, which is statistically significant. Correlation analysis showed that a significant positive correlation was observed between CAT and SBI index ( $Rho = 0.279$ ;  $p = 0.05$ ), CAT and attachment loss ( $Rho = 0.326$ ;  $p = 0.021$ ), SOD and attachment loss ( $Rho = 0.327$ ;  $p = 0.021$ ), MDA and SBI index ( $Rho = 0.338$ ;  $p = 0.016$ ). The normalization of clinical and biochemical parameters established by the results of the present study testifies to the effectiveness of «Chlorophyllipt» and makes it possible to recommend it as a supplement to the traditional therapeutic treatment of chronic periodontitis. The results of determining the level of catalase, superoxide dismutase, total antioxidant activity and malondialdehyde in patients with chronic periodontitis may be potentially useful for early detection of persons in the «risk group» of chronic periodontitis development, monitoring the disease activity and recording the response to treatment measures.

**Key words:** chronic periodontitis, chlorophyllipt, catalase, superoxide dismutase, total antioxidant activity, malondialdehyde, gingival fluid.

Хронический пародонтит является важной проблемой общественного здравоохранения всего мира, так как поражает около 50% взрослого населения и является шестым по распространенности заболеванием человека [1; 2]. Инициация воспалительного процесса в тканях пародонта связана с воздействием биопленки зубного налета, в результате чего происходит чрезмерный иммунный ответ, что впоследствии приводит к потере прикрепления пародонта к поверхности корня и прилегающей альвеолярной кости [3]. В патогенезе пародонтита полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ) выступают в качестве первичных медиаторов реакции организма против пролиферирующих патогенных микроорганизмов пародонта. Активированные ПЯЛ продуцируют большое количество активных форм кислорода (АФК), что приводит не только к уничтожению пародонтопатогенов, но и к перекисному окислению липидов и вызывает глубокие изменения в структурной целостности и функции клеточ-

ных мембран клеток собственного организма [4]. При нормальном физиологическом состоянии организма существует динамическое равновесие между активностью АФК и способностью к антиоксидантной защите, и когда это равновесие смещается в пользу АФК, что может быть за счет снижения антиоксидантной защиты, либо увеличения продукции или активности АФК, это приводит к окислительному стрессу. Усиление окислительного стресса в клетках приводит к активации ферментов, поглощающих свободные радикалы, чтобы нейтрализовать токсическое действие АФК. Супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ) защищают клетку путем уничтожения супероксидных радикалов и перекиси водорода, которые вызывают повреждение структуры и функции мембран [5]. Опосредованное АФК разрушение тканей может быть измерено конечным продуктом перекисного окисления липидов (ПОЛ), таким как малоновый диальдегид (МДА) [6]. Тем не менее, измерение отдельных

антиоксидантов может дать неверную картину, поскольку антиоксиданты работают согласованно посредством цепных реакций, поэтому актуальность приобретает дополнительная оценка общей антиоксидантной активности (ОАА) [7].

Цель настоящего исследования – оценить эффективность применения препарата «Хлорофиллипт» при лечении хронического генерализованного пародонтита с помощью изучения динамики концентрации КАТ, СОД, МДА и ОАА в десневой жидкости.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Рандомизированное контролируемое исследование проводилось на базе отделения терапевтической стоматологии №2 ГБУЗ СП №3 г. Краснодара в период с декабря 2019 по декабрь 2021 года. Протокол клинического исследования был рассмотрен и получил одобрение Независимого этического комитета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, Россия), протокол №81 от 11.10.2019 г. Все испытуемые поняли суть исследования и дали письменное информированное согласие.

В исследовании приняли участие 20 человек с клинически здоровым пародонтом (группа контроля) и 50 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) средней степени.

Критерии включения в исследование для группы контроля были следующими: возраст от 18 до 45 лет; отсутствие соматических патологий; наличие в полости рта не менее 20 зубов; отсутствие пародонтальных карманов глубиной > 3 мм при зондировании. Критериями включения в исследование для пациентов с хроническим пародонтитом средней степени являлись: возраст от 35 до 60 лет; наличие в полости рта не менее 20 зубов; наличие пяти подходящих участков в двух квадрантах с минимум двумя пораженными зубами в каждом квадранте, причем каждый участок имеет глубину зондирования  $\geq 5$  мм, потерю прикрепления  $\geq 3$  мм и пародонтальный индекс кровоточивости десневой борозды  $\geq 2$ .

Критериями исключения пациентов из исследования были: наличие соматических заболеваний в стадии декомпенсации; беременность и кормление грудью; психические заболевания; отягощенный аллергологический анамнез.

Все группы были сопоставимы по полу, возрасту, анамнестическим данным, первичному стоматологическому статусу, наличию соматических заболеваний в стадии компенсации.

Базовая терапия включала проведение процедуры «scaling and root planning» (SRP), а также индивидуальное обучение гигиене рта с последующим контролем. Для рациональной гигиены все пациенты использовали зубную пасту «Parodontax Комплексная защита». Традиционное консервативное лечение заключалось в обработке полости рта 0,05% раствором Хлоргексидина 2 раза в сутки и аппликаций на десну геля «Метрогил-Дента». Пациенты с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени были разделены на 2 группы: основную и сравнения. Группа сравнения (25 человек) получала базовую терапию и традиционное консервативное лечение. В основной группе (25 человек) применяли базовую терапию и традиционное консервативное лечение с дополнительным включением препарата «Хлорофиллипт». Препарат «Хлорофиллипт» применяли в виде аппликаций на слизистую десны 2 раза в день (утром и вечером) по 15-20 минут в течение 14 дней.

Эффективность лечения оценивали на основании результатов клинических и биохимических методов исследования.

Оценка состояния тканей пародонта проходила по стандартному протоколу и включала определение глубины пародонтальных карманов при зондировании с использованием пародонтального зонда PCP-UNC 15 (Hu-Friedy) в области каждого зуба, измерение потери клинического прикрепления, определение упрощенного индекса гигиены полости рта - OHI-S (Green, Vermillion, 1964) и пародонтального индекса кровоточивости десневой борозды - SBI (Muhlemann-Cowell, 1975).

Образцы десневой жидкости были получены из мезиально-щечного участка каждого имеющегося зуба (за исключением третьих моляров) в двух случайно выбранных контралатеральных квадрантах. После удаления мягких и твердых зубных отложений и изоляции участка ватными валиками, высушивали область струей воздуха и отбирали десневую жидкость в течение 30 секунд с помощью трёх бумажных эндодонтических штифтов 45 размера путем погружения кончика штифта в пародонтальный карман на максимальную глубину. Затем образцы немедленно помещали в пробирки Эппендорфа, содержащие 1 мл физиологического раствора, и транспортировали в лабораторию, где хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . Образцы, явно загрязненные кровью, были исключены из исследования.

Биохимическое исследование десневой жидкости проводилось непосредственно до лечения, через 14 дней лечения и 6 месяцев после лече-

ния и включало количественное определение каталазы, супероксиддисмутазы, общей антиоксидантной активности и малонового диальдегида.

Для проведения статистического анализа использовалось компьютерное программное обеспечение (SPSS версии 15, SPSS, Чикаго, Иллинойс, США). После проверки данных с помощью критерия Shapiro-Wilk на нормальность распределения выборки использовался критерий Kruskal-Wallis (One-Way ANOVA) для обнаружения разницы между уровнями исследуемых показателей в независимых группах. Внутригрупповое сравнение проводилось с помощью рангового теста Wilcoxon. При корреляционном анализе применяли коэффициент корреляции Spearman. Уровень статистической значимости был установлен на уровне  $\alpha = 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлена динамика изменения клинических показателей до и после лечения во всех клинических группах. Обе группы ХГП до лечения не имели существенных разли-

чий в отношении индексов ОНІ-S, SBI, глубины пародонтальных карманов и потери прикрепления, но статистически значимо отличались от значений контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Через 14 дней лечения наблюдалась положительная динамика всех клинических параметров в обеих группах ХГП, однако в основной группе, где применялся «Хлорофиллипт», индекс кровоточивости десен SBI был в 1,75 раза ниже, чем в группе сравнения ( $p=0,006$ ). При осмотре, проведенном через 6 месяцев наблюдения, отмечалось умеренное повышение значений индексов ОНІ-S и SBI, глубины пародонтальных карманов и потери прикрепления, при этом статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения обнаружено не было.

Изменение концентрации биохимических показателей в десневой жидкости клинических групп до и после лечения представлено в таблице 2. В группах пациентов с ХГП до лечения отмечалось снижение уровня каталазы в 2,9 раз, супероксиддисмутазы в 2 раза, общей антиоксидантной активности в 2,9 раз на фоне повы-

Таблица 1

Динамика клинических параметров до и после лечения, [Ме (Q25; Q75)]

Группа Время Показатель	Основная группа			Группа сравнения			Контроль До лечения
	До лечения	14 суток	6 мес	До лечения	14 суток	6 мес	
Упрощенный индекс гигиены полости рта (ОНІ-S), баллы	2,15 (1,88; 2,54) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,88$	0,89 (0,55; 1,23) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,25$ $p_2 = 0,92$	1,80 (1,46; 1,94) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,51$	2,22 (1,82; 2,54) $p_1 < 0,001$	0,90 (0,6; 1,38) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,13$	1,98 (1,65; 2,21) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$	1,89 (0,89; 1,77)
Индекс кровоточивости десен (SBI), баллы	2,17 (1,83; 2,50) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,69$	0,67 (0,50; 0,83) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,18$ $p_2 = 0,006^*$	1,67 (1,50; 1,83) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,88$	2,17 (1,50; 2,33) $p_1 < 0,001$	1,17 (0,83; 1,33) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001$	1,83 (1,50; 2,17) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$	1,17 (0,63; 1,58)
Глубина зондирования кармана (PD), мм	4,5 (4,0; 5,5) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,906$	4,0 (3,0; 4,0) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,394$	3,5 (3,5; 4,0) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,533$	4,5 (4,0; 5,5) $p_1 < 0,001$	4,0 (3,5; 4,5) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$	4,0 (3,5; 4,0) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$	1,0 (0,88; 1,63)
Потеря прикрепления (CAL), мм	5 (4; 5) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,864$	4 (4; 5) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,830$	3 (4; 4) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,104$	5 (5; 5) $p_1 < 0,001^*$	5 (4; 5) $p = 0,002^*$ $p_1 < 0,001^*$	4 (4; 4) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$	1 (1; 1)

**Примечание:**  $p$  — достоверность результатов по отношению к данным до лечения;  $p_1$  — достоверность результатов по отношению к данным контрольной группы;  $p_2$  — достоверность результатов по отношению к данным группы сравнения; \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$ .

шения уровня малонового диальдегида в 4,3 раза по сравнению с контрольной группой. Через 14 дней лечения наблюдалась выраженная положительная динамика в изменении уровня всех исследуемых биохимических показателей в обеих группах ХГП. Так, отмечено повышение уровня каталазы на 88% в основной группе и на 23% в группе сравнения, уровня супероксиддисмутазы на 37% в основной группе и на 24% в группе сравнения, уровня общей антиоксидантной активности на 111% и 112% соответственно, а уровень малонового диальдегида снизился на 20% в основной группе и на 17% в группе сравнения. Тем не менее, уровни всех показателей не достигали нормальных значений контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Разница в уровнях всех биохимических показателей между основной группой и группой сравнения не была статистически значимой.

Через 6 месяцев наблюдения в основной группе отмечалось повышение концентрации каталазы на 138%, супероксиддисмутазы на 104%, общей антиоксидантной активности на 143% и снижение концентрации малонового диальдегида на 80% по сравнению с данными значениями до лечения. Вместе с тем, уровни всех биохимических показателей в основной группе не отметили статистически значимой разницы с данными группы контроля, что свидетельствует о нормализации показателей антиоксидантной защиты в тканях пародонта. В группе сравнения в данный период наблюдения отмечено повышение уровня каталазы на 65%, супероксиддисмутазы на 51%, общей антиоксидантной активности на 132% и снижение уровня малонового диальдегида на 39% по сравнению со значениями до лечения, при этом только уровень супероксиддисмутазы существенно не отличался от данных контрольной группы ( $p=0,089$ ). При межгрупповом сравнении биохимических показателей групп ХГП с данными группы сравнения в этот же временной промежуток наблюдения было выявлено, что уровень каталазы и супероксиддисмутазы в основной группе был выше в 1,4 и в 1,3 раза ( $p=0,012$  и  $p<0,001$ ) соответственно, на фоне снижения уровня малонового диальдегида в 3,6 раз ( $p=0,009$ ), чем в группе сравнения, что является статистически значимым.

Результаты корреляционного анализа между клиническими и биохимическими показателями десневой жидкости пациентов с ХГП до лечения представлены в таблице 3. Значимая положительная корреляция наблюдалась между каталазой и индексом SBI ( $Rho=0,279$ ;  $p=0,05$ ), каталазой и потерей прикрепления ( $Rho=0,326$ ;  $p=0,021$ ), супероксиддисмутазой и потерей прикрепления ( $Rho=0,327$ ;  $p=0,021$ ), малоно-

вым диальдегидом и индексом SBI ( $Rho=0,338$ ;  $p=0,016$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов настоящего исследования показал, что изменение уровней биохимических показателей имело положительную динамику на всех временных промежутках наблюдения в обеих группах хронического пародонтита. Однако лечение больных основной группы традиционной терапией с включением в неё препарата «Хлорофиллипт» характеризовалось нормализацией всех показателей антиоксидантной защиты и снижением концентрации конечных продуктов перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид) в десневой жидкости, тогда как группа, в которой применялась только традиционная терапия, показала нормализацию уровня только супероксиддисмутазы через 6 месяцев наблюдения. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности включения препарата «Хлорофиллипт» в традиционную схему лечения хронического пародонтита.

В нескольких исследованиях сообщалось о снижении показателей антиоксидантной способности у пациентов с хроническим пародонтитом как в слюне, так и в десневой жидкости. Так А. Guentsch et al. (2008) [8] определяли динамику уровня ОАА в слюне в ответ на нехирургическое лечение ХГП, где уровень ОАА остался неизменным, что противоречит нашим выводам. В исследовании N. Novakovic et al. (2014) [9] консервативное лечение привело к значительному увеличению ОАА в слюне у пациентов с ХГП. I.L. Chapple et al. (2007) сообщили о значительном увеличении уровня ОАА в десневой жидкости в ответ на лечебные мероприятия, что соответствует нашим результатам [10]. Что касается СОД, то сообщалось, что именно этот антиоксидант положительно связан с хроническим пародонтитом, и его часто рассматривают как маркер окислительного стресса. Рядом исследований было установлено повышение уровня СОД в ротовой жидкости у пациентов с ХГП по сравнению с пародонтологически здоровыми пациентами, а также снижение уровня СОД после терапии [9, 11], что не согласуется с нашими результатами. Это несоответствие между ранее сообщенными результатами и нашими выводами может быть объяснено различными протоколами определения и анализами, применяемыми в разных исследованиях. В своем исследовании S. Trivedi et al. (2014) [12] определили, что уровень МДА значительно повышен при хроническом пародонтите по сравнению со здоровым контролем, а уровни каталазы и СОД были значительно снижены у пациентов с ХГП,

Таблица 2

## Динамика биохимических показателей до и после лечения, [Ме (Q25; Q75)]

Группа Время Показатель	Основная группа			Группа сравнения			Контроль
	До лечения	14 суток	6 мес	До лечения	14 суток	6 мес	До лечения
КАТ, моль/ л*ми	4,21 (2,49; 8,85) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 1,0$	7,91 (5,38; 11,0) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,017^*$ $p_2 = 0,097$	10,0 (7,67; 12,6) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,298$ $p_2 = 0,012^*$ $p_3 < 0,001^*$	4,32 (2,05; 7,14) $p_1 < 0,001^*$	5,32 (2,5; 9,45) $p < 0,001^*$ $p_1 < 0,001^*$	7,12 (3,48; 10,2) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,002^*$ $p_3 < 0,001^*$	12,1 (9,13; 17,2)
СОД, % инг., 10 мин	1,34 (1,06; 1,76) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,998$	1,83 (1,68; 2,32) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,014^*$ $p_2 = 0,712$	2,74 (2,50; 3,01) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,959$ $p_2 < 0,001^*$ $p_3 < 0,001^*$	1,43 (1,12; 1,69) $p_1 < 0,001^*$	1,78 (1,54; 2,03) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,002^*$	2,16 (1,82; 2,53) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,089$ $p_3 < 0,001^*$	2,74 (2,05; 3,39)
ОАА, мМ вит С	0,037 (0,026; 0,048) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,764$	0,078 (0,063; 0,095) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,046^*$ $p_2 = 0,348$	0,09 (0,077; 0,095) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,261$ $p_2 = 0,115$ $p_3 = 0,307$	0,034 (0,022; 0,048) $p_1 < 0,001^*$	0,072 (0,061; 0,086) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,004^*$	0,079 (0,071; 0,083) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,009^*$ $p_3 = 0,186$	0,109 (0,083; 0,143)
МДА (ТБЧ), усл. ед.	0,056 (0,040; 0,169) $p_1 < 0,001^*$ $p_2 = 0,966$	0,045 (0,018; 0,069) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,001^*$ $p_2 = 0,338$	0,011 (0,008; 0,027) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,969$ $p_2 = 0,009^*$ $p_3 < 0,001^*$	0,066 (0,049; 0,175) $p_1 < 0,001^*$	0,055 (0,028; 0,180) $p = 0,081$ $p_1 < 0,001^*$	0,040 (0,018; 0,098) $p < 0,001^*$ $p_1 = 0,012^*$ $p_3 = 0,01^*$	0,013 (0,009; 0,030)

**Примечание:**  $p$  — достоверность результатов по отношению к данным до лечения;  $p_1$  — достоверность результатов по отношению к данным контрольной группы;  $p_2$  — достоверность результатов по отношению к данным группы сравнения;  $p_3$  — достоверность результатов по отношению к данным через 14 дней после лечения; \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$ .

Таблица 3

## Коэффициенты корреляции клинических и биохимических параметров в десневой жидкости у пациентов групп хронического пародонтита до лечения

Показатели	ОHI-S	SBI	PD	CAL
КАТ Rho p	0,038 0,795	0,279* 0,05*	-0,065 0,654	0,326* 0,021*
СОД Rho p	0,116 0,423	0,123 0,393	-0,091 0,532	0,327* 0,021*
ОАА Rho p	-0,201 0,162	0,064 0,660	0,047 0,746	-0,058 0,689
МДА (ТБЧ) Rho p	0,260 0,068	0,338* 0,016*	0,195 0,174	0,029 0,841

**Примечание:** \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$ .

что может быть следствием истощения антиоксидантов из-за продолжающейся активности свободных радикалов и разрушения защитных форм антиоксидантов.

Основываясь на полученных результатах, можно сделать вывод, что консервативное лечение ХГП способствует нормализации изучаемых биохимических параметров. Одновременно наши результаты предполагают, что КАТ, СОД, ОАА и МДА в десневой жидкости являются надежными биомаркерами для оценки состояния тканей пародонта и результатов терапии, а десневая жидкость - точной и перспективной экспериментальной жидкостью для неинвазивной диагностики воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта. Хотя многообещающие результаты были получены в относительно небольшой выборке, необходимо провести дальнейшие исследования с большим объемом выборки для более точной характеристики исследуемых антиоксидантов в качестве биомаркеров ХГП.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленная по результатам настоящего исследования нормализация клинических и биохимических показателей свидетельствует об эффективности препарата «Хлорофиллипт», что позволяет рекомендовать его в качестве дополнения к традиционному терапевтическому лечению хронического пародонтита. Результаты определения уровня каталазы, супероксиддисмутазы, общей антиоксидантной активности и малонового диальдегида у пациентов с хроническим пародонтитом могут быть потенциально полезны для раннего выявления лиц, находящихся в «группе риска» развития хронического пародонтита, контроля активности заболевания и регистрации ответа на лечебные мероприятия.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках гранта РФФ № 22-15-20069.

**Funding.** The research was carried out within the framework of the RSF grant No. 22-15-20069.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Eke P.I., Borgnakke W.S., Genco R.J. Recent epidemiologic trends in periodontitis in the USA. *Periodontol* 2000. 2020;82(1):257-267. doi:10.1111/prd.12323
2. Bernabe E., Marcenes W. Global, GBD 2017 Oral Disorders Collaborators Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral

Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res*. 2020;99(4):362-373. doi:10.1177/0022034520908533

3. Genco R., Kornman K., Williams R., Offenbacher S., Zambon J., Ishikawa I. Consensus report periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Periodontol*. 1996;1:926-32. doi:10.1902/annals.1996.1.1.926

4. Sharma A., Sharma S. Reactive oxygen species and antioxidants in periodontics: a review. *International journal of Dental clinics*. 2011;3(2):44-48. doi:

5. Panjamurthy K., Manoharan S., Ramachandran C.R. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett*. 2005;10:255-64. PMID: 16010291

6. Omeh Y.S., Uzoegwe P.N. Oxidative stress marker in periodontal disease patients. *Nigerian J Biochem Mol Biol*. 2010;25(1):50-54.

7. Brock G.R., Butterworth C.J., Matthews J.B., Chapple I.L. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol*. 2004;31(7):515-521. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00509.x

8. Guentsch A., Preshaw P.M., Bremer-Streck S., Klinger G., Glockmann E., Sigusch B.W. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig*. 2008;12(4):345-352. doi:10.1007/s00784-008-0202-z

9. Novakovic N., Todorovic T., Rakic M., Milinkovic I., Dozic I., Jankovic S., Cakic S. Salivary antioxidants as periodontal biomarkers in evaluation of tissue status and treatment outcome. *Journal of Periodontal Research*. 2014;49(1):129-136. doi:10.1111/jre.12088

10. Chapple I.L., Milward M.R., Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *The Journal of nutrition*. 2007;137(3):657-664. doi:10.1093/jn/137.3.657

11. Wei D., Zhang X.L., Wang Y.Z., Yang C.X., Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Australian Dental Journal*. 2010;55(1):70-78. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01123.x

12. Trivedi S., Lal N., Mahdi A.A., Mittal M., Singh B., Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *Journal of periodontology*. 2014;85(5):713-720. doi:10.1902/jop.2013.130066

## REFERENCES

1. Eke P.I., Borgnakke W.S., Genco R.J. Recent epidemiologic trends in periodontitis in the USA. *Periodontol* 2000. 2020;82(1):257-267. doi:10.1111/prd.12323
2. Bernabe E., Marcenes W. Global, GBD 2017 Oral Disorders Collaborators Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res*. 2020;99(4):362-373. doi:10.1177/0022034520908533
3. Genco R., Kornman K., Williams R., Offenbacher S., Zambon J., Ishikawa I. Consensus report periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Periodontol*. 1996;1:926-32. doi:10.1902/annals.1996.1.1.926
4. Sharma A., Sharma S. Reactive oxygen species and antioxidants in periodontics: a review. *International journal of Dental clinics*. 2011;3(2):44-48. doi:
5. Panjamurthy K., Manoharan S., Ramachandran C.R. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett*. 2005;10:255-64. PMID: 16010291
6. Omeh Y.S., Uzoegwe P.N. Oxidative stress marker in periodontal disease patients. *Nigerian J Biochem Mol Biol*. 2010;25(1):50-54.
7. Brock G.R., Butterworth C.J., Matthews J.B., Chapple I.L. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol*. 2004;31(7):515-521. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00509.x
8. Guentsch A., Preshaw P.M., Bremer-Streck S., Klinger G., Glockmann E., Sigusch B.W. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig*. 2008;12(4):345-352. doi:10.1007/s00784-008-0202-z
9. Novakovic N., Todorovic T., Rakic M., Milinkovic I., Dozic I., Jankovic S., Cakic S. Salivary antioxidants as periodontal biomarkers in evaluation of tissue status and treatment outcome. *Journal of Periodontal Research*. 2014;49(1):129-136. doi:10.1111/jre.12088
10. Chapple I.L., Milward M.R., Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *The Journal of nutrition*. 2007;137(3):657-664. doi:10.1093/jn/137.3.657
11. Wei D., Zhang X.L., Wang Y.Z., Yang C.X., Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Australian Dental Journal*. 2010;55(1):70-78. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01123.x
12. Trivedi S., Lal N., Mahdi A.A., Mittal M., Singh B., Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *Journal of periodontology*. 2014;85(5):713-720. doi:10.1902/jop.2013.130066

УДК: 769/799+612.014.4+612.1+612.017.2+616-071

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-4-37-45

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУБЪЕКТИВНОГО И ОБЪЕКТИВНОГО МЕТОДОВ ТЕСТИРОВАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО БИОРИТМОТИПА У СПОРТСМЕНОВ

Пархоменко А. И., Мороз Г. А.

Кафедра медицинской реабилитации, спортивной медицины и адаптивной физической культуры, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия.

**Для корреспонденции:** Мороз Геннадий Александрович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медицинской реабилитации, спортивной медицины и адаптивной физической культуры, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: moroz062@yandex.ru

**For correspondence:** Moroz Gennady, M.D., Professor, Head of the Department of Medical physical culture, Sports medicine and Physiotherapy with a course of Physical training Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: moroz062@yandex.ru

### Information about authors:

**Parkhomenko A. I.**, <http://orcid.org/0000-0001-8793-8170>

**Moroz G. A.**, <http://orcid.org/0000-0001-7145-6564>

### РЕЗЮМЕ

Изучали динамику показателей кислотно-щелочного равновесия крови до и после предельно-стандартных физических нагрузок в разное время суток у спортсменов, разделенных на группы после определения индивидуального биоритмотипа субъективным методом (анкетирование) с целью выявления различий между субъективным и объективным методами тестирования. Определяли параметры кислотно-щелочного равновесия крови: отрицательный десятичный логарифм концентрации ионов водорода; дефицит буферных оснований; суммарное количество буферных оснований; актуальный бикарбонат; количество бикарбонатных ионов, способное к буферированию, при стандартных условиях; общий CO<sub>2</sub> в крови, складывающийся из суммы физически растворенного и химически связанного; парциальное давление углекислого газа в плазме. Результаты исследований свидетельствуют о неодинаковой идентификации индивидуального биоритмотипа с применением субъективного и объективного методов. Показано, что объективный метод наиболее точно определяет индивидуальный биоритмотип, выявляя перестроенные типы, и отражает адаптивные возможности организма в сравнении с субъективными тестами (по модифицированным анкетам Остберга). Установлено, что для идентификации биоритмотипов выраженные ацидотические или алкалозные смещения параметров КЩР при однократном обследовании в интервале времени 8.00-20.00 ч. носят случайный характер и статистически не выявляются. Наиболее информативным является амплитуда сдвига показателей у одного и того же лица в разное время суток.

**Ключевые слова:** анкетирование, адаптация, кислотно-щелочное равновесие, физическая нагрузка, биоритмотип

### COMPARATIVE ANALYSIS OF SUBJECTIVE AND OBJECTIVE METHODS OF TESTING SPORTSMAN' INDIVIDUAL BIORHYTHMOTYPE

Parkhomenko A. I., Moroz G. A.

Institution «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

### SUMMARY

We studied the dynamics of blood acid-base balance indexes before and after limit-standard physical activity at different times of the day in sportsmen divided into groups after determination of individual biorhythmotype by subjective method (questioning) in order to identify differences between subjective and objective testing methods. The following blood acid-base balance parameters were assessed: negative decimal logarithm of hydrogen ions concentration; buffered bases deficit; total buffered bases; actual bicarbonate; amount of bicarbonate ions capable of buffering under standard conditions; total CO<sub>2</sub> in blood, sum of physically dissolved and chemically bound; partial pressure of carbon dioxide in plasma. The results of the studies indicate that the identification of individual biorhythmotype using subjective and objective methods is unequal. It was shown that the objective method most accurately identifies the individual biorhythmotype, revealing transformative types and reflects the adaptive capabilities of the organism in comparison with subjective tests (according to modified Ostberg's questionnaires). It has been found that for the identification of biorhythmotypes, pronounced acidotic or alkalotic shifts in the acid-base balance during a single examination in between 8 a.m. and 8 p.m. are of random and are not statistically detected. The most informative parameter is the amplitude of shifts of parameters in the same person at different times of the day.

**Key words:** questioning, adaptation, acid-base balance, physical exercise, biorhythmotype

В настоящее время накоплены убедительные данные о том, что мышечная деятельность, особенно сопряженная с анаэробным энергообеспечением, сопровождается значительными изменениями КЩР крови. Степень изменения КЩР при мышечной работе линейно связана с изменением концентрации лактата в крови. Предполагается что, различия в сдвигах КЩР могут быть обусловлены различным уровнем индивидуальной адаптации к физическим нагрузкам разной интенсивности, а также условиями проведения пробы: временем суток, климатогеографическими условиями, пищевым рационом, составом дыхательных смесей и пр. Известно, что изменения показателей КЩР во многом определяют уровень актуального функционирования состояния организма и, в частности, его работоспособность [1]. Максимальная физическая и психическая работоспособность достигается в состоянии максимального напряжения функций организма. Живые организмы не в состоянии длительное время функционировать на пике своих возможностей, поэтому для дальнейшей его поддержки вынуждены периодически снижать уровень активности, являя в течение суток волнообразные колебания работоспособности с преобладанием в определенный временной период [2]. Эти колебания стереотипны и составляют понятие «биоритмологический профиль». Вероятно, в его основе лежат генетически детерминированные особенности реактивности регулирующих систем на сумму внешних и внутренних раздражений, в итоге определяющих биоритмотип [3].

Многочисленные исследования, определяющие биоритмологические профили у лиц разных возрастных групп, выявили, что лица утреннего биоритмотипа (УБ-тип) составляли 39-41 %, вечернего биоритмотипа (ВБ-тип) – 28-30 % и индифферентного типа (АР-тип) – 29-33 % [4]. По другим данным [5] лиц УБ-типа было около 17 %, ВБ-типа – 35 %, и 48 % не относились к какому-либо биоритмотипу. Важной особенностью выводов таких исследований является то, что субъективно оцененный биоритмотип не всегда совпадал с максимумом фактической работоспособности в часы функционального оптимума. Так, у подавляющего большинства УБ-типа субъективная и объективная оценки совпадали, у ВБ-типа – в 45 % случаев и у 36 % АР-типа не совпадали.

Установлено, что характерной чертой адаптации к физическим нагрузкам является экономизация функций в покое и при мышечной деятельности, которая наблюдается у спортсменов разных биоритмотипов в часы функционального оптимума [6].

Таким образом, представлялось интересным выяснить зависимость между изменениями показателей КЩР и временем проведения нагрузки.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы является сравнительный анализ динамики показателей кислотно-щелочного равновесия (КЩР) крови до и после предельной физической нагрузки у спортсменов, распределенных на биоритмологические группы субъективным методом (анкетирование).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Испытуемые добровольцы спортсмены, 70 лиц мужского пола в возрасте от 17 до 27 лет, специализировались по боксу, борьбе, кик-боксингу, гимнастике, плаванию, л/атлетике (спринт), игровым видам спорта, туризму и имели спортивную квалификацию от массовых разрядов до мастера спорта, т.е. не были специально адаптированы к велоэргометрической нагрузке аэробно-анаэробной направленности.

В первой серии обследования, для разделения на группы, было проведено анкетирование по модифицированным анкетам Остберга [7]. По результатам анкетирования было выявлено УБ-типа 21 человек (30 %), ВБ-типа – 32 человек (46 %) и АР-типа – 17 человек (24 %).

Во второй серии обследования испытуемые выполняли предельно-стандартную (А утро = А вечер) ступенчато-повышающуюся нагрузку. Начальная нагрузка соответствовала 1 Вт на 1 кг веса. Каждые три минуты мощность нагрузки увеличивали на 25 Вт. Окончанием нагрузки считали момент, когда испытуемый был не в состоянии поддерживать необходимый ритм педалирования. Проба проводилась утром (с 8.00 до 12.00 ч.) и через 2-3 суток вечером (с 16.00 до 20.00 ч.) для более полного восстановления и во избежание эффекта суперкомпенсации.

Согласно приоритетного способа определения биоритмотипа [9], УБ-тип был идентифицирован у 19 испытуемых (27 %). Среди них у 14 юношей объективная и субъективная оценки совпадали, а 5 студентов оценивали себя по вопросам анкеты как ВБ-тип (4 человека) и АР-тип (1 человек). ВБ-тип идентифицирован у 25 лиц (36 %) из которых у 21 субъективная и объективная оценки совпадали и 2 человека позиционировали себя как УБ-тип, и 2 человека как АР-тип. В группу АР-типа идентифицировано 26 испытуемых (37 %), из которых у 14 субъективная и объективная оценки совпадали и 5 человек по результатам анкетирования УБ-типа, и 7 человек ВБ-типа.

В покое и после ступенчато-повышающейся нагрузки определяли показатели кислотно-щелочного равновесия крови по методу Аструпа в

модификации Зиггард-Андерсена при помощи микроанализатора ОР-210/3. Определяли параметры КЩР: рН – отрицательный десятичный логарифм концентрации ионов водорода; ВЕ – дефицит буферных оснований; ВВ – сумма буферных оснований; АВ – актуальный бикарбонат; SB – стандартный бикарбонат;  $t_{CO_2}$  – общий  $CO_2$  в крови, складывающийся из суммы физически растворенного и химически связанного;  $P_{CO_2}$  – парциальное давление  $CO_2$  в плазме.

Статистическую обработку данных производили при помощи пакета программ «Statgrafics». Используя критерий Колмогорова-Смирнова, оценивали соответствие распределения значений нормальному закону, и, в зависимости от результатов оценки, применяли параметрический (t-критерий Стьюдента) или непараметрические (Вилкоксона-Манна-Уитни и Манна-Уитни) критерии. Нулевая гипотеза отвергалась в случае, если  $p < 0,05-0,01$  на 1-5% уровне значимости, и разница между выборочными данными считалась достоверной.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У 19 (100 %) испытуемых, объективно оценённых как УБ-тип исследовали показатели КЩР до и после предельной велоэргометрической пробы, выполненной в утреннее время.

Как показано в табл. 1 в интервале времени 8.00-12.00 ч. у 14 лиц, с совпадающими оценками, как в покое, так и после предельно-стандартной физической нагрузки в утреннее время показатели КЩР отличались от тех же показателей в вечернее время существенным увеличением щелочного резерва буферных систем. Иными словами, сдвиг КЩР в условиях действия стрессорных факторов утром существенно меньше, что свидетельствует о более эффективной адаптации (в нашем случае – кислородтранспортной системы и центров ее регуляции). Выраженная закономерность определяется даже при относительно незначительных процентах изменения средних показателей (% измен). Диапазон изменений в утреннее и вечернее время в состоянии покоя 0,07 % для рН и 33,4 % для ВЕ. Достоверность была выявлена по всем параметрам, за исключением SB нагрузки. Диапазон изменений после нагрузки для рН – 0,26 %, наибольшая величина сдвига 20,0 % зарегистрирована для ВЕ.

В то же время после нагрузки диапазон изменений КЩР ( $\Delta$  у-в) был в 1,5-2,0 раза больше, чем в покое ( $\Delta$  у-в) покоя, для SB – в 12 раз.

В условиях рабочего ацидоза сдвиг показателей КЩР ( $\Delta$  н-п) утром в 1,2-1,8 раза меньше, чем вечером.

Таблица 1

**Средние показатели кислотно-щелочного равновесия ( $X \pm S_x$ ) в группе лиц утреннего биоритмотипа (субъективная и объективная оценки совпадают) в покое и при предельно-стандартных физических нагрузках в разное время суток (n=14)**

Показатели	Утренний биоритмотип		$\Delta$ у-в (абс. ед.)	$\Delta$ у-в (%)	P
	8.00-12.00 ч.	16.00-20.00 ч.			
Показатели покоя					
рН (ед.)	7,402±0,007	7,391±0,03	0,011	0,07	<0,05
ВЕ (мэкв/л)	+3,7±0,7	+2,4±0,2	1,3	33,4	<0,01
ВВ (мэкв/л)	51,4±0,6	50,9±0,4	0,5	1,5	<0,01
АВ (мэкв/л)	29,0±0,7	27,7±0,3	1,3	4,7	<0,01
SB (мэкв/л)	24,2±0,6	24,3±0,4	0,1	0,4	<0,05
$t_{CO_2}$ (мм. рт. ст.)	30,4±0,8	29,2±0,4	1,2	4,6	<0,05
$P_{CO_2}$ (мм. рт. ст.)	47,2±2,1	46,1±0,5	1,1	2,7	<0,01
Показатели нагрузки					
A (Вт)	2962,0±81,3	2962,0±81,3			
рН (ед.)	7,261±0,003	7,241±0,012	0,002	0,26	<0,01
ВЕ (мэкв/л)	-8,9±2,8	-10,8±0,8	1,8	20,0	<0,01
ВВ (мэкв/л)	39,1±0,2	37,9±0,9	1,2	3,6	<0,01
АВ (мэкв/л)	17,2±2,5	15,7±0,8	1,7	9,7	<0,01
SB (мэкв/л)	17,1±1,6	16,7±0,5	0,4	6,5	-
$t_{CO_2}$ (мм. рт. ст.)	18,5±2,5	16,9±0,8	1,6	9,6	<0,01
$P_{CO_2}$ (мм. рт. ст.)	40,0±4,0	37,8±1,2	2,2	5,9	<0,01

Таблица 2

Средние показатели кислотно-щелочного равновесия ( $X \pm Sx$ ) в группе лиц утреннего биоритмотипа (субъективная и объективная оценки не совпадают) в покое и при предельно-стандартных физических нагрузках в разное время суток ( $n=5$ )

Показатели	Утренний биоритмотип		$\Delta$ у-в (абс. ед.)	$\Delta$ у-в (%)	P
	8.00-12.00 ч.	16.00-20.00 ч.			
Показатели покоя					
pH (ед.)	7,396 $\pm$ 0,01	7,985 $\pm$ 0,001	0,011	0,15	<0,05
BE (мэкв/л)	+3,5 $\pm$ 1,2	+2,3 $\pm$ 0,3	1,2	35,3	<0,05
BB (мэкв/л)	51,6 $\pm$ 0,7	50,3 $\pm$ 1,1	0,3	2,5	-
AB (мэкв/л)	29,3 $\pm$ 1,7	27,7 $\pm$ 1,2	1,6	5,5	<0,05
SB (мэкв/л)	24,2 $\pm$ 0,8	23,5 $\pm$ 0,7	0,6	2,5	<0,05
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	30,7 $\pm$ 1,8	29,1 $\pm$ 1,2	1,6	5,2	-
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	45,3 $\pm$ 2,5	46,6 $\pm$ 1,8	1,3	2,9	-
Показатели нагрузки					
A (Вт)	2410,0 $\pm$ 69,3	2410,0 $\pm$ 69,3			
pH (ед.)	7,253 $\pm$ 0,51	7,230 $\pm$ 0,54	0,023	0,32	<0,05
BE (мэкв/л)	-10,1 $\pm$ 3,1	-11,8 $\pm$ 3,4	1,7	17,0	<0,05
BB (мэкв/л)	38,8 $\pm$ 3,3	37,0 $\pm$ 3,3	1,8	4,7	<0,05
AB (мэкв/л)	16,3 $\pm$ 2,4	15,1 $\pm$ 2,5	1,2	7,4	<0,05
SB (мэкв/л)	17,1 $\pm$ 1,8	16,2 $\pm$ 2,1	0,9	5,3	<0,01
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	17,6 $\pm$ 2,5	16,2 $\pm$ 2,6	1,2	6,9	-
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	38,2 $\pm$ 4,0	37,5 $\pm$ 3,9	0,7	1,8	-

Из 23 студентов (100 %), идентифицированных как ВБ-тип, у 19 человек по результатам анкетирования субъективная оценка совпадала с результатами объективных тестов.

Как показано в табл. 3, у 19 человек существенно больший щелочной буферный резерв в покое, существенно меньший сдвиг показателей КЩР после нагрузки наблюдали в вечернее время.

Диапазон изменений показателей в кислую сторону на фоне рабочего ацидоза в интервале времени 8.00-12.00 ч. был в 1,1-2,0 раза больше, чем в 16.00-20.00 ч. После нагрузки сдвиг большинства показателей КЩР ( $\Delta$ у-в) был в 1,1-1,5 раза больше, чем в покое, за исключением ВВ.

Такая же направленность обнаружена по результатам анкетирования у 2 лиц УБ-типа и 2 лиц АР-типа (табл. 4). При сопоставлении данных табл. 3 с табл. 4 обнаруживается сходная тенденция в изменении абсолютных и средних значений величин КЩР в утреннее и вечернее время. В покое pH, BE, AB и SB на 0,2-6,4 % выше вечером, чем утром, а при нагрузке для pH, BE, BB, AB и SB эта величина составляет 0,3-11,3 %. Следует отметить отсутствие достоверных различий в показателях ВВ. Также в этой группе обнаружено отсутствие достоверных различий в показателях tco<sub>2</sub> и Pco<sub>2</sub> между

утром и вечером как в покое, так и после предельной нагрузки.

Среди 26 лиц АР-типа (100 %) у 14 испытуемых результаты совпадали с анкетированием. Как свидетельствуют данные табл. 5 у лиц с совпадающими субъективной и объективной оценками не выявлена существенная разница между показателями КЩР в утреннее и вечернее время как в покое, так и после нагрузки.

По показателям BE, tco<sub>2</sub> и Pco<sub>2</sub> у АР-типа близки к группе УБ-типа и имеют на 1,3-44,4 % большие значения утром, чем вечером.

Как свидетельствуют данные табл. 6 у лиц с несовпадающими оценками, 5 человек УБ-типа и 7 человек ВБ-типа, не обнаружено достоверных различий по большинству показателей КЩР, кроме BE, как в покое, так и после физической нагрузки.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее ярко однородность биоритмологической группы идентифицированных объективным методом, проявляется при сравнении показателей КЩР в покое и после физической нагрузки, выполненной в утреннее время и вечернее время, как и в группе испытуемых, чьи субъективная и объективная оценки биоритмо-

Таблица 3

Средние показатели кислотно-щелочного равновесия ( $X \pm Sx$ ) в группе лиц вечернего биоритмотипа (субъективная и объективная оценки совпадают) в покое и при предельно-стандартных физических нагрузках в разное время суток ( $n=21$ )

Показатели	Утренний биоритмотип		$\Delta$ у-в (абс. ед.)	$\Delta$ у-в (%)	P
	8.00-12.00 ч.	16.00-20.00 ч.			
Показатели покоя					
pH (ед.)	7,383 $\pm$ 0,02	7,398 $\pm$ 0,02	-0,015	0,2	<0,01
BE (мэкв/л)	+1,7 $\pm$ 1,1	+3,5 $\pm$ 1,0	-1,2	66,7	<0,01
BB (мэкв/л)	49,8 $\pm$ 0,79	48,4 $\pm$ 1,4	1,4	2,8	<0,01
AB (мэкв/л)	27,1 $\pm$ 1,4	28,2 $\pm$ 1,5	-1,1	4,0	<0,01
SB (мэкв/л)	24,3 $\pm$ 4,6	24,3 $\pm$ 1,6	-2,0	8,9	<0,01
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	27,1 $\pm$ 6,2	29,6 $\pm$ 1,5	-2,5	9,2	<0,01
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	39,9 $\pm$ 10,0	46,1 $\pm$ 2,8	-2,2	5,0	-
Показатели нагрузки					
A (Вт)	2547,0 $\pm$ 39,7	2547,0 $\pm$ 39,7			
pH (ед.)	7,224 $\pm$ 0,06	7,254 $\pm$ 0,05	-0,02	0,3	<0,01
BE (мэкв/л)	-11,5 $\pm$ 3,0	-9,8 $\pm$ 2,7	-1,7	14,6	<0,01
BB (мэкв/л)	36,9 $\pm$ 2,9	36,8 $\pm$ 8,5	0,1	0,3	<0,01
AB (мэкв/л)	14,7 $\pm$ 2,1	16,2 $\pm$ 2,0	-1,5	10,1	<0,01
SB (мэкв/л)	16,3 $\pm$ 2,1	17,0 $\pm$ 2,0	-0,7	4,3	<0,01
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	15,7 $\pm$ 2,1	17,3 $\pm$ 2,1	-1,6	10,1	<0,01
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	36,1 $\pm$ 4,0	38,0 $\pm$ 4,1	-1,9	5,2	<0,05

Таблица 4

Средние показатели кислотно-щелочного равновесия ( $X \pm Sx$ ) в группе лиц вечернего биоритмотипа (субъективная и объективная оценки не совпадают) в покое и при предельно-стандартных физических нагрузках в разное время суток ( $n=4$ )

Показатели	Утренний биоритмотип		$\Delta$ у-в (абс. ед.)	$\Delta$ у-в (%)	P
	8.00-12.00 ч.	16.00-20.00 ч.			
Показатели покоя					
pH (ед.)	7,389 $\pm$ 0,021	7,398 $\pm$ 0,05	-0,013	0,18	<0,05
BE (мэкв/л)	+2,1 $\pm$ 0,8	+2,9 $\pm$ 0,4	-0,8	36,4	<0,05
BB (мэкв/л)	50,5 $\pm$ 1,1	51,1 $\pm$ 0,6	-0,6	1,2	-
AB (мэкв/л)	27,7 $\pm$ 1,3	27,2 $\pm$ 1,9	0,5	1,8	<0,05
SB (мэкв/л)	23,3 $\pm$ 0,2	24,1 $\pm$ 0,5	-0,8	3,4	<0,05
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	29,1 $\pm$ 1,3	29,9 $\pm$ 1,0	-0,8	2,7	-
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	33,5 $\pm$ 9,0	46,7 $\pm$ 1,9	-13,2	39,2	-
Показатели нагрузки					
A (Вт)	2563,0 $\pm$ 50,1	2563,0 $\pm$ 50,1			
pH (ед.)	7,223 $\pm$ 0,03	7,243 $\pm$ 0,03	-0,02	0,28	<0,05
BE (мэкв/л)	-12,1 $\pm$ 3,2	-10,8 $\pm$ 1,6	-1,3	10,7	<0,05
BB (мэкв/л)	36,4 $\pm$ 3,8	37,7 $\pm$ 2,5	-1,3	3,6	<0,05
AB (мэкв/л)	14,1 $\pm$ 2,8	15,7 $\pm$ 1,9	-1,6	11,3	<0,05
SB (мэкв/л)	16,0 $\pm$ 1,3	16,5 $\pm$ 1,1	-0,5	3,1	<0,01
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	15,2 $\pm$ 3,0	16,8 $\pm$ 2,0	-1,6	6,9	-
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	35,7 $\pm$ 4,4	37,2 $\pm$ 3,2	-1,5	4,2	-

Таблица 5

Средние показатели кислотно-щелочного равновесия ( $X \pm Sx$ ) в группе лиц аритмического биоритм-типа (субъективная оценка совпадают) в покое и при предельно-стандартных физических нагрузках в разное время суток (n=14)

Показатели	Утренний биоритмотип		$\Delta$ у-в (абс. ед.)	$\Delta$ у-в (%)	P
	8.00-12.00 ч.	16.00-20.00 ч.			
Показатели покоя					
pH (ед.)	7,391 $\pm$ 0,021	7,394 $\pm$ 0,018	0,003	0,04	-
BE (мэкв/л)	+2,6 $\pm$ 0,3	+2,4 $\pm$ 1,0	0,2	8,0	-
BB (мэкв/л)	50,8 $\pm$ 0,9	50,4 $\pm$ 0,9	0,4	0,8	-
AB (мэкв/л)	28,1 $\pm$ 0,9	27,6 $\pm$ 1,3	0,5	1,8	-
SB (мэкв/л)	23,9 $\pm$ 1,3	23,9 $\pm$ 1,2	0	0	-
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	46,6 $\pm$ 2,5	46,0 $\pm$ 2,6	0,6	1,3	<0,05
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	46,6 $\pm$ 2,5	46,0 $\pm$ 2,6	0,6	1,3	<0,05
Показатели нагрузки					
A (Вт)	2889,3 $\pm$ 61,9	2889,3 $\pm$ 61,9			
pH (ед.)	7,234 $\pm$ 0,029	7,234 $\pm$ 0,033	0	0	-
BE (мэкв/л)	-11,2 $\pm$ 2,1	-11,2 $\pm$ 2,3	0	0	-
BB (мэкв/л)	37,6 $\pm$ 2,3	37,6 $\pm$ 2,8	0	0	-
AB (мэкв/л)	15,1 $\pm$ 2,3	15,5 $\pm$ 2,1	-0,4	2,7	-
SB (мэкв/л)	16,2 $\pm$ 1,9	16,4 $\pm$ 1,3	-0,2	1,2	-
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	16,7 $\pm$ 2,2	16,7 $\pm$ 2,7	0	0	-
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	38,2 $\pm$ 4,7	38,4 $\pm$ 4,3	10,2	26,8	<0,01

Таблица 6

Средние показатели кислотно-щелочного равновесия ( $X \pm Sx$ ) в группе лиц аритмического биоритм-типа (субъективная оценка не совпадают) в покое и при предельно-стандартных физических нагрузках в разное время суток (n=12)

Показатели	Утренний биоритмотип		$\Delta$ у-в (абс. ед.)	$\Delta$ у-в (%)	P
	8.00-12.00 ч.	16.00-20.00 ч.			
Показатели покоя					
pH (ед.)	7,397 $\pm$ 0,018	7,398 $\pm$ 0,011	-0,001	0,01	-
BE (мэкв/л)	+2,8 $\pm$ 1,4	+1,6 $\pm$ 2,0	1,2	44,4	<0,05
BB (мэкв/л)	51,6 $\pm$ 0,7	50,1 $\pm$ 1,0	1,5	0,03	-
AB (мэкв/л)	29,2 $\pm$ 0,8	27,4 $\pm$ 1,4	1,8	6,2	-
SB (мэкв/л)	24,4 $\pm$ 0,7	23,6 $\pm$ 1,1	0,8	3,3	-
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	30,6 $\pm$ 0,9	28,8 $\pm$ 1,4	1,8	5,9	<0,05
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	47,4 $\pm$ 2,0	46,4 $\pm$ 2,7	1,0	2,1	<0,05
Показатели нагрузки					
A (Вт)	2925,4 $\pm$ 47,7	2925,4 $\pm$ 47,7			
pH (ед.)	7,234 $\pm$ 0,031	7,241 $\pm$ 0,011	-0,007	0,01	-
BE (мэкв/л)	+2,8 $\pm$ 1,4	+1,6 $\pm$ 2,0	1,2	44,4	<0,05
BB (мэкв/л)	39,3 $\pm$ 0,02	37,0 $\pm$ 3,0	2,3	5,9	-
AB (мэкв/л)	17,4 $\pm$ 2,6	14,8 $\pm$ 2,2	2,6	15,0	-
SB (мэкв/л)	17,3 $\pm$ 1,7	16,4 $\pm$ 2,0	0,9	5,2	<0,01
tco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	18,7 $\pm$ 2,6	15,9 $\pm$ 2,2	2,8	15,0	-
Pco <sub>2</sub> (мм. рт. ст.)	40,2 $\pm$ 4,1	36,2 $\pm$ 4,1	4,0	10,08	-

типа совпадают, так и среди лиц, где эти оценки не совпадают.

У лиц УБ-типа с совпадающими оценками биоритмотипа в утреннее время преобладала ярко выраженная тенденция к увеличению щелочного ингредиента буферных систем по отношению к вечернему времени суток. Достоверность различий выявлена по всем показателям, за исключением SB нагрузки.

У лиц с несовпадающими субъективной и объективной оценкам наблюдалась аналогичная ситуация, свидетельствующая о лучшей и большей устойчивости гомеостатических систем крови в утреннее время. Однако у последних по таким параметрам как pH, отражающим работу практически всех буферных систем, SB, имеющим место при стандартных условиях, а также  $P_{CO_2}$ , зависящим от возбудимости дыхательного центра и газового состава вдыхаемого воздуха, достоверных различий между утренними и вечерними значениями не обнаружено. Это, вероятно, свидетельствует о т.н. «переходных» биоритмотипах, с неярко выраженными функциональными изменениями на протяжении суток.

У лиц ВБ-типа, с совпадающими оценками биоритмотипа увеличение щелочного ингредиента буферных систем в вечернее время по сравнению с утренними часами обеспечивало большую устойчивость гомеостатических параметров при предельной нагрузке, выполненной вечером. Очевидно, это свидетельствует о большей доле участия аэробных систем энергообеспечения работы. Вероятно, у лиц ярко выраженного ВБ-типа в утреннее время имеет место несколько пониженный тонус центров регуляции работы кислородтранспортной системы, следствием чего является большее участие анаэробных механизмов энергообеспечения. Это, в общем, свидетельствует о большей затрате энергии и худшей адаптации организма к нагрузке.

У лиц, объективно идентифицированных как ВБ-тип, чьи субъективная и объективная оценки биоритмотипа не совпадали, профиль средних показателей КЩР в покое и при нагрузке соответствовал таковому у ярко выраженного УБ-типа. В то же время, при сопоставлении данных для обеих групп испытуемых обнаруживается сходная тенденция в изменении абсолютных и средних значений величин КЩР в утреннее и вечернее время: в покое pH, BE, AB и SB выше вечером, чем утром как в покое, так и при нагрузке. Не выявлено достоверных различий ВВ утром и вечером в покое в группе лиц с несовпадающими субъективной и объективной оценками биоритмотипа. В сравнении с другими показателями КЩР для ВВ использование резервов проявляется при сдвиге pH до 7,2 ед., этим и

объясняется некоторое «отставание». Для испытуемых с неярко выраженным биоритмотипом характерен разброс параметров КЩР и, как следствие этого – чуть замедленное изменение ВВ в разное время суток, что обуславливает невозможность статистического выявления закономерности. При нагрузке у лиц с несовпадающими субъективной и объективной оценками ВВ закономерно, в среднем на 3,6 % выше вечером, чем утром, т.к. при сдвигах pH к 7,2 и ниже, ВВ приобретает ту же динамичность, что и другие показатели КЩР, что свидетельствует о проявлении резервных возможностей буферных систем в условиях стресса. Это еще раз свидетельствует о том, что для выявления истинного биоритмотипа целесообразно изучение гомеостатических систем крови при пограничных состояниях организма. У испытуемых с несовпадающими оценками биоритмотипа обнаружено также отсутствие достоверных различий в показателях  $t_{CO_2}$  и  $P_{CO_2}$  между утром и вечером как в покое, так и после предельной нагрузки. Можно полагать, что  $CO_2$ -зависимые показатели отражают суммарную активность многих систем организма, как регулирующих, так и не регулирующих ГГАКС. Так,  $t_{CO_2}$  при нагрузке складывается из суммы химически связанного в значительной мере ГГАКС-зависимого), метаболического физически растворенного  $CO_2$  и не метаболического  $CO_2$  (в основном ГГАКС-независимого), а  $P_{CO_2}$  проявляет «собственную» «А-, Б-, В-» типовую зависимость, вариабелен внутри одного биоритмотипа, что затрудняет выявление статистических закономерностей в условиях нашего эксперимента. Вероятно, этот показатель, являющийся генетически детерминированным, весьма нестабилен, т.к. в большей мере определяется активностью дыхательного центра и существенно зависит лишь от газового состава дыхательной смеси. Это также, вероятно, свидетельствует о т.н. «переходных» биоритмотипах. Возможно, что именно по этой причине имеет место затруднения в выявлении индивидуального биоритмотипа у таких лиц при анкетировании.

В то же время, такие высоко динамичные и функционально значимые параметры как BE, AB и SB демонстрируют однонаправленные изменения в ответ на предельную физическую нагрузку среди всех испытуемых, идентифицированных как ВБ-тип с применением объективных критериев, независимо от их субъективной оценки собственного биоритмотипа.

У лиц AP-типа с совпадающими объективной и субъективной оценками биоритмотипа, ни в утреннее, ни в вечернее время, как в покое, так и после физической нагрузки, не выявлено пре-

валирующего доминирования щелочного ингредиента буферных систем.

По показателям  $VE$ ,  $t_{CO_2}$  и  $P_{CO_2}$  в покое лица АР-типа, идентифицированные объективным методом, близки к испытуемым УБ-типа так, как имеют больше значения утром, чем вечером.

Некая предрасположенность к УБ-типу обусловлена «филогенетически закрепленной, преимущественно утренней активностью регуляторных механизмов центральной нервной системы [10]. Такое состояние, вероятно, характеризует возбудимость регуляторных центров нервной системы, которая сказывается на возбудимости дыхательного центра и, как следствие этого, – на  $CO_2$  зависимых параметрах. В подтверждение этой точки зрения, при нагрузке  $t_{CO_2}$  и  $P_{CO_2}$  не выявили существенных различий утром и вечером, что является характерной чертой группы АР-типа. По другим показателям КЩР, как в покое, так и после нагрузки у всех лиц, идентифицированных как АР-тип с применением объективного критерия, независимо от субъективной оценки индивидуального биоритмотипа, не обнаружено достоверных различий, зарегистрированных утром и вечером, что, вероятно, свидетельствует об относительно равном уровне возбудимости центрального и периферического отделов ГГАКС.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе анализа проведенных исследований выявлены различия в идентификации индивидуального биоритмотипа с применением субъективного и объективного методов. Тестирование с применением объективного критерия оценки индивидуального биоритмотипа позволило с достаточной точностью идентифицировать испытуемых по группам УБ-, ВБ- и АР-типа. Это, в свою очередь, дало возможность выявить характерные особенности адаптивных свойств крови у представителей этих групп. Однако, при сравнении результатов, взятых у лиц разных биоритмотипов в один и тот же временной интервал, только утром, характерные особенности типов выявляются в меньшей мере, а при вечернем обследовании – различия и вовсе носят случайный характер.

Как показали результаты, для выявления характерных биоритмологических особенностей, наиболее информативными и статистически достоверными являются различия в амплитуде сдвигов показателей КЩР при сопоставлении результатов обследований, проведенных у одного и того же человека в разное время суток. Этим и объясняется высокая разрешающая способность объективного теста в сравнении с субъективным.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа “Приоритет-2030” № 075-15-2021-1323.

**Funding.** This study was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Priority-2030 program N 075-15-2021-1323.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аптикаева О. И., Степанова С. И. Суточные ритмы организма человека в условиях 72-часового непрерывного бодрствования. Геофизические процессы и биосфера. 2008;(3):55-62.
2. Уланова Т. В., Зиняков Д. А., Русейкин Н. С. Взаимосвязь нормальных циркадных биоритмов и жизнедеятельности. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018;5(1):138-142.
3. Федорова О. И., Лепендин А. А., Кривошеков С. Г. Спектральный анализ ритмов вегетативных функций ультрадианного и циркадного диапазонов у людей в субэкстремальных условиях среды. Экология человека. 2011;(1):19-27.
4. Арушунян Э. Б. Биоритмы и мы. М-Ставрополь-Ставропольское, 2016.
5. Доскин В. А. Биоритмы. М: Метафора. ЭКСМО. 2014.
6. Пархоменко А. И., Мороз Г. А. Биохимические особенности адаптации системы крови к физической нагрузке у спортсменов разных биоритмотипов. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2018;8(2):54-59.
7. Доскин В. А., Лаврентьева Н. А. Ритмы жизни. М: Медицина. 1991.
8. Комаров Ф. И., Рапопорт С. И., Бреус Е. Л., Чибисов С. М. Десинхронизация биологических ритмов как ответ на воздействие факторов внешней среды. Клиническая медицина. 2017;(6):502-512. doi : 10.18821/0023-2149-2017-95-6-502-512
9. Пархоменко А. И., Сышко Д. В., Мельниченко Е. В., Ширяев В. В., Грабовская Е. Ю., Темурьянц Н. А., Способ определения суточного биоритмотипа. Патент Украины 20933 А. Опубл. 07.10.1997. Бюл. 3.
10. Детари Л., Корцаги В. Биоритмы. М: Мир; 2015.

### REFERENSES

1. Aptikaeva O. I., Stepanova S. I. Daily rhythms of the human body in a 72-hour continuous wakefulness. Geophysical Processes and Biosphere. 2008;(3):55-62. (In Russ.).
2. Ulanova T. V., Zinyakov D. A., Ruseikin N. S. Relationship between normal circadian biorhythms

and vital activity. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2018;5(1):138-142. (In Russ.).

3. Fedorova O. I., Lependin A. A., Krivoshchekov S. G. Spectral analysis of the rhythms of the vegetative functions of the ultradian and circadian ranges in people in sub-extreme environmental conditions. *Human ecology*. 2011;(1):19-27. (In Russ.).

4. Arushunyan E. B. *Biorhythms and us*. M-Stavropol-Stavropolskoye. 2016. (In Russ.).

5. Doskin V. A. *Biorhythms*. M: Metaphor. EKSMO. 2014. (In Russ.).

6. Parkhomenko A. I., Moroz G. A. Biochemical features of the blood system adaptation to physical activity in athletes of different biorhythmotypes.

*Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2018;8(2):54-59. (In Russ.).

7. Doskin V. A., Lavrent'eva N. A. *Rhythms of life*. M: Medicine. 1991. (In Russ.).

8. Komarov F. I., Rapoport S. I., Breus Tamara K., Chibisov S. M. Desynchronization of biological rhythms in response to environmental factors. *Clinical Medicine*. 2017;(6):502-512. (In Russ.).

9. Parkhomenko A. I., Syshko D. V., Melnichenko E. V., Shiryaev V. V., Grabovskaya E. Yu., Temurjants N. A. Method of determining the daily biorhythmotype. Patent of Ukraine 20933 A, 07.10.1997; Bul.3. (In Russ.).

10. Detari L., Korzagi V. *Biorhythms*. M: World. 2015. (In Russ.).

## БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОДОСТРОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АКРИЛАМИДА И НА ФОНЕ КОРРЕКЦИИ

Репина Э. Ф.<sup>1</sup>, Тимашева Г. В.<sup>1</sup>, Каримов Д. О.<sup>1</sup>, Бакиров А. Б.<sup>1,2</sup>, Гимадиева А. Р.<sup>3</sup>,

Хуснутдинова Н. Ю.<sup>1</sup>, Валова Я. В.<sup>1</sup>, Каримов Д. Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, ул. Степана Кувыкина, 94, Уфа, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, ул. Пушкина, 96/98, Уфа, Россия

<sup>3</sup>Уфимский институт химии УФИЦ РАН, 450054, проспект Октября, 71, Уфа, Россия

Для корреспонденции: Репина Эльвира Фаридовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: e.f.repina@bk.ru

For correspondence: Repina Elvira Faridovna, PhD, senior researcher of the department of toxicology and genetics with an experimental clinic of laboratory animals Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, e-mail: e.f.repina@bk.ru

### Information about authors:

Repina E. F., <https://orcid.org/0000-0001-8798-0846>

Timasheva G. V., <https://orcid.org/0000-0003-2435-6936>

Karimov D. O., <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>

Bakirov A. B., <https://orcid.org/0000-0003-3510-2595>

Gimadieva A. R., <https://orcid.org/0000-0002-2995-310X>

Khusnutdinova N. Y., <https://orcid.org/0000-0001-5596-8180>

Valova Y. V., <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994>

Karimov D. D., <https://orcid.org/0000-0002-1962-2323>

### РЕЗЮМЕ

Акриламид представляет определенную угрозу для здоровья человека и актуальным является проведение дальнейших фундаментальных исследований по изучению механизма его действия на организм и способов коррекции вызванных им нарушений. Токсичность акриламида связывают с образованием токсичных метаболитов и окислительным стрессом. Целью работы было изучить изменения биохимических показателей сыворотки крови лабораторных животных при подостром воздействии акриламида и оценить эффективность их профилактической коррекции. Исследования выполнены на 30 белых аутбредных крысах-самках с массой тела 180-190 г. Акриламид вводился в дозе 20 мг/кг в течение 28 дней. Коррекцию возможных нарушений проводили за 1 час до введения токсиканта комплексными соединениями оксиметилурацила. Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, введение акриламида в дозе 20 мг/кг массы тела животных сопровождалось изменением активности индикаторных ферментов АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы. Одновременно обнаруживалась гипопропротеинемия и дислипидемия, что указывало на функциональную недостаточность клеток печени. После профилактического введения комплексных соединений оксиметилурацила наблюдалась тенденция к нормализации ряда исследуемых биохимических показателей. Для окончательного суждения о протекторной эффективности комплексных соединений оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, с сукцинатом натрия и с ацетилцистеином при воздействии акриламида необходимо продолжение исследований на более длительных сроках его воздействия и при сопроводительном и восстановительном режимах введения изучаемых комплексов.

**Ключевые слова:** акриламид, подострое действие, биохимический статус, коррекция, комплексные соединения, оксиметилурацил, аскорбиновая кислота, сукцинат натрия, ацетилцистеин

### BIOCHEMICAL STATUS OF EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER SUBACUTE EXPOSURE TO ACRYLAMIDE AND ON THE BACKGROUND OF CORRECTION

Repina E. F.<sup>1</sup>, Timasheva G. V.<sup>1</sup>, Karimov D. O.<sup>1</sup>, Bakirov A. B.<sup>1,2</sup>, Gimadieva A. R.<sup>3</sup>,  
Khusnutdinova N. Yu.<sup>1</sup>, Valova Ya. V.<sup>1</sup>, Karimov D. D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«Ufa research institute of occupational health and human ecology», Ufa, Russia

<sup>2</sup>Bashkirian State Medical University of the Russian Health Ministry, Ufa, Russia

<sup>3</sup>Ufa Institute of Chemistry UFRC RAS, Ufa, Russia

### SUMMARY

Acrylamide poses a certain threat to human health and it is relevant to conduct further fundamental research to study the mechanism of its action on the body and ways to correct the disorders caused by it. The toxicity of acrylamide

is associated with the formation of toxic metabolites and oxidative stress. The aim of the work was to study changes in biochemical parameters of blood serum of laboratory animals under subacute exposure to acrylamide and to evaluate the effectiveness of their preventive correction. Studies were performed on 30 white outbred female rats weighing 180-190 g. Acrylamide was administered at a dose of 20 mg/kg for 28 days. Correction of possible violations was carried out 1 hour before the introduction of the toxicant with complex compounds of oxymethyluracil. Despite the absence of statistically significant differences, the introduction of acrylamide at a dose of 20 mg/kg of animal body weight was accompanied by a change in the activity of the indicator enzymes AST, ALT, and alkaline phosphatase. At the same time, hypoproteinemia and dyslipidemia were detected, which indicated a functional insufficiency of liver cells. After the prophylactic administration of complex compounds of oxymethyluracil, there was a trend towards normalization of a number of studied biochemical parameters. For the final judgment on the protective efficacy of the complex compounds of oxymethyluracil with ascorbic acid, with sodium succinate and with acetylcysteine under the influence of acrylamide, it is necessary to continue research on longer periods of its exposure and with accompanying and restorative modes of administration of the studied complexes.

**Keywords: acrylamide, subacute action, biochemical status, correction, complex compounds, oxymethyluracil, ascorbic acid, sodium succinate, acetylcysteine**

Акриламид хорошо известен как синтетический материал, используемый в промышленности. Акриламид получил также широкую известность как канцерогенное, цито- и генотоксичное соединение, которое образуется в процессе высокотемпературного нагревания пищевых продуктов [1; 2; 3]. Акриламид обладает высокой растворимостью в воде и низким молекулярным весом, поэтому он быстро усваивается в организме [2; 4].

Токсичность акриламида связывают с образованием токсичных метаболитов, окислительным стрессом, нарушением распространения нервных сигналов, ультраструктурными и гистологическими дефектами в центральной нервной системе [5, 6, 7]. Имеются достоверные данные о влиянии акриламида на репродуктивную систему [8, 9, 10, 11, 12, 13]. Сообщалось также о вредном воздействии акриламида на печень экспериментальных животных [14, 15, 16].

В экспериментальных исследованиях доза акриламида 25 мг/кг массы тела крыс, вводимая в течение 21 дня, приводила к повышению показателей окислительного стресса, а также к значительному снижению уровня глутатиона в печени, активности ферментов печени (аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, супероксиддисмутазы, каталазы) [14]. При воздействии акриламида повышался уровень общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности, и понижался уровень липопротеинов высокой плотности [17].

Анализ данных литературы свидетельствует, что акриламид представляет определенную угрозу для здоровья человека и актуальным является проведение дальнейших фундаментальных исследований по изучению механизма его действия на организм и способов коррекции вызванных им нарушений. Проведенные ранее исследования свидетельствуют о целесообразности оценки антиоксидантной эффективности

препаратов на основе комплексных соединений оксиметилурацила (ОМУ) на различных моделях интоксикации в режимах профилактической, сопроводительной и восстановительной коррекции [18].

Цель данной работы – изучить изменения биохимических показателей сыворотки крови лабораторных животных при подостром воздействии акриламида и оценить эффективность их профилактической коррекции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследованиях использовали 30 белых аутбредных крыс-самок с исходной массой тела 180-190 г. Животных содержали на сбалансированном сухом корме и неограниченном доступе к воде в стандартных условиях вивария. Было сформировано 5 экспериментальных групп. Водный раствор акриламида вводился в дозе 20 мг/кг перорально в качестве токсиканта в течение 28 дней и был использован для групп крыс со второй по пятую. В качестве носителя и вещества отрицательного контроля (1 группа) применяли дистиллированную воду. Коррекцию возможных нарушений в опытных группах проводили за 1 час до введения токсиканта комплексными соединениями оксиметилурацила, синтезированными в Уфимском Институте химии УФИЦ РАН в наиболее эффективных дозах:

3 группа - 50 мг/кг МГ-1 (комплексное соединение оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой);

4 группа - 50 мг/кг МГ-2 (комплексное соединение оксиметилурацила с сукцинатом натрия);

5 группа - 500 мг/кг МГ-10 (комплексное соединение оксиметилурацила с ацетилцистеином).

При проведении эксперимента руководствовались международными принципами о гуманном отношении к животным Хельсинской декларации.

Биохимические показатели сыворотки крови животных, свидетельствующие о функциональном состоянии печени, определяли на фото-

метре лабораторном медицинском «Stat Fax 3300» (производство США, фирма «Awareness Technology»).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью Н-критерия Краскала–Уоллиса для попарного сравнения групп. Результаты считали статистически зна-

чимыми при  $p < 0,05$ . Результаты выражали в виде  $Me [Q1; Q3]$ , где  $Me$  – медиана,  $Q1$  – 1-й квартиль,  $Q3$  – 3-й квартиль.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследований представлены ниже в таблице.

Таблица

**Биохимические показатели сыворотки крови крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции**

Показатели	Группы				
	1	2	3	4	5
АСТ, Ед/л	239,65 [215,68; 261,73]	279,50 [254,43; 297,4]	289,20 [260,08; 330,75]	261,55 [253,15; 282,03]	273,80 [240,65; 308,83]
АЛТ, Ед/л	55,90 [53,50; 63,70]	53,40 [50,65; 56,80]	59,90 [55,18; 63,43]	57,30 [48,58; 63,98]	52,15 [47,50; 56,98]
ЛДГ, Ед/л	3297,75 [3112,20; 3654,08]	3254,75 [3135,65; 3659,83]	3399,50 [3072,15; 3598,45]	2744,00 [2678,25; 3548,15]	2883,95 [2663,73; 3042,70]
ЩФ, Ед/л	163,60 [101,88; 208,95]	131,90 [108,33; 183,73]	119,75 [106,68; 129,43]	135,20 [108,7; 263,35]	89,35 [77,03; 138,28]
Общий белок, г/л	68,45 [67,50; 69,83]	65,75 [64,98; 67,40]	69,45 [68,15; 70,80]	71,15 [67,48; 74,98]	66,65 [63,93; 70,98]
Альбумин, г/л	44,65 [44,13; 45,90]	42,75 [41,53; 44,95]	45,40 [43,5; 46,08]	45,95 [43,6; 48,43]	43,85 [41,58; 45,60]
Мочевая кислота, мкмоль/л	164,55 [138,58; 168,80]	166,20 [148,65; 183,70]	197,10 [155,73; 212,80]	184,20 [177,75; 195,13]	133,20 [96,13; 178,45]
Мочевина, ммоль/л	7,88 [6,99; 8,52]	6,58 [6,30; 7,47]	6,74 [6,22; 7,73]	6,49 [5,93; 7,19]	5,66 [4,54; 7,29]
Триглицериды, ммоль/л	0,48 [0,40; 0,84]	0,59 [0,50; 0,82]	0,66 [0,53; 0,75]	0,68 [0,53; 0,99]	0,38 [0,33; 0,82]
Холестерин, ммоль/л	1,64 [1,19; 2,05]	1,76 [1,61; 1,92]	1,91 [1,69; 2,26]	1,94 [1,59; 2,26]	1,75 [1,36; 1,98]

При сравнении активности аспартатамино-трансферазы (АСТ) в сыворотке крови экспериментальных животных значимых различий между группами не выявлено ( $K = 7,45$ ;  $p = 0,114$ ). Также не наблюдалось значимых различий между группами в активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) ( $K = 5,47$ ;  $p = 0,243$ ). У животных группы отрицательного контроля была установлена активность АЛТ на уровне 55,9 Ед/л [53,5; 63,7], в группе положительного контроля она несколько снизилась и составляла: 53,4 Ед/л [50,65; 56,8]. При профилактическом введении препаратов наблюдалось незначительное повышение активности фермента, а именно в крови животных группы МГ-1 определялось самая высокая активность фермента – 59,9 Ед/л [55,18; 63,43], у крыс группы МГ-2 – 57,3 Ед/л [48,58; 63,98]. У животных группы МГ-10 была

выявлена наименьшая среди всех обследованных групп активность АЛТ – 52,15 Ед/л [47,5; 56,98].

Изменения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови крыс не выявило статистически значимых различий между экспериментальными группами между ( $K = 7,88$ ;  $p = 0,096$ ). Уровень активности ЛДГ у крыс группы положительного контроля был немного ниже, чем в группе отрицательного контроля и составлял 3254,75 Ед/л [3135,65; 3659,83] и 3297,75 Ед/л [3112,2; 3654,08] соответственно. Введение с профилактической целью препарата МГ-1 значительно повысило значение активности фермента – 3399,5 Ед/л [3072,15; 3598,45]. Введение же препаратов МГ-2 и МГ-10 понизило значение активности фермента ниже уровня группы положительного контроля – 2744 Ед/л

[2678,25; 3548,15] и 2883,95 Ед/л [2663,73; 3042,7] соответственно.

При сравнении экспериментальных групп по активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови животных значимых различий не выявлено ( $K = 4,99$ ;  $p = 0,289$ ). Самая высокая активность ЩФ наблюдалась у крыс группы отрицательного контроля 163,6 Ед/л [101,88; 208,95]. У животных положительного контроля было установлено снижение активности фермента на 18,9% до уровня 131,9 Ед/л [108,33; 183,73]. Профилактическое введение препаратов не оказало существенного влияния на данный показатель.

При воздействии акриламида содержание общего белка в сыворотке крови лабораторных крыс понизилось и составило 65,75 г/л [64,98; 67,4], по сравнению с группой отрицательного контроля – 68,45 г/л [67,5; 69,83], однако эти различия также оказались статистически не значимыми ( $K = 8,40$ ;  $p = 0,078$ ) (рис.1).

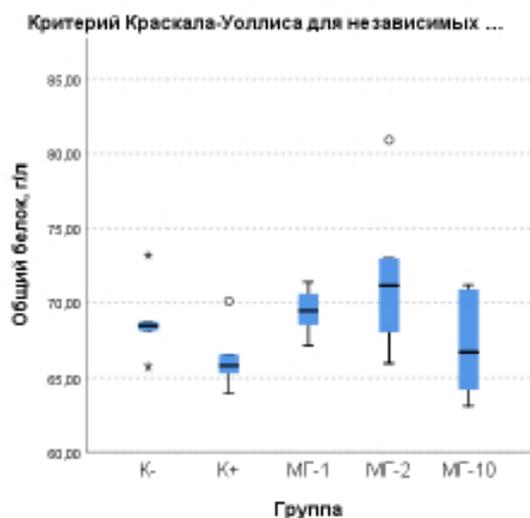


Рис. 1. Изменение уровня общего белка в сыворотке крови крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметиурацила

Из представленных на рис. 1 данных видно, что при профилактическом введении комплексных препаратов наблюдалась тенденция к нормализации содержания белка. Из препаратов лучше других проявил себя МГ-2, при его введении уровень белка повысился до значений 71,15 г/л [67,48; 74,98]. В группе, получавшей МГ-1, значения белка также было повышено до 69,45 г/л [68,15; 70,8], но влияние было слабее. Хуже наблюдался результат у животных в группе с МГ-10, в которой у крыс содержание белка не изменилось (66,65 г/л [63,93; 70,98]) по сравнению с положительным контролем.

При анализе уровня альбуминов у экспериментальных животных установлены аналогичные изменения (статистически не значимые:  $K = 6,19$ ;  $p = 0,186$ ), как и уровня общего белка (рис. 2). У животных группы отрицательного контроля средние значения альбумина были на уровне 44,65 г/л [44,13; 45,9]. В группе положительного контроля было выявлено понижение содержания альбуминов – 42,75 г/л [41,53; 44,95]. После введения соединений оксиметиурацила наблюдалась тенденция к нормализации уровня альбуминов. Из препаратов наиболее эффективным оказался МГ-2, при его введении содержание альбуминов в сыворотке крови повысилось до значений 45,95 г/л [43,6; 48,43], что соответствовало уровню альбуминов у животных отрицательного контроля. У животных, получавших МГ-1, также определялось тенденция к повышению уровня альбуминов до 45,4 г/л [43,5; 46,08]. Хуже наблюдался результат у животных в группе с МГ-10, в которой нормализация содержания альбуминов не была установлена и значения были 43,85 г/л [41,58; 45,6].

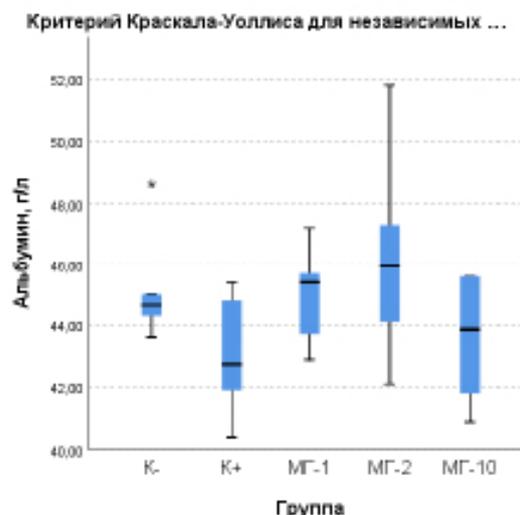


Рис. 2. Изменение уровня альбуминов в сыворотке крови крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметиурацила

Содержание мочевой кислоты (МК) в сыворотке крови лабораторных крыс в различных группах статистически значимо различалось ( $K = 10,19$ ;  $p = 0,037$ ). Так, уровень мочевой кислоты в группе отрицательного контроля составил 164,55 [138,58; 168,8]. В группе положительного контроля определялось незначительное повышение значений МК – 166,2 мкмоль/л [148,65; 183,7]. При введении препаратов МГ-1 и МГ-2 наблюдалось незначительное повышение данного показателя: до значений 197,1 мкмоль/л

[155,73; 212,8] и 184,2 мкмоль/л [177,75; 195,13], соответственно, но различия не достигли уровня статистической значимости между МГ-1 и группой отрицательного контроля ( $p = 0,338$ ), МГ-2 и отрицательным контролем ( $p = 0,199$ ). В группе МГ-10 уровень мочевой кислоты имел тенденцию к снижению и достиг 133,2 мкмоль/л [96,13; 178,45] ( $p = 1,000$ ).

Различия между группами в содержании мочевины в сыворотке крови лабораторных крыс не были статистически значимыми ( $K = 8,75$ ;  $p = 0,068$ ). У животных группы отрицательного контроля средние значения мочевины были 7,88 ммоль/л [6,99; 8,52]. В группе положительного контроля выявлено незначительное понижение уровня данного показателя 6,58 ммоль/л [6,3; 7,47]. Введение препаратов не оказало влияния на метаболизм мочевины, уровень которой у животных в группах после коррекции практически не изменялся и составил: у крыс в группе МГ-1 – 6,74 ммоль/л [6,22; 7,73], у крыс группы МГ-2 – 6,49 ммоль/л [5,93; 7,19]. У животных группы МГ-10 определялось наименьшее среди всех обследованных групп содержание мочевины в сыворотке крови 5,66 ммоль/л [4,54; 7,29].

В уровне холестерина в сыворотке крови животных также не было значимых различий между группами ( $K = 3,12$ ;  $p = 0,539$ ). Наименьший уровень холестерина в сыворотке крови наблюдался в группе отрицательного контроля: 1,64 ммоль/л [1,19; 2,05], под воздействием акриламида этот показатель несколько вырос: 1,76 ммоль/л [1,61; 1,92]. Профилактическое введение комплексных соединений также привело к повышению уровня холестерина и составило для группы МГ-1: 1,91 ммоль/л [1,69; 2,26], МГ-2: 1,94 ммоль/л [1,59; 2,26]. В группе МГ-10 значения показателя были определены на том же уровне, что и у животных положительного контроля: 1,75 ммоль/л [1,36; 1,98].

При анализе другого показателя липидного обмена - уровня триглицеридов у экспериментальных животных установлены аналогичные изменения, как и у общего холестерина. У животных группы отрицательного контроля средние значения триглицеридов были 0,48 ммоль/л [0,4; 0,84]. После введения акриламида этот показатель несколько вырос: 0,59 ммоль/л [0,5; 0,82]. Введение соединений оксиметиурацила также привело к повышению уровня триглицеридов и составило для группы МГ-1: 0,66 ммоль/л [0,53; 0,75], МГ-2: 0,68 ммоль/л [0,53; 0,99]. У животных в группе МГ-10 отмечалось понижение уровня показателя и составило: 0,38 ммоль/л [0,33; 0,82]. Однако, эти изменения не достигли уровня статистической значимости ( $K = 4,30$ ;  $p = 0,367$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Токсичность акриламида связывают с образованием токсичных метаболитов и окислительным стрессом [5; 6; 7]. При изучении изменений биохимических показателей сыворотки крови лабораторных животных при подостром воздействии акриламида установлено его токсическое влияние. Так, снизилась активность ферментов аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, что согласуется с данными литературы [14]. Уровень мочевины повысился, что может быть связано с активацией метаболических процессов под воздействием акриламида. Анализ показателей липидного обмена - уровня холестерина и триглицеридов показал, что под воздействием акриламида они стали выше, что свидетельствует о токсическом влиянии на печень. Данный факт подтверждает результаты исследований других авторов [17]. Снизилось также содержание общего белка и альбуминовой фракции, видимо вследствие нарушения белковосинтетической функции печени.

Ранее было установлено, что комплексные соединения оксиметиурацила с аскорбиновой кислотой (МГ-1), с сукцинатом натрия (МГ-2) и с ацетилцистеином (МГ-10) являются ангиогипоксантами [19-21]. Поскольку патологические процессы в организме, в том числе индуцированные воздействием химических веществ, зачастую имеют в своей основе окислительный стресс, и как следствие - гипоксическое состояние [22], представлялось актуальным изучить протекторное действие данных комплексных соединений.

Проведенные исследования показали, что эффективность профилактического введения комплексных соединений оксиметиурацила не однозначна. Так, введение препарата МГ-1 (оксиметиурацил с аскорбиновой кислотой) в профилактическом режиме оказало положительное влияние на активность ферментов аланинаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы, на уровень общего белка и альбуминовой фракции. Последнее позволяет предположить протекторное действие препарата на белковосинтетическую функцию гепатоцитов. Под влиянием данного соединения значительно повысился уровень мочевой кислоты. Введение препарата МГ-2 оказалось менее эффективным. Полученные результаты согласуются с данными исследований, в которых была установлена антиоксидантная эффективность аскорбиновой кислоты при воздействии акриламида [23].

Положительный эффект от профилактического введения комплексного соединения оксиметиурацила с ацетилцистеином (МГ-10) наблю-

дался только по показателям липидного обмена: уровня холестерина и триглицеридов. Данный факт может быть связан с антиоксидантными свойствами ацетилцистеина в составе МГ-10, поскольку он способствует синтезу глутатиона, принимающего участие в химической детоксикации организма [24].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, введение акриламида в дозе 20 мг/кг массы тела животных сопровождалось изменением активности индикаторных ферментов АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы. Одновременно обнаруживалась гипопропротеинемия и дислипидемия, что указывало на функциональную недостаточность клеток печени. После профилактического введения комплексных соединений оксиметилурацила наблюдалась тенденция к нормализации ряда исследуемых биохимических показателей. Для окончательного суждения о протекторной эффективности комплексных соединений оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, с сукцинатом натрия и с ацетилцистеином при воздействии акриламида необходимо продолжение исследований на более длительных сроках его воздействия и при сопроводительном и восстановительном режимах введения изучаемых комплексов.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem.* 2002;50(17):4998–5006. doi:10.1021/jf020302f.
2. Zhao S. Protective effect of *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 on acrylamide-induced oxidative damage in rats. *Applied Biological Chemistry.* 2020;63(1):1-14. doi:10.1186/s13765-020-00527-9.
3. Naous G. E. Z., Merhi A., Abboud M.I., Mroueh M., Taleb R.I. Carcinogenic and neurotoxic risks of acrylamide consumed through caffeinated beverages among the lebanese population // *Chemosphere.* 2018. 208: 352-357. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.05.185.
4. Altinoz E., Turkoz Y., Vardi N. The protective effect of N-acetylcysteine against acrylamide toxicity in liver and small and large intestine tissues. *Bratislavske lekarske listy.* 2015;116(4):252-258. doi:10.4149/bll\_2015\_049.
5. Lopachin R. M., Barber D. S. Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic

neurotoxicants. *Toxicol sci.* 2006;94:240-255. doi:10.1093/toxsci/kfl066

6. El-Sayyad H. I., El-Gammal H. L., Habak L. A., Abdel-Galil H. M., Fernando A., Gaur R. L., Ouhtit A. Structural and ultrastructural evidence of neurotoxic effects of fried potato chips on rat postnatal development. *Nutrition.* 2011;27(10):1066-75. doi:10.1016/j.nut.2011.06.008

7. Pingot D., Pyrzanowski K., Michałowicz J., Bukowska B. Toxicity of acrylamide and its metabolite – glycidamide. *Med pracy.* 2013;64(2):259-270.

8. Hułas-Stasiak M., Dobrowolski P., Tomaszewska E., Kostro K. Maternal acrylamide treatment reduces ovarian follicle number in newborn guinea pig offspring // *Reproductive toxicology.* 2013;42:125-131. doi:10.1016/j.reprotox.2013.08.007.

9. Wei Q., Li J., Li X., Zhang L., Shi F. Reproductive toxicity in acrylamide treated female mice. *Reproductive Toxicology.* 2014;46:121–128. doi:10.1016/j.reprotox.2014.03.007.

10. Duan X., Wang Q. C., Chen K. L., Zhu C. C., Liu J., Sun S. C. Acrylamide toxic effects on mouse oocyte quality and fertility in vivo. *Sci Rep.* 2015;5:11562. doi:10.1038/srep11562

11. Aras D., Cakar Z., Ozkavukcu S., Can A., Cinar O. In Vivo acrylamide exposure may cause severe toxicity to mouse oocytes through its metabolite glycidamide. *PLoS One.* 2017;12(2):2017-2026. doi:10.1371/journal.pone.0172026.

12. Yilmaz B. O., Yildizbayrak N., Aydin Y., Erkan M. Evidence of acrylamide- and glycidamide-induced oxidative stress and apoptosis in Leydig and Sertoli cells. *Hum Exp Toxicol.* 2017;36(12):1225-1235. doi:10.1177/0960327116686818

13. Li M., Sun J., Zou F., Bai S., Jiang X., Jiao R. Glycidamide inhibits progesterone production through reactive oxygen species-induced apoptosis in R2C Rat Leydig Cells. *Food Chem Toxicol.* 2017;108:563–570. doi:10.1016/j.fct.2016.09.035.

14. Gedik S., Erdemli M. E., Gul M., Yigitcan B., Bag H. G., Aksungur Z., Altinoz E. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomed Pharmacother.* 2019;95:764–770. doi:10.1016/j.biopha.2017.08.139

15. Ghorbel I., Elwej A., Chaabene M., Boudawara O., Marrakchi R., Jamoussi K. et al. Effects of acrylamide graded doses on metallothioneins I and II induction and DNA fragmentation: biochemical and histomorphological changes in the liver of adult rats. *Toxicol Ind Health.* 2017;33(8):611. doi:10.1177/0748233717696613

16. Erfan O. S., Sonpol H. M. A., Abd Elkader M. Protective effect of rapamycin against acrylamide induced hepatotoxicity: The associations between autophagy, apoptosis, and necroptosis. *Anat Rec (Hoboken)*. 2021;304(9):1984-1998. doi: 10.1002/ar.24587.

17. Kim S. M., Baek J. M., Lim S. M., Kim J. Y., Kim J., Choi I. Modified lipoproteins by acrylamide showed more atherogenic properties and exposure of acrylamide induces acute hyperlipidemia and fatty liver changes in zebrafish. *Cardiovasc Toxicol*. 2015;15(4):300. doi: 10.1007/s12012-014-9294-7.

18. Репина Э. Ф., Каримов Д. О. Опыт изучение новых комплексных соединений, обладающих антигипоксическими свойствами, и их использование для коррекции токсических повреждений печени. *Медицина труда и экология человека*. 2020;4:71-78. doi: 10.24412/2411-3794-2020-10410

19. Репина Э. Ф., Гимадиева А. Р., Мышкин В. А., Бакиров А. Б., Тимашева Г. В., Хуснутдинова Н. Ю., Смолянкин Д. А. Антигипоксическая активность нового комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия. *Токсикологический вестник*. 2017; 2:40-42. doi:10.36946/0869-7922-2017-2-40-42

20. Репина Э. Ф., Мышкин В. А., Каримов Д. О., Тимашева Г. В., Хуснутдинова Н. Ю., Смолянкин Д. А., Байгильдин С. С., Бакиров А. Б., Гимадиева А. Р. Антигипоксическая активность комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. *Токсикологический вестник*. 2018;4:20-23. doi:10.36946/0869-7922-2018-4-20-23

21. Патент РФ на изобретение № 2751632 С1. Оpubл. 15.07.2021. Репина Э. Ф., Гимадиева А. Р., Каримов Д. О., Кудояров Э. Р., Хуснутдинова Н. Ю., Тимашева Г. В. Комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с N-ацетилцистеином, проявляющее антигипоксическую активность, и способ его получения. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46476456>. Ссылка активна на 07.10.2022.

22. Копцов С. В., Вахрушев А. Е., Павлов Ю. В. Современные аспекты применения антигипоксантов в медицине критических состояний. *Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости*. 2002; 2:54-56.

23. Dortaj H., Yadegari M., Abad M., Sarcheshmeh A., Anvari M. Stereological method for assessing the effect of vitamin C administration on the reduction of acrylamide-induced neurotoxicity. *Basic and Clinical Neuroscience*. 2018; 9(1):27-34. doi:10.29252/nirp.bcn.9.1.27

24. Батагов С. Я. Ацетилцистеин в лечении инфекций нижних дыхательных путей у взрослых. *Лечащий врач*. 2014; 10: 68-71.

## REFERENCES

1. Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem*. 2002;50(17):4998–5006. doi:10.1021/jf020302f

2. Zhao S. Protective effect of *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 on acrylamide-induced oxidative damage in rats. *Applied Biological Chemistry*. 2020;63(1):1-14. doi: 10.1186/s13765-020-00527-9

3. Naous G. E. Z., Merhi A., Abboud M.I., Mroueh M., Taleb R.I. Carcinogenic and neurotoxic risks of acrylamide consumed through caffeinated beverages among the lebanese population // *Chemosphere*. 2018. 208: 352-357. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.05.185

4. Altinoz E., Turkoz Y., Vardi N. The protective effect of N-acetylcysteine against acrylamide toxicity in liver and small and large intestine tissues. *Bratislavske lekarske listy*. 2015;116(4):252-258. doi:10.4149/bll\_2015\_049

5. Lopachin R. M., Barber D. S. Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic neurotoxicants. *Toxicol sci*. 2006;94:240-255. doi:10.1093/toxsci/kfl066

6. El-Sayyad H. I., El-Gammal H. L., Habak L. A., Abdel-Galil H. M., Fernando A., Gaur R. L., Ouhtit A. Structural and ultrastructural evidence of neurotoxic effects of fried potato chips on rat postnatal development. *Nutrition*. 2011;27(10):1066-75. doi: 10.1016/j.nut.2011.06.008

7. Pingot D., Pyrzanowski K., Michałowicz J., Bukowska B. Toxicity of acrylamide and its metabolite – glycidamide. *Med pracy*. 2013;64(2):259-270.

8. Hułas-Stasiak M., Dobrowolski P., Tomaszewska E., Kostro K. Maternal acrylamide treatment reduces ovarian follicle number in newborn guinea pig offspring. *Reproductive toxicology*. 2013;42:125-131. doi:10.1016/j.reprotox.2013.08.007

9. Wei Q., Li J., Li X., Zhang L., Shi F. Reproductive toxicity in acrylamide treated female mice. *Reproductive Toxicology*. 2014;46:121–128. doi:10.1016/j.reprotox.2014.03.007

10. Duan X., Wang Q. C., Chen K. L., Zhu C. C., Liu J., Sun S. C. Acrylamide toxic effects on mouse oocyte quality and fertility in vivo. *Sci Rep*. 2015;5:11562. doi: 10.1038/srep11562

11. Aras D., Cakar Z., Ozkavukcu S., Can A., Cinar O. In Vivo acrylamide exposure may cause severe toxicity to mouse oocytes through its metabolite glycidamide. *PLoS One*. 2017;12(2):2017-2026. doi:10.1371/journal.pone.0172026

12. Yilmaz B. O., Yildizbayrak N., Aydin Y., Erkan M. Evidence of acrylamide- and glycidamide-

- induced oxidative stress and apoptosis in Leydig and Sertoli cells. *Hum Exp Toxicol.* 2017;36(12):1225-1235. doi:10.1177/0960327116686818
13. Li M., Sun J., Zou F., Bai S., Jiang X., Jiao R. Glycidamide inhibits progesterone production through reactive oxygen species-induced apoptosis in R2C Rat Leydig Cells. *Food Chem Toxicol.* 2017;108: 563–570. doi:10.1016/j.fct.2016.09.035
14. Gedik S., Erdemli M. E., Gul M., Yigitcan B., Bag H. G., Aksungur Z., Altinoz E. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomed Pharmacother.* 2017;95:764–770. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.139
15. Ghorbel I., Elwej A., Chaabene M., Boudawara O., Marrakchi R., Jamoussi K. Effects of acrylamide graded doses on metallothioneins I and II induction and DNA fragmentation: biochemical and histomorphological changes in the liver of adult rats. *Toxicol Ind Health.* 2017;33(8): 611. doi:10.1177/0748233717696613
16. Erfan O. S., Sonpol H. M. A., Abd Elkader M. Protective effect of rapamycin against acrylamide induced hepatotoxicity: The associations between autophagy, apoptosis, and necroptosis. *Anat Rec (Hoboken).* 2021;304(9):1984-1998. doi: 10.1002/ar.24587
17. Kim S. M., Baek J. M., Lim S. M., Kim J. Y., Kim J., Choi I. Modified lipoproteins by acrylamide showed more atherogenic properties and exposure of acrylamide induces acute hyperlipidemia and fatty liver changes in zebrafish. *Cardiovasc Toxicol.* 2015;15(4):300. doi: 10.1007/s12012-014-9294-7
18. Repina E. F., Karimov D. O. Experience of studying new complex compounds with antihypoxic properties and their use for correcting toxic liver damage. *Medicina truda i ekologiya cheloveka (Occupational medicine and human ecology, Russian journal).* 2020; 4:71-78. (In Russ.). doi:10.24412/2411-3794-2020-10410.
19. Repina E. F., Gimadieva A. R., Myshkin V. A., Bakirov A. B., Timasheva G. V., Khusnutdinova N. Yu., Smolyankin D. A. Anti-hypoxic activity of the new complex compound of oxymethyluracil with sodium succinate. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological Review)* 2017; 2:40-42. (In Russ.). doi:10.36946/0869-7922-2017-2-40-42.
20. Repina E. F., Myshkin V. A., Karimov D. O., Timasheva G. V., Khusnutdinova N. Yu., Smolyankin D. A., Baigildin S. S., Bakirov A. B., Gimadieva A. R. Antihypoxic activity of the complex compound of oxymethyluracil with ascorbic acid. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological Review).* 2018; 4:20-23. (In Russ.). doi:10.36946/0869-7922-2018-4-20-23.
21. Patent RU № 2751632 C1. Publ. 07.15.2021. Repina E. F., Gimadieva A. R., Karimov D. O., Kudoyarov E. R., Khusnutdinova N. Yu., Timasheva G. V. A complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil with n-acetylcysteine, showing antihypoxic activity, and a method for its preparation. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46476456> The link is active as of 10/07/2022. (In Russ.).
22. Koptsov S.V., Vakhrushev A. E., Pavlov Yu. V. Modern aspects of the use of antihypoxants in critical care medicine. *Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti (New St. Petersburg medical magazine).* 2002; 2:54-56. (In Russ.).
23. Dortaj H., Yadegari M., Abad M., Sarcheshmeh A., Anvari M. Stereological method for assessing the effect of vitamin C administration on the reduction of acrylamide-induced neurotoxicity. *Basic and Clinical Neuroscience.* 2018; 9(1):27-34. doi:10.29252/nirp.bcn.9.1.27
24. Batagov S. Ya. Acetylcysteine in the treatment of lower respiratory tract infections in adults. *Attending doctor.* 2014;10:68-71. (In Russ.).

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗАМИ 2 ГР И 8 ГР

Шаповалова Е. Ю.<sup>1</sup>, Демьяшкин Г. А.<sup>2</sup>, Саакян С. В.<sup>1</sup>, Каракаева Э. Б-Г<sup>1</sup>, Зорин И. А.<sup>2</sup>,

Марукян А. Х.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)», 119048, ул. Трубецкая, 8, стр.2, Москва, Россия

Для корреспонденции: Демьяшкин Григорий Александрович, к.м.н., заведующий лабораторией гистологии ИТМиБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, Head of Department of Hystology, ITM of Sechenov University, e-mail: dr.dga@mail.ru

### Information about authors:

Shapovalova E. Y., <http://orcid.org/0000-0003-2544-7696>

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Saakian S. V., <https://orcid.org/0000-0001-8606-8716>

Karakaeva E. B-G., <https://orcid.org/0000-0001-9833-3433>

Zorin I. A., <https://orcid.org/0000-0002-1621-7015>

Marukyan A. Kh., <https://orcid.org/0000-0002-4619-7385>

### РЕЗЮМЕ

Для успешной терапии злокачественных новообразований применяются различные методы, которые включают в себя хирургическое лечение, химиотерапию и лучевую терапию. Однако, прямое и косвенное воздействие ионизирующего сопряжено с рядом побочных эффектов для пациента. Эпителий толстой кишки относится к одной из наиболее радиочувствительных структур, так как занимает большую площадь и может быть подвержен действию облучения при абдоминальной, тазовой и торакальной лучевой терапии. В связи с активным внедрением в клиническую практику линейных ускорителей электронов исследования их эффектов на толстую кишку, а именно развитие гастроинтестинального синдрома и скорость регенерации эпителия, являются актуальными, а работы в данном направлении практически отсутствуют. Цель исследования – морфологическая оценка эпителия толстой кишки после локального облучения электронами дозой 2 Гр и 8 Гр. Материалы и методы. Животные – половозрелые крысы линии Вистар (n=50) были поделены на три группы: I – контрольная (n=10); в остальных группах однократно локально облучали брюшной сегмент электронами дозами 2 Гр – II группа (n=20), и 8 Гр – III группа (n=20). Результаты. При микроскопическом изучении фрагментов II группы на 1 сутки наблюдали незначительные изменения с редукцией бокаловидных клеток, которые были восстановлены на 3 сутки. Во фрагментах толстой кишки животных III группы через 1 сутки после облучения (8 Гр) наблюдали морфологическую картину постлучевого колита с выраженной потерей бокаловидных клеток и снижением глубины кишечных крипт. На 3 сутки отмечали восстановление гистоархитектоники толстой кишки: расположение и строение кишечных крипт, количество бокаловидных клеток приблизились к контрольным значениям. Заключение. Облучение электронами способно вызвать нарушение гистоархитектоники толстой кишки, преимущественно с повреждением пула стволовых клеток. Однократное повреждение электронами толстой кишки дозами 2 Гр и 8 Гр носят обратимый дозозависимый характер.

**Ключевые слова:** облучение электронами, толстая кишка, крипта, бокаловидные клетки

### MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE COLON EPITHELIUM AFTER ELECTRON IRRADIATION WITH DOSES OF 2 GY AND 8 GY.

Shapovalova E. Y.<sup>1</sup>, Demyashkin G. A.<sup>2</sup>, Saakian S. V.<sup>1</sup>, Karakaeva E. B-G.<sup>1</sup>, Zorin I. A.<sup>2</sup>, Marukyan A. Kh.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institution «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

<sup>2</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

### SUMMARY

Various methods are used to successfully treat malignant neoplasms, which include surgery, chemotherapy and radiation therapy. However, direct and indirect exposure of irradiation is associated with several side effects for the patient. The epithelium of the colon is one of the most radiosensitive structures, as it occupies a large area and can be exposed to radiation during abdominal, pelvic and thoracic radiation therapy. In connection with the active introduction of linear electron accelerators into clinical practice, studies of their effects on the large intestine, namely the development of gastrointestinal syndrome and the rate of epithelial regeneration, are relevant, and there are practically no works in this direction. The purpose of the study was a morphological assessment of the colon epithelium after local electron

irradiation with a dose of 2 Gy and 8 Gy. Materials and methods. Animals – adult Wistar rats (n=50) were divided into three groups: I - control (n=10); in other groups, the abdominal segment was locally irradiated once with electrons at doses of 2 Gy - group II (n=20), and 8 Gy - group III (n=20). Results. Microscopic examination of fragments of II group on 1st day showed minor changes with a reduction in goblet cells, which were restored on 3rd day. In fragments of the large intestine of animals of group III, 24 hours after irradiation (8 Gy), a morphological picture of post-radiation colitis was observed with a pronounced loss of goblet cells and a decrease in the depth of intestinal crypts. On the 3rd day, the restoration of the histoarchitectonics of the large intestine was noted: the location and structure of the intestinal crypts, the number of goblet cells approached the control values. Conclusion. Irradiation with electrons can cause a violation of the histoarchitectonics of the colon, mainly with damage to the pool of stem cells. One-time electron damage to the colon with doses of 2 Gy and 8 Gy is reversible dose-dependent.

**Key words: electron irradiation, colon, crypt, goblet cells**

В настоящее время число онкологических пациентов по всему миру приближается к 25 миллионам человек, а в течение последующих 20 лет прогнозируется увеличение до 75 миллионов [1; 2]. Для успешной терапии злокачественных новообразований применяются различные методы, которые включают в себя хирургическое лечение, химиотерапию и лучевую терапию [3]. Однако, прямое и косвенное воздействие ионизирующего сопряжено с рядом побочных эффектов для пациента.

Облучение приводит к повреждению генетического материала опухолевых клеток, что приводит к запуску апоптотических путей и деструкции клеток, а высвобождение большого количества свободных радикалов кислорода сопровождается дисбалансом в функционировании антиоксидантной системы: снижается количество глутатиона на фоне увеличения малондальдегида [4].

Несмотря на активное развитие локальной радиотерапии, когда облучению подвергается только определенная область, лучевая терапия все еще остается неизбирательным методом, при котором совместно с пораженными клетками могут погибать окружающие ткани.

Эпителий толстой кишки относится к одной из наиболее радиочувствительных структур, так как занимает большую площадь и может быть подвержен действию облучения при абдоминальной, тазовой и торакальной лучевой терапии. Как уже было показано в предыдущих исследованиях, быстро обновляемые эпителиальные ткани являются наиболее зависимыми от радиационного облучения, так как при десквамации эпителия и цитотоксическом воздействии на стволовые клетки невозможно адекватно восстановить функциональный слой. Однако, глубина и степень повреждения от вида и способа облучения [5; 6].

В связи с активным внедрением в клиническую практику линейных ускорителей электронов исследования их эффектов на толстую кишку, а именно развитие гастроинтестинального синдрома и скорость регенерации эпителия, являются актуальными, а работы в данном направлении практически отсутствуют.

Цель исследования: морфологическая оценка эпителия толстой кишки после локального облучения электронами дозой 2 Гр и 8 Гр.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные – половозрелые крысы линии Вистар (n=50) были поделены на три группы: I – контрольная (n=10); в остальных группах однократно локально облучали брюшной сегмент электронами дозами 2 Гр – II группа (n=20), и 8 Гр – III группа (n=20).

Облучение животных проводили в отделе радиационной биофизики МРНЦ имени А.Ф. Цыба (г. Обнинск, Россия) на линейном акселераторе “NOVAC-11” (мощность дозы 1 Гр/мин, энергия 10 МэВ и частота 9 Гц, размер поля – Ø 100 мм).

По половине животных из каждой группы выводили из эксперимента на 1 и 3 сутки.

Все манипуляции выполняли согласно «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Гистологическое исследование.

Фрагменты ободочной кишки фиксировали в забуферном формалине, заливали в парафиновые блоки, нарезали на микротоме толщиной 3 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопический анализ выполняли с помощью системы видео-микроскопии (микроскоп Leica DM2000, Германия; камера Leica ICC50 HD; компьютер Platrun LG), количество бокаловидных клеток подсчитывали в 10 различных полях зрения с захватом целой крипты.

Статистический анализ был выполнен с использованием t-критерия Стьюдента. Для всех сравнений значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При макроскопическом исследовании толстой кишки (ободочной) через 24 часа после облучения дозой 8 Гр наблюдали отек стенки, с единичными эрозиями слизистой оболочки, а на

3 сутки: наличие спаечного процесса, сужение просвета кишечника, гипертрофию мышечной оболочки.

При микроскопическом исследовании образцов толстой кишки после облучения электронами дозой 2 Гр на 1 сутки отмечали слабую редукцию бокаловидных клеток (табл. 1). Через 3 суток после облучения численность бокаловидных клеток была восстановлена. Количество клеток с фигурами митоза, то есть обладающие пролиферативной активностью, было незначительно увеличено по сравнению с предыдущим сроком (рис. 1).

Во фрагментах толстой кишки животных III группы через 1 сутки после облучения (8 Гр)

наблюдали морфологическую картину постлучевого колита: деструктивные изменения однослойного цилиндрического эпителия с наличием апоптотических телец и интраэпителиальной и интрамукозной воспалительной инфильтрации, интерстициальный отек. Количество бокаловидных клеток и глубина крипт были снижены, а сами кишечные крипты – незначительно расширены. В просветах кровеносных сосудов обнаружили единичные тромботические массы. На 3 сутки отмечали восстановление гистоархитектоники толстой кишки: расположение и строение кишечных крипт, количество бокаловидных клеток приблизилось к контрольным значениям (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

Результаты гистоморфометрических исследований глубины кишечных крипт в контрольной и экспериментальных группах

	2 Гр (II)		8 Гр (III)		Контроль (I)
	1 сутки	3 сутки	1 сутки	3 сутки	
Бокаловидные клетки	23,30±1,89 <sup>a</sup>	26,5±1,85	21,65±2,13 <sup>b</sup>	26,05±2,26	27,10±2,02

Примечание: <sup>a</sup>контроль (I) и II группа, <sup>b</sup>контроль (I) и III группа;  $p < 0.01$

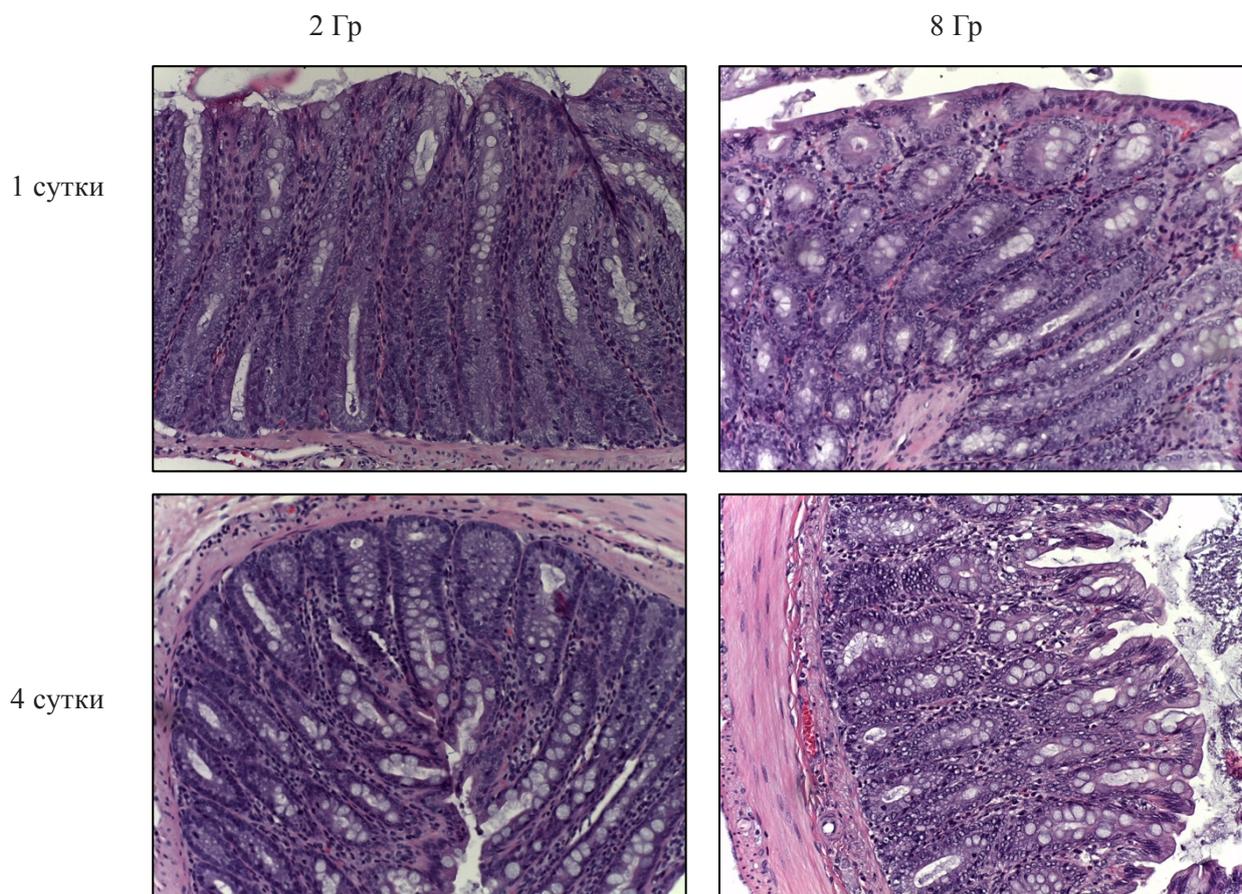


Рис. 1. Микроскопическая картина кишечных крипт толстой кишки через 1 и 3 сутки после облучения электронами дозами 2 Гр и 8 Гр. Окраска: Гематоксилин и эозин, увелич. х200.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе изучали морфологические изменения в стенке толстого кишечника после острого лучевого повреждения электронами дозами 2 Гр и 8 Гр. Результаты эксперимента оценивали в двух временных точках, определение которых было основано на пролиферативных циклах эпителия толстой кишки.

При облучении электронами дозой 2Гр через 1 сутки после повреждения в толстой кишке не наблюдается существенных нарушений гистоархитектоники, однако, оценивая сократившееся количество бокаловидных клеток, можно говорить об индуцированном запуске апоптотических процессов в слизистой оболочке, что согласуется с исследованиями других авторов, в которых описываются другие виды острого лучевого повреждения толстой кишки [1; 7; 8]. Наблюдаемое через 3 суток увеличение количества митотических клеток свидетельствует об активном процессе пролиферации и регенерации кишечного эпителия. После облучения электронами в дозе 8 Гр на 1 сутки наблюдаются более существенные изменения в гистологическом строении толстой кишки. Обнаруженная миграция иммунных клеток, десквамация эпителия и изменение размера крипт позволяют сделать вывод о дозозависимом эффекте ионизирующего излучения на толстую кишку. Известно, что полное обновление клеток слизистой оболочки толстой кишки в норме занимает 3–5 дней, поэтому изменения, выявленные на 1 сутки, говорят о функциональной недостаточности стволовых клеток, которая вызвана острым лучевым повреждением электронами [9; 10].

Как уже было показано в работах других авторов, скорость регенерации эпителиоцитов зависит от количества стволовых клеток в кишечных криптах: при уменьшении количества стволовых клеток снижается скорость регенерации, однако, даже при наличии одной стволовой клетки возможна полная регенерация эпителия [11; 12]. Таким образом, можно говорить о том, что увеличение дозы ионизирующего излучения влияет не только на функциональные эпителиоциты, но и на стволовые клетки, что приводит к замедлению процессов пролиферации.

Через 3 суток после эксперимента в II и III группе наблюдали восстановление нормальной гистоархитектоники, однако у животных III группы количество бокаловидных клеток все еще не было полностью восстановлено, что указывает на незавершенный процесс регенерации.

Таким образом, по результатам нашего эксперимента, можно говорить о том, что в толстом кишечнике ярко выражен дозозависимый эффект

повреждения, а облучение электронами, по всей видимости, в наибольшей степени воздействует на стволовые клетки и замедляет естественные процессы пролиферации и регенерации ткани, что приводит к нарушению клеточного гомеостаза. Так же необходимо отметить, что, облучение электронами в дозе 2 Гр и 8 Гр не является фатальным для экспериментальных животных и толстого кишечника, так как в течение эксперимента мы не наблюдали гибель животных и клинические признаки толстокишечной недостаточности. Тем не менее, стоит продолжить изучение влияния лучевого повреждения электронами на толстый кишечник с использованием иммуногистохимического, молекулярно-генетического и химических методов исследования для точного установления механизмов воздействия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Облучение электронами способно вызвать нарушение гистоархитектоники толстой кишки, преимущественно с повреждением пула стволовых клеток. Однократное повреждение электронами толстой кишки дозами 2 Гр и 8 Гр носят обратимый дозозависимый характер.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Mercantepe F., Topcu A., Rakici S., Tumkaya L., Yilmaz A. The effects of N-acetylcysteine on radiotherapy-induced small intestinal damage in rats. *Exp Biol Med.* 2019;244(5):372–9. doi:10.18926/AMO/30946.
2. Mathur P., Sathishkumar K., Chaturvedi M., Das P., Sudarshan K. L., Santhappan S., и др. *Cancer Statistics, 2020: Report From National Cancer Registry Programme. India. JCO Glob Oncol.* 2020;(6):1063–75. doi:10.1200/GO.20.00122
3. Koom W. S., Sai S., Suzuki M., Fujimori A., Yamada S., Tsujii H. Superior Effect of the Combination of Carbon-Ion Beam Irradiation and 5-Fluorouracil on Colorectal Cancer Stem Cells in vitro and in vivo. *Oncotargets Ther.* 2020;13:12625–35. doi:10.2147/OTT.S276035.
4. Wiehe M., Fernández García M., Hidalgo S., Moll M., Otero Ugobono S., Parzefall U., и др. Study of the radiation-induced damage mechanism in proton irradiated low gain avalanche detectors and its thermal annealing dependence. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect Accel Spectrometers Detect Assoc Equip.* 2021;986:164814. doi:10.1016/j.nima.2020.164814.
5. Muschel R. J., Hammond E. M., Dewhirst M. W. A New Assay to Measure Intestinal

- Crypt Survival after Irradiation: Challenges and Opportunities. *Cancer Res.* 2020;80(5):927–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-4045.
6. Kumagai T., Rahman F., Smith A. M. The Microbiome and Radiation Induced-Bowel Injury: Evidence for Potential Mechanistic Role in Disease Pathogenesis. *Nutrients.* 2018;10(10):1405. doi:10.3390/nu10101405.
  7. Pejchal J., Novotný J., Mařák V., Österreicher J., Tichý A., Vávrová J., и др. Activation of p38 MAPK and expression of TGF- $\beta$ 1 in rat colon enterocytes after whole body  $\gamma$ -irradiation. *Int J Radiat Biol.* 2012;88(4):348–58. doi: 10.3109/09553002.2012.654044.
  8. Weiber S., Bjelkengren Gör., Rank F., Jiborn H., Zederfeldt B. Radiation Effects in the Colon: An Experimental Study in the Rat. *Acta Oncol.* 1993;32(5):565–9. doi: 10.3109/02841869309096119.
  9. Karmakar S., Deng L., He X. C., Li L. Intestinal epithelial regeneration: active versus reserve stem cells and plasticity mechanisms. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 2020;318(4):G796–802. doi: 10.1152/ajpgi.00126.2019.
  10. Liu Y., Chen Y. G. Intestinal epithelial plasticity and regeneration via cell dedifferentiation. *Cell Regen.* 2020;9:14. doi: 10.1186/s13619-020-00053-5.
  11. Hageman J. H., Heinz M. C., Kretzschmar K., van der Vaart J., Clevers H., Snippert H. J. G. Intestinal Regeneration: Regulation by the Microenvironment. *Dev Cell.* 2020;54(4):435–46. doi: 10.1016/j.devcel.2020.07.009.
  12. Rees W. D., Tandun R., Yau E., Zachos N. C., Steiner T. S. Regenerative Intestinal Stem Cells Induced by Acute and Chronic Injury: The Saving Grace of the Epithelium? *Front Cell Dev Biol.* 2020;8. doi: 10.3389/fcell.2020.583919.
- REFERENCES**
1. Mercantepe F., Topcu A., Rakici S., Tumkaya L., Yilmaz A. The effects of N-acetylcysteine on radiotherapy-induced small intestinal damage in rats. *Exp Biol Med.* 2019;244(5):372–9. doi:10.18926/AMO/30946.
  2. Mathur P., Sathishkumar K., Chaturvedi M., Das P., Sudarshan K. L., Santhappan S., и др. *Cancer Statistics, 2020: Report From National Cancer Registry Programme. India. JCO Glob Oncol.* 2020;(6):1063–75. doi:10.1200/GO.20.001223.
  - Koom W. S., Sai S., Suzuki M., Fujimori A., Yamada S., Tsujii H. Superior Effect of the Combination of Carbon-Ion Beam Irradiation and 5-Fluorouracil on Colorectal Cancer Stem Cells in vitro and in vivo. *OncoTargets Ther.* 2020;13:12625–35. doi:10.2147/OTT.S276035.
  4. Wiehe M., Fernández García M., Hidalgo S., Moll M., Otero Ugobono S., Parzefall U., и др. Study of the radiation-induced damage mechanism in proton irradiated low gain avalanche detectors and its thermal annealing dependence. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect Accel Spectrometers Detect Assoc Equip.* 2021;986:164814. doi: 10.1016/j.nima.2020.164814.
  5. Muschel R. J., Hammond E. M., Dewhirst M. W. A New Assay to Measure Intestinal Crypt Survival after Irradiation: Challenges and Opportunities. *Cancer Res.* 2020;80(5):927–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-4045.
  6. Kumagai T., Rahman F., Smith A. M. The Microbiome and Radiation Induced-Bowel Injury: Evidence for Potential Mechanistic Role in Disease Pathogenesis. *Nutrients.* 2018;10(10):1405. doi:10.3390/nu10101405.
  7. Pejchal J., Novotný J., Mařák V., Österreicher J., Tichý A., Vávrová J., и др. Activation of p38 MAPK and expression of TGF- $\beta$ 1 in rat colon enterocytes after whole body  $\gamma$ -irradiation. *Int J Radiat Biol.* 2012;88(4):348–58. doi: 10.3109/09553002.2012.654044.
  8. Weiber S., Bjelkengren Gör., Rank F., Jiborn H., Zederfeldt B. Radiation Effects in the Colon: An Experimental Study in the Rat. *Acta Oncol.* 1993;32(5):565–9. doi: 10.3109/02841869309096119.
  9. Karmakar S., Deng L., He X. C., Li L. Intestinal epithelial regeneration: active versus reserve stem cells and plasticity mechanisms. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 2020;318(4):G796–802. doi: 10.1152/ajpgi.00126.2019.
  10. Liu Y., Chen Y. G. Intestinal epithelial plasticity and regeneration via cell dedifferentiation. *Cell Regen.* 2020;9:14. doi: 10.1186/s13619-020-00053-5.
  11. Hageman J. H., Heinz M. C., Kretzschmar K., van der Vaart J., Clevers H., Snippert H. J. G. Intestinal Regeneration: Regulation by the Microenvironment. *Dev Cell.* 2020;54(4):435–46. doi: 10.1016/j.devcel.2020.07.009.
  12. Rees W. D., Tandun R., Yau E., Zachos N. C., Steiner T. S. Regenerative Intestinal Stem Cells Induced by Acute and Chronic Injury: The Saving Grace of the Epithelium? *Front Cell Dev Biol.* 2020;8. doi: 10.3389/fcell.2020.583919.

## ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИТЕЛИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗАМИ 2 ГР И 8 ГР

Шаповалова Е. Ю.<sup>1</sup>, Демьяшкин Г. А.<sup>2</sup>, Каракаева Э. Б-Г<sup>1</sup>, Саакян С. В.<sup>1</sup>, Зорин И. А.<sup>2</sup>,

Марукян А. Х.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)», 119048, ул. Трубецкая, 8 стр.2, Москва, Россия

Для корреспонденции: Демьяшкин Григорий Александрович, к.м.н., заведующий лабораторией гистологии ИТМиБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, Head of Department of Hystology, ITM of Sechenov University, e-mail: dr.dga@mail.ru

### Information about authors:

Shapovalova E. Y., <http://orcid.org/0000-0003-2544-7696>

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Saakian S. V., <https://orcid.org/0000-0001-8606-8716>

Karakaeva E. B-G., <https://orcid.org/0000-0001-9833-3433>

Zorin I. A., <https://orcid.org/0000-0002-1621-7015>

Marukyan A. Kh., <https://orcid.org/0000-0002-4619-7385>

### РЕЗЮМЕ

Сегодня за счёт своего цитотоксического действия лучевая терапия применяется приблизительно в половине случаев лечения злокачественных новообразований. Ключевой проблемой современной лучевой терапии по-прежнему остается экранирование здоровых тканей в зоне облучения, особенно с внедрением новых способов облучения, например, электронами. Одним из наиболее перспективных для исследования органов является кишечник, который может повреждаться, как при тазово-абдоминальной, так и при торакальной радиотерапии. Цель исследования – морфологическая оценка эпителия тощей кишки после локального облучения электронами дозой 2 Гр и 8 Гр. Материал и методы. Крысы породы Вистар (n=50) были поделены на три группы: I – контрольная (n=10); в остальных группах однократно локально облучали брюшной сегмент электронами дозами 2 Гр (II группа) (n=20) и 8 Гр (III группа) (n=20). Полученные образцы исследовали на 1 и 3 сутки гистологическим и морфометрическим методом. Результаты. У II и III группы наблюдали нарушение гистоархитектоники с редукцией клеток Панета и бокаловидных клеток, снижение высоты кишечных ворсин и глубины кишечных крипт через 1 сутки после облучения электронами. На 3 сутки во II и III группе наблюдали тенденцию к восстановлению структуры, количества эпителиоцитов и морфометрических характеристик системы «ворсина-крипта». Показатели II группы приблизились к контрольным значениям, а III группы – не достигли целевых показателей необлученной ткани. Заключение. Воздействие облучения электронами на тощую кишку приводит к уменьшению высоты кишечных ворсин и глубины кишечных крипт и деструктивным изменениям слизистой оболочки, которые частично или полностью нивелируются через 3 суток после облучения в зависимости от дозы.

**Ключевые слова:** облучение электронами, тощая кишка, морфометрия, ворсина, крипта

### HISTOMORPHOMETRIC FEATURES OF THE JEJUNUM EPITHELIUM AFTER ELECTRON IRRADIATION WITH DOSES OF 2 GY AND 8 GY.

Shapovalova E. Y.<sup>1</sup>, Demyashkin G. A.<sup>2</sup>, Karakaeva E. B-G.<sup>1</sup>, Saakian S. V.<sup>1</sup>, Zorin I. A.<sup>2</sup>, Marukyan A. Kh.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institution «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

<sup>2</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia.

### SUMMARY

Today radiation therapy is partly associated with the development of malignant neoplasms. Damage of healthy tissues during irradiation (e.g., electrons) remains a key problem in modern radiotherapy. One of the most promising organs for research is the intestine, which can be damaged both during pelvic-abdominal and thoracic radiotherapy. The purpose of the study was a morphological assessment of the epithelium of the jejunum after local electron irradiation with a dose of 2 Gy and 8 Gy. Material and methods. Wistar rats (n=50) were divided into three groups: I – control (n=10); in the other groups, the abdominal segment was irradiated once with electrons at doses of 2 Gy (group II) (n=20) and 8 Gy (group III) (n=20). Research studies were obtained on the 1st and 3rd day by the histological and morphometric method. Results. In groups II and III, a violation of histoarchitectonics was observed with a reduction of Paneth cells and goblet cells, a decrease in the height of intestinal villi and the depth of intestinal crypts for a period of

1 day after electron irradiation. On the 3rd day, in groups II and III, a tendency was observed to restore the structure, the number of epitheliocytes, and the morphometric characteristics of the villi-crypt system. The indicators of group II approached the control values, and group III did not reach the target indicators of non-irradiated tissue. Conclusion. The impact of electron irradiation on the jejunum leads to a decrease in the height of intestinal villi and the depth of intestinal crypts and destructive changes in the mucous membrane, which are partially or completely restored 3 days after exposure, depending on the dose.

**Key words:** electron irradiation, jejunum, morphometry, villus, crypt

Основные виды ионизирующего излучения (альфа, бета и гамма) отличаются длиной волны и их проникающей способностью. Прямые эффекты облучения проявляются мутациями и генотоксическими изменениями структуры ДНК, а косвенные эффекты приводят к ионизации цитозоля и повреждению клеточных структур [1; 2].

Сегодня за счёт своего цитотоксического действия лучевая терапия применяется приблизительно в половине случаев лечения злокачественных новообразований. Несмотря на недавние успехи в использовании локального облучения, исследование побочных эффектов радиационного воздействия и их профилактика являются чрезвычайно актуальными. Наиболее восприимчивыми к воздействию радиоактивных частиц относятся слизистые оболочки полых органов, кожа и органы кроветворения [3]. Ключевой проблемой современной лучевой терапии по-прежнему остается экранирование здоровых тканей в зоне облучения, особенно с внедрением новых способов облучения, например, электронами [4; 5].

Одним из наиболее перспективных для исследования органов является кишечник, который может повреждаться, как при тазово-абдоминальной, так и при торакальной радиотерапии. Чаще всего радиационное повреждение приводит к развитию хронического радиационного энтерита, который сильно снижает качество жизни пациентов [6–9].

Однослойный цилиндрический эпителий тонкой кишки является одной из наиболее быстро обновляющихся тканей у взрослых млекопитающих, у мышей этот период оценивается в 3–5 суток. Быстрая регенерация обеспечивается активной дифференцировкой стволовых клеток [10], которые могут быть повреждены после облучения, что приводит к нарушению регенеративной и пролиферативной активности тонкокишечного эпителия. Это в первую очередь вызывает нарушение барьерной функции системы «ворсина-крипта» и клинически проявляется острым лучевым энтеритом [11]. В эксперименте на мышах было установлено, что гамма-облучение высокими дозами (от 10 Гр до 16 Гр) приводит к необратимым нарушениям гисторхитектоники тонкой кишки, а данные по

использованию низких и средних доз противоречивы [11].

Таким образом, внедрение перспективных методов лучевой терапии, таких как облучение электронами, требует проведения экспериментальных исследований для установления эффективной дозы радиации и предельной дозы для окружающих здоровых тканей.

Цель исследования: морфологическая оценка эпителия тощей кишки после локального облучения электронами дозой 2 Гр и 8 Гр.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные – половозрелые крысы линии Вистар (n=50) были поделены на три группы: I – контрольная (n=10); в остальных группах однократно локально облучали брюшной сегмент электронами дозами 2 Гр (II группа) (n=20) и 8 Гр (III группа) (n=20).

Облучение животных проводили в отделе радиационной биофизики МРНЦ имени А.Ф. Цыба (г. Обнинск, Россия) на линейном акселераторе “NOVAC-11” (мощность дозы 1 Гр/мин, энергия 10 МэВ и частота 9 Гц, размер поля – Ø 100 мм).

По половине животных из каждой группы выводили из эксперимента на 1 и 3 сутки.

Все манипуляции выполняли согласно «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Гистологическое и морфометрическое исследование.

Фрагменты тощей кишки фиксировали в забуференом формалине, заливали в парафиновые блоки, нарезали на микротоме толщиной 3 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопический анализ выполняли с помощью системы видео-микроскопии (микроскоп Leica DM2000, Германия; камера Leica ICC50 HD), морфометрические данные получали с использованием программного обеспечения для обработки и анализа изображений Leica Application Suite, Version 4.9.0. При этом определяли высоту ворсинок и глубину кишечных крипт в 10 полях зрения светового микроскопа при ув. x100.

Для анализа количество бокаловидных клеток было выбрано 10 случайных полей зрения,

включавших в себя целиком кишечную ворсину и крипту. Подсчет количества клеток Панета осуществлялся в 10 случайных полях зрения, включавших в себя тонкокишечные крипты.

Полученные в результате подсчета данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 12 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). Данные выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Сравнения проводились с использованием дисперсионного анализа. Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Микроскопическое исследование. В тощей кишке контрольной группы не выявили признаков воспаления и опухолевого роста, а также нарушения гистоархитектоники на 1 и 3 сутки.

Во всех образцах тощей кишки у животных, облученных электронами дозой 2 Гр (II группа) на 1 сутки обнаружили незначительное снижение количества бокаловидных клеток в эпителии ворсинок и кишечных крипт в 1,07 раза по сравнению с группой контроля, а также редукцию клеток Панета в 1,15 раза по сравнению с группой контроля в кишечных криптах. В собствен-

ной пластинке слизистой оболочки наблюдали слабую воспалительную инфильтрацию (рис. 1). Напротив, на 3 сутки количество бокаловидных клеток и клеток Панета приближалось к контрольным значениям (табл. 1).

При исследовании образцов III группы через 24 часа после облучения дозой 8Гр обнаружили выраженную лимфогистиоцитарную клеточную инфильтрацию собственной пластинки и слизистой. Отмечали утолщенную слизистую оболочку за счет тканевого отека. Количество бокаловидных клеток и клеток Панета было сокращено по сравнению с контрольной группой в 1,37 и 1,57 раза соответственно (табл. 1). В слизистой оболочке было нарушено соотношение «ворсина-крипта» за счет значительного сокращения количества и высоты кишечных ворсин, наблюдали десквамацию эпителия. На 3 сутки после облучения отмечали увеличение и расширение кишечных крипт за счет активного регенеративного процесса – восстановление количества бокаловидных клеток и клеток Панета (табл. 1), а также исчезновение тканевого отека. В собственной пластинке слизистой оболочки сохранялась слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация (рис. 1).

Таблица 1

**Результаты гистоморфометрических исследований высоты ворсин и глубины крипт в контрольной и экспериментальных группах**

	2 Гр (II)		8 Гр (III)		Контроль (I)
	1 сутки	3 сутки	1 сутки	3 сутки	
Бокаловидные клетки	24,62 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>	26,12 $\pm$ 1,27 <sup>a</sup>	19,23 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	23,57 $\pm$ 1,36 <sup>b</sup>	26,34 $\pm$ 1,78
Клетки Панета	2,68 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	2,97 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	1,96 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>	2,72 $\pm$ 0,43 <sup>b</sup>	3,07 $\pm$ 0,23

**Примечание:** <sup>a</sup>контроль (I) и II группа, <sup>b</sup>контроль (I) и III группа;  $p < 0,01$

При оценке высоты кишечных ворсин и глубины кишечных крипт было обнаружено, что изменения в тощей кишке при радиационно-индуцированном повреждении носят дозозависимый характер. В II группе средняя высота ворсин соответствовала контрольным значениям во всех временных точках. Глубина крипт вначале уменьшилась, а на 3 сутки восстановилась до контрольных значений (табл. 2). В III группе обнаружили резкое снижение морфометрических показателей в системе «ворсина-крипта». Через сутки высота ворсин сократилась в 1,9 раза, а через 3 суток – в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой. Аналогичные уменьшения отмечали при измерении глубины крипт: через 1 сутки – в 2,5 раза, через 3 суток – в 2,3 раза (табл. 2, рис. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе исследовали морфофункциональные изменения в системе «ворсина-крипта» после облучения электронами дозами 2 Гр и 8 Гр. Сравнительный анализ проводили в двух временных точках, учитывая циклы пролиферации эпителия тощей кишки.

Обнаруженное через сутки после облучения электронами снижение высоты кишечных ворсин и кишечных крипт были обусловлены редукцией каемчатого эпителия, так как щеточные энтероциты и стволовые клетки являются чрезвычайно чувствительными к воздействию ионизирующего излучения. Со стороны микроокружения (эффект свидетеля) отмечали местные воспалительные реакции в виде интерстициального отека и лимфоцитарно-гистиоцитарной ин-

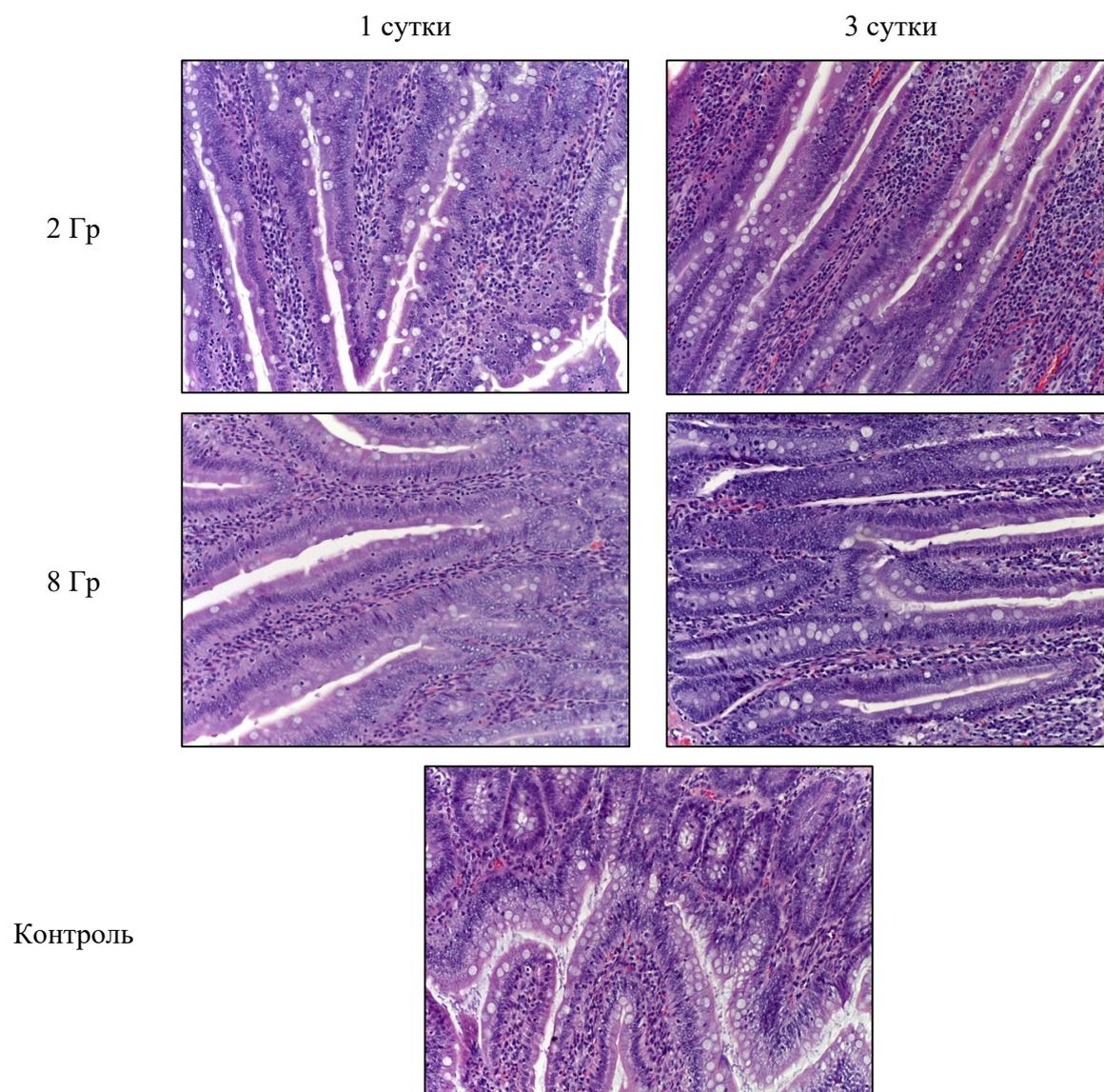
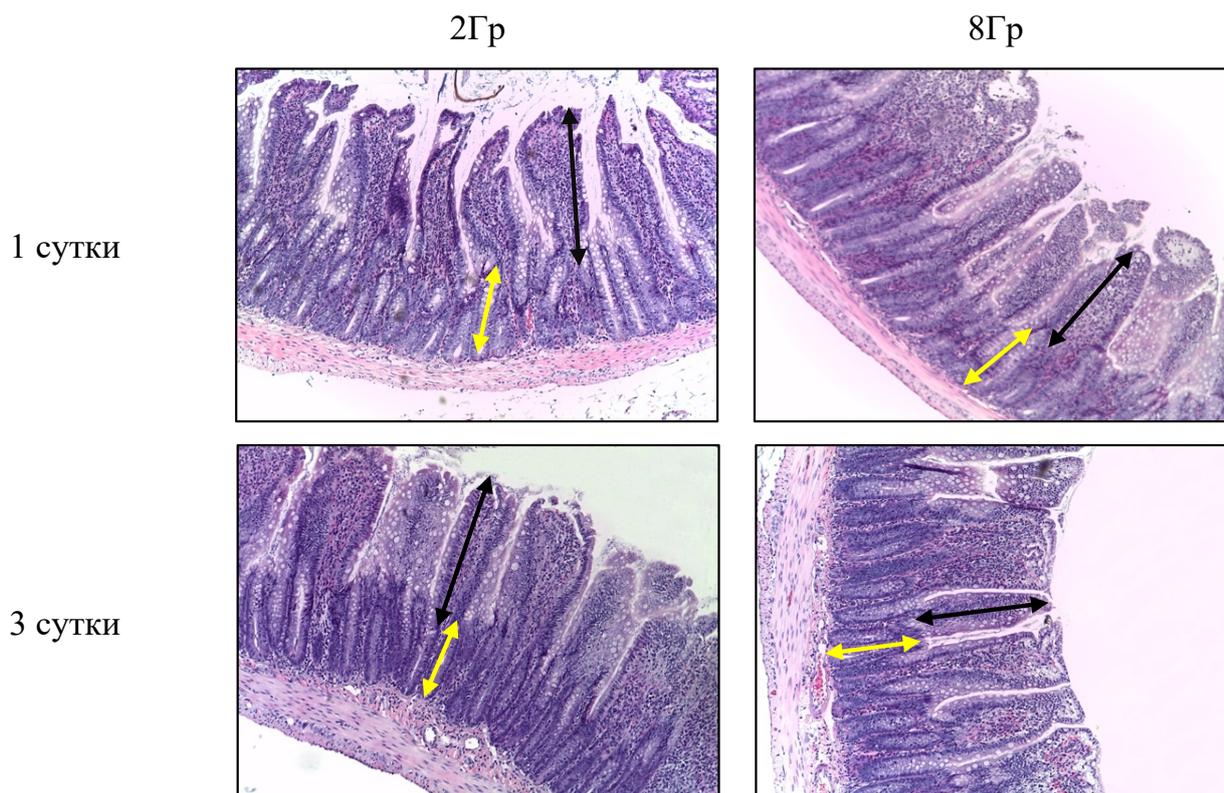


Рис. 1. Ворсины и крипты в контрольной и экспериментальных группах. Окраска: Гематоксилин и эозин, увелич. x200.

Таблица 2  
Результаты морфометрического исследования высоты кишечных ворсин и глубины кишечных крипт в контрольной и экспериментальных группах

Группа	Срок	Высота кишечной ворсины (мкм)	Глубина кишечной крипты (мкм)
Контроль (I)	1 сутки	380,9 ± 58	128,4 ± 34
	3 суток	371,6 ± 46	126,2 ± 22
2Гр (II)	1 сутки	353,1 ± 43 <sup>a</sup>	114,4 ± 12 <sup>a</sup>
	3 суток	363,4 ± 37 <sup>a</sup>	122,7 ± 28 <sup>a</sup>
8Гр (III)	1 сутки	203,4 ± 52 <sup>b</sup>	50,3 ± 27 <sup>b</sup>
	3 суток	212,3 ± 63 <sup>b</sup>	54,7 ± 31 <sup>b</sup>

Примечание: <sup>a</sup>контроль (I) и II группа, <sup>b</sup>контроль (I) и III группа; p < 0.01



**Рис. 2. Морфометрическая оценка высоты ворсины (черная метка) и глубины крипт (желтая метка) в экспериментальных группах. Окраска: Гематоксилин и эозин, увелич.  $\times 100$ .**

фильтрации [12; 13]. Степень выявленных патоморфологических изменений была более выражена после воздействия электронами дозой 8 Гр, что частично согласуется с ранее опубликованными данными о радиационном повреждении кишечника, где использовали другие виды облучения [14–16]. Изменение гистоархитектоники тощей кишки в системе «ворсина-крипта» приводит к нарушению полостного, пристеночного и мембранного пищеварения и снижению барьерной функции.

Через 3 суток после облучения электронами наблюдали восстановление эпителия тощей кишки в экспериментальных группах: после 2 Гр – полное, а 8 Гр – частичное, что указывает на активацию регенеративно-пролиферативных процессов. Известно, что пролиферативная активность тощей кишки зависит от глубины крипт, так как здесь происходит дифференцировка стволовых клеток и их дальнейшая миграция, таким образом глубину крипты можно рассматривать в качестве предикторов степени радиационного повреждения [17; 18].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в тощей кишке степень постлучевого повреждения и регенерации коррелирует с дозой облучения электронами.

В ходе настоящего исследования установлено, что облучение электронами приводит к истощению пула стволовых клеток эпителия

тощей кишки и деструктивным изменениям в системе «ворсина-крипта», что манифестирует в виде кишечной недостаточности [19, 20]. Однако, следует продолжить дальнейшее изучение влияния облучения электронами на слизистую оболочку тощей кишки с применением иммуногистохимических, молекулярно-биологических и генетических методов исследования.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воздействие облучения электронами на тощую кишку приводит к уменьшению высоты кишечных ворсин и глубины кишечных крипт и деструктивным изменениям слизистой оболочки, которые частично или полностью нивелируются через месяц после облучения в зависимости от дозы.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Valentini V., Boldrini L., Mariani S., Massaccesi M. Role of radiation oncology in modern multidisciplinary cancer treatment. *Mol Oncol.* 2020;14(7):1431–41. doi:10.1002/1878-0261.12712.

2. Kareliotis G., Tremi I., Kaitatzi M., Drakaki E., Serafetinides A. A., Makropoulou M., и др. Combined radiation strategies for novel and enhanced cancer treatment. *Int J Radiat Biol.* 2020;96(9):1087–103. doi: 10.1080/09553002.2020.1787544
3. Graupner A., Eide D. M., Instanes C., Andersen J. M., Brede D. A., Dertinger S.D. Gamma radiation at a human relevant low dose rate is genotoxic in mice. *Sci Rep.* 2016;6(1):32977. doi: 10.1038/srep32977.
4. Paillas S., Ladjohounlou R., Lozza C., Pichard A., Boudousq V., Jarlier M., и др. Localized Irradiation of Cell Membrane by Auger Electrons Is Cytotoxic Through Oxidative Stress-Mediated Nontargeted Effects. *Antioxid Redox Signal.* 2016;25(8):467–84. doi: 10.1089/ars.2015.6309.
5. Borgekov D. B., Zdorovets M. V., Shlimas D. I., Kozlovskiy A. L., Kadyrzhanov K. K. The Study of the Applicability of Electron Irradiation for FeNi Microtubes. *Modification. Nanomaterials.* 2019;10(1):47. doi: 10.3390/nano10010047.
6. Somosy Z., Horváth G., Telbisz Á., Réz G., Pálfia Z. Morphological aspects of ionizing radiation response of small intestine. *Micron.* 2002;33(2):167–78. doi: 10.1016/s0968-4328(01)00013-0.
7. Araujo I. K., Muñoz-Guglielmetti D., Mollà M. Radiation-induced damage in the lower gastrointestinal tract: Clinical presentation, diagnostic tests and treatment options. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2020;48–49:101707. doi: 10.1016/j.bpg.2020.101707.
8. Denham J. W., Hauer-Jensen M. The radiotherapeutic injury – a complex ‘wound’. *Radiother Oncol.* 2002;63(2):129–45. doi: 10.1016/s0167-8140(02)00060-9.
9. Das U., Sengupta A., Biswas S., Adhikary A., Dey Sharma R., Chakraborty A., и др. Alteration of murine duodenal morphology and redox signalling events by reactive oxygen species generated after whole body  $\gamma$ -irradiation and its prevention by ferulic acid. *Free Radic Res.* 2017;51(11–12):886–910. doi:10.1080/10715762.2017.1388916
10. Marshman E., Booth C., Potten C. S. The intestinal epithelial stem cell. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* 2002;24(1):91–8. doi: 10.1002/bies.10028.
11. Booth C., Tudor G., Tudor J., Katz B. P., MacVittie T. The Acute Gastrointestinal Syndrome in High-Dose Irradiated Mice. *Health Phys.* 2012;103(4):383–99. doi: 10.1097/hp.0b013e318266ee13.
12. Ermakov A. V., Kon’kova M. S., Kostyuk S. V., Smirnova T. D., Kameneva L. V., Vejko R. V., и др. Razvitie Effekta Svidetelya V Mezenhimal’nyh Stvolovyh Kletkah Cheloveka Posle Vozdejstviya Rentgenovskogo Izlucheniya V Adaptiruyushchej Doze. *Radiacionnaya Biologiya Radioekologiya.* 2010;50(1).
13. Vorobcova I. E., Kolesnikova I. S. Issledovanie Radiacionno-Inducirovannogo «Effekta Svidetelya» Na Modeli Adaptivnogo Otveta V Sovmestnoj Kul’ture Limfocitov Lyudej Raznogo Pola. *Radiacionnaya Biologiya Radioekologiya.* 2007;47(6).
14. Cai Y., Wang W., Liang H., Sun L., Teitelbaum D. H., Yang H. Keratinocyte growth factor pretreatment prevents radiation-induced intestinal damage in a mouse model. *Scand J Gastroenterol.* 2013;48(4):419–26. doi: 10.3109/00365521.2013.772227.
15. Fernández-Gil B., Moneim A. E. A., Ortiz F., Shen Y. Q., Soto-Mercado V., Mendivil-Perez M. Melatonin protects rats from radiotherapy-induced small intestine toxicity. *PLoS ONE.* 2017;12(4). doi: 10.1371/journal.pone.0174474.
16. Livanova A. A., Fedorova A. A., Zavrisky A.V., Bikmurzina A. E., Krivoi I. I., Markov A. G. Dose and time dependence of functional impairments in rat jejunum following ionizing radiation exposure. *Physiol Rep.* 2021;9(15):e14960. doi: 10.14814/phy2.14960.
17. Park H. S., Goodlad R. A., Ahnen D. J., Winnett A., Sasieni P., Lee C. Y. Effects of epidermal growth factor and dimethylhydrazine on crypt size, cell proliferation, and crypt fission in the rat colon. Cell proliferation and crypt fission are controlled independently. *Am J Pathol.* 1997;151(3):843–52.
18. Potten C. S., Owen G., Roberts S. A. The Temporal and Spatial Changes in Cell Proliferation within the Irradiated Crypts of the Murine Small Intestine. *Int J Radiat Biol.* 1990;57(1):185–99. doi: 10.1080/09553009014550431.
19. Totonelli G., Maghsoudlou P., Garriboli M., Riegler J., Orlando G., Burns A. J. A rat decellularized small bowel scaffold that preserves villus-crypt architecture for intestinal regeneration. *Biomaterials.* 2012;33(12):3401–10. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.01.012.
20. Ding L. A., Li J. S. Intestinal failure: Pathophysiological elements and clinical diseases. *World J Gastroenterol.* 2004;10(7):930–3. doi: 10.3748/wjg.v10.i7.930.

## REFERENCES

1. Valentini V., Boldrini L., Mariani S., Massaccesi M. Role of radiation oncology in modern multidisciplinary cancer treatment. *Mol Oncol.* 2020;14(7):1431–41. doi:10.1002/1878-0261.12712.
2. Kareliotis G., Tremi I., Kaitatzi M., Drakaki E., Serafetinides A. A., Makropoulou

- M., и др. Combined radiation strategies for novel and enhanced cancer treatment. *Int J Radiat Biol.* 2020;96(9):1087–103. doi: 10.1080/09553002.2020.1787544
3. Graupner A., Eide D. M., Instanes C., Andersen J. M., Brede D. A., Dertinger S.D. Gamma radiation at a human relevant low dose rate is genotoxic in mice. *Sci Rep.* 2016;6(1):32977. doi: 10.1038/srep32977.
4. Paillas S., Ladjohounlou R., Lozza C., Pichard A., Boudousq V., Jarlier M., и др. Localized Irradiation of Cell Membrane by Auger Electrons Is Cytotoxic Through Oxidative Stress-Mediated Nontargeted Effects. *Antioxid Redox Signal.* 2016;25(8):467–84. doi: 10.1089/ars.2015.6309.
5. Borgekov D. B., Zdorovets M. V., Shlimas D. I., Kozlovskiy A. L., Kadyrzhanov K. K. The Study of the Applicability of Electron Irradiation for FeNi Microtubes. *Modification. Nanomaterials.* 2019;10(1):47. doi: 10.3390/nano10010047.
6. Somosy Z., Horváth G., Telbisz Á., Réz G., Pálfi Z. Morphological aspects of ionizing radiation response of small intestine. *Micron.* 2002;33(2):167–78. doi: 10.1016/s0968-4328(01)00013-0.
7. Araujo I. K., Muñoz-Guglielmetti D., Mollà M. Radiation-induced damage in the lower gastrointestinal tract: Clinical presentation, diagnostic tests and treatment options. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2020;48–49:101707. doi: 10.1016/j.bpg.2020.101707.
8. Denham J. W., Hauer-Jensen M. The radiotherapeutic injury – a complex ‘wound’. *Radiother Oncol.* 2002;63(2):129–45. doi: 10.1016/s0167-8140(02)00060-9.
9. Das U., Sengupta A., Biswas S., Adhikary A., Dey Sharma R., Chakraborty A., и др. Alteration of murine duodenal morphology and redox signalling events by reactive oxygen species generated after whole body  $\gamma$ -irradiation and its prevention by ferulic acid. *Free Radic Res.* 2017;51(11–12):886–910. doi:10.1080/10715762.2017.1388916
10. Marshman E., Booth C., Potten C. S. The intestinal epithelial stem cell. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* 2002;24(1):91–8. doi: 10.1002/bies.10028.
11. Booth C., Tudor G., Tudor J., Katz B. P., MacVittie T. The Acute Gastrointestinal Syndrome in High-Dose Irradiated Mice. *Health Phys.* 2012;103(4):383–99. doi: 10.1097/hp.0b013e318266ee13.
12. Ermakov A. V., Kon'kova M. S., Kostyuk S. V., Smirnova T. D., Kameneva L. V., Vejko R. V., и др. Razvitiye Effekta Svidetelya V Mezenhimal'nyh Stvolovyh Kletkah Cheloveka Posle Vozdejstviya Rentgenovskogo Izlucheniya V Adaptiruyushchej Doze. *Radiacionnaya Biologiya Radioekologiya.* 2010;50(1).
13. Vorobcova I. E., Kolesnikova I. S. Issledovanie Radiacionno-Inducirovannogo «Effekta Svidetelya» Na Modeli Adaptivnogo Otveta V Sovmestnoj Kul'ture Limfocitov Lyudej Raznogo Pola. *Radiacionnaya Biologiya Radioekologiya.* 2007;47(6).
14. Cai Y., Wang W., Liang H., Sun L., Teitelbaum D. H., Yang H. Keratinocyte growth factor pretreatment prevents radiation-induced intestinal damage in a mouse model. *Scand J Gastroenterol.* 2013;48(4):419–26. doi: 10.3109/00365521.2013.772227.
15. Fernández-Gil B., Moneim A. E. A., Ortiz F., Shen Y. Q., Soto-Mercado V., Mendivil-Perez M. Melatonin protects rats from radiotherapy-induced small intestine toxicity. *PLoS ONE.* 2017;12(4). doi: 10.1371/journal.pone.0174474.
16. Livanova A. A., Fedorova A. A., Zavirsky A.V., Bikmurzina A. E., Krivoi I. I., Markov A. G. Dose and time dependence of functional impairments in rat jejunum following ionizing radiation exposure. *Physiol Rep.* 2021;9(15):e14960. doi: 10.14814/phy2.14960.
17. Park H. S., Goodlad R. A., Ahnen D. J., Winnett A., Sasieni P., Lee C. Y. Effects of epidermal growth factor and dimethylhydrazine on crypt size, cell proliferation, and crypt fission in the rat colon. Cell proliferation and crypt fission are controlled independently. *Am J Pathol.* 1997;151(3):843–52.
18. Potten C. S., Owen G., Roberts S. A. The Temporal and Spatial Changes in Cell Proliferation within the Irradiated Crypts of the Murine Small Intestine. *Int J Radiat Biol.* 1990;57(1):185–99. doi: 10.1080/09553009014550431.
19. Totonelli G., Maghsoudlou P., Garriboli M., Riegler J., Orlando G., Burns A. J. A rat decellularized small bowel scaffold that preserves villus-crypt architecture for intestinal regeneration. *Biomaterials.* 2012;33(12):3401–10. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.01.012.
20. Ding L. A., Li J. S. Intestinal failure: Pathophysiological elements and clinical diseases. *World J Gastroenterol.* 2004;10(7):930–3. doi: 10.3748/wjg.v10.i7.930.

## ГЕНЕРАЦИЯ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ В БЕЗСЫВОРОТОЧНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Реган О. В.<sup>1</sup>, Гуртовая А. К.<sup>2</sup>, Аблаева Р. Н.<sup>2</sup>, Агеева Е. С.<sup>2</sup>, Самохвалов И. М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Центральная научно-исследовательская лаборатория, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

<sup>2</sup>Кафедра биологии медицинской, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

<sup>3</sup>Инжиниринговый Центр «Генетические и клеточные биотехнологии», ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5А, Симферополь, Россия

**Для корреспонденции:** Самохвалов Игорь Михайлович, кандидат биологических наук, заведующий отделом клеточных биотехнологий Инжинирингового Центра «Генетические и клеточные биотехнологии», ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, e-mail: igormikhail63@gmail.com

**For correspondence:** Igor M. Samokhvalov, lab head, Engineering Center for Gene and Cell Biotechnology, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: igormikhail63@gmail.com

### Information about authors:

Реган О. В., <https://orcid.org/0000-0001-9839-0761>

Гуртовая А. К., <https://orcid.org/0000-0001-8633-1166>

Аблаева Р. Н., <https://orcid.org/0000-0001-9542-6343>

Агеева Е. С., <https://orcid.org/0000-0003-3770-2965>

Samokhvalov I. M., <https://orcid.org/0000-0003-0175-6320>

### РЕЗЮМЕ

Дифференцировка моноцитов периферической крови в присутствии эмбриональной сыворотки телят и цитокинов является основным методом получения дендритных клеток с целью их применения в клинической практике. Миелоидные дендритные клетки – производные моноцитов периферической крови (моно-ДК) используются как ключевой элемент дендритно-клеточных вакцин (ДКВ) для борьбы с вирусными инфекциями и иммунотерапии раковых заболеваний. Целью работы являлось разработка метода очистки и дифференцировки моноцитов в культуральной среде, которая не содержит эмбриональной сыворотки. В ходе экспериментальной работы было установлено, что важным фактором успешной генерации моно-ДК является чистота получаемой моноцитарной фракции лейкоцитов. Соответственно, были подобраны условия для глубокой очистки (~100%) моноцитов с помощью магнитно-активированного клеточного сортирования (МАКС). Обнаружено, что смесь 1:1 двух широко используемых безсывороточных культуральных сред, Stemline II и mTeSR1, позволяет быстро и эффективно получать моно-ДК в присутствии ГМ-КСФ и ИЛ-4. Подобранные условия выделения моно-ДК позволяют создавать более безопасные и эффективные ДКВ.

**Ключевые слова:** дендритные клетки, моноциты, иммунотерапия, безсывороточные питательные среды

### GENERATION OF MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS IN DEFINED CULTURE CONDITIONS

Regan O. V.<sup>1</sup>, Gurtovaya A. K.<sup>1</sup>, Ablaeva R. N.<sup>1</sup>, Ageeva E. S.<sup>1</sup>, Samokhvalov I. M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

<sup>2</sup>Engineering Center for Gene and Cell Biotechnology, V.I. Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

### SUMMARY

Therapeutic dendritic cells are commonly generated from peripheral blood monocytes in the presence of fetal calf serum and cytokines. Monocyte-derived myeloid dendritic cells (mono-DCs) are the key element in DC vaccines which are used for cancer immunotherapy and against viral infections. In this work, we aimed to devise a defined mono-DC generation system that does not require the presence of fetal calf serum in the culture medium. We noticed that the purity on monocyte fraction of peripheral blood mononuclear cells were the key factor in the mono-DC derivation. We selected magnetic-activated cell sorting (MACS) conditions for isolation of practically pure monocytes for efficient derivation of mono-DCs. Furthermore, we found that commonly used defined cultural media, mTeSR1 and Stemline II, mixed in equal proportions, supported efficient and fast generation of mono-DCs in the presence of GM-CSF and IL-4. Optimized here mono-Dc derivation conditions create a basis for making safer and more efficient DC vaccines.

**Key words:** dendritic cells, monocytes, immunotherapy, serum-free culture media

Дендритные клетки (ДК) являются наиболее профессиональными антиген-презентирующими клетками и играют ключевую роль в активации адаптивной иммунной системы организма, а также в возникновении иммуно-толерантности [1; 2; 3]. В отличие от других профессиональных антиген-презентирующих клеток (макрофаги, В-клетки), ДК специализируются на локализации в тканях организма, непосредственно соприкасающихся с внешней средой: эпителии дыхательных путей, бронхов, альвеол, желудочно-кишечного тракта, эпидермальном и субэпидермальном слоях кожи. При возникновении инфекции, ДК активируются молекулярными паттернами патогенов, фагоцитируют эти патогены и перемещаются в ближайшие лимфатические узлы, где осуществляют антиген-специфическую активацию цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-хелперов, которые, в свою очередь, активируют и координируют В-клеточный иммунный ответ.

Центральная роль ДК в иммунной системе привела к идее использования антиген-специфичной активаторной функции ДК для иммунотерапии раковых заболеваний в виде ДКВ [4; 5]. Долгое время, наиболее простым методом получения ДК для ДКВ служила направленная дифференцировка моноцитов крови (периферической или пупочной) в миелоидные ДК. Стандартным методом получения ДК стало культивирование моноцитов в присутствии эмбриональной сыворотки телят и ряда цитокинов [6; 7]. Однако, существуют серьезные клинические и методические проблемы связанные с использованием эмбриональной сыворотки [8]. В связи с этим, возникла задача генерации моно-ДК в отсутствие эмбриональной сыворотки. Кроме того, в нашей работе моно-ДК служат сравнительным контролем качества ДК, получаемых из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) человека, поэтому было необходимо адаптировать моно-ДК к питательным средам, которые используются при дендритной дифференцировке иПСК.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выделение мононуклеарных клеток периферической крови проводили с помощью метода центрифугирования в градиенте плотности фикола. Для этого в 50 мл центрифужные пробирки помещали по 15 мл фикола с плотностью  $\rho=1,077$  г/см<sup>3</sup> и  $\rho=1,084$  г/см<sup>3</sup>. Свежую охлажденную во льду венозную кровь (90-100 мл), собранную в вакуумные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта (Ningbo Greetmed Instruments, Ningbo, China) разбавляли 4 объемами холодного (4°C) буфера 1×D-PBS (-Ca, -Mg),

содержащего 2 mM ЭДТА. Аккуратно наслаивали разбавленную кровь на фикола и центрифугировали 40 мин. при 400 g при 20°C, затем собирали мононуклеарную фракцию лейкоцитов крови, находящуюся на разделе фаз. Чтобы сконцентрировать мононуклеарные клетки крови и очистить их от тромбоцитов, полученную клеточную суспензию центрифугировали при 200 g в течение 10 мин. при 20°C.

Моноциты выделяли мононуклеарной фракции лейкоцитов крови с помощью МАКС и набора Pan Monocyte Isolation Kit human (#130-096-537), как описано у производителя (Miltenyi Biotec, Germany), с некоторыми модификациями. Очищенные моноциты собирали из элюатов с колонок типа LS и LD (LS Columns #130-042-401, LD Columns #130-042-901, Miltenyi Biotec). Суспензию моноцитов центрифугировали 5 мин. при 300g и 40C, и затем клетки либо замораживали в среде CryoStor10 (STEMCELL Technologies, Canada), либо инокулировали в питательную среду для последующего культивирования.

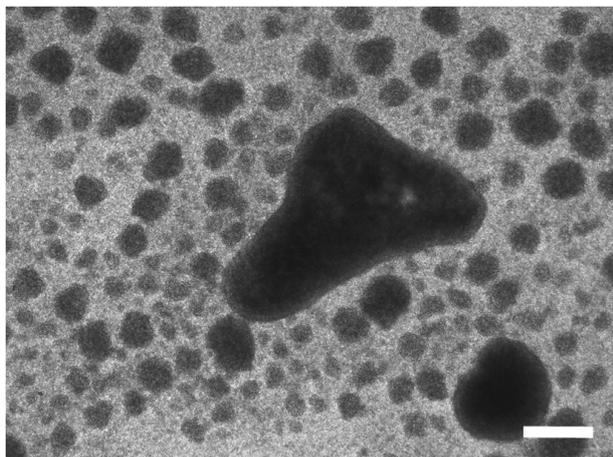
Дифференцировку моноцитов проводили в смеси безсывороточных сред Stemline®II и mTeSR1 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO; and STEMCELL Technologies, соответственно) без антибиотиков в присутствии 50 нг/мл рчGM-CSF и 50 нг/мл рчIL-4. Все использованные цитокины были от компании STEMCELL Technologies. Культуральную среду меняли каждый день. Клетки инкубировали при 37°C, 100% влажности, и в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Фотофиксацию клеток проводили при помощи инвертированного микроскопа Leica DMIL LED и цифровой камеры Leica DFC295.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

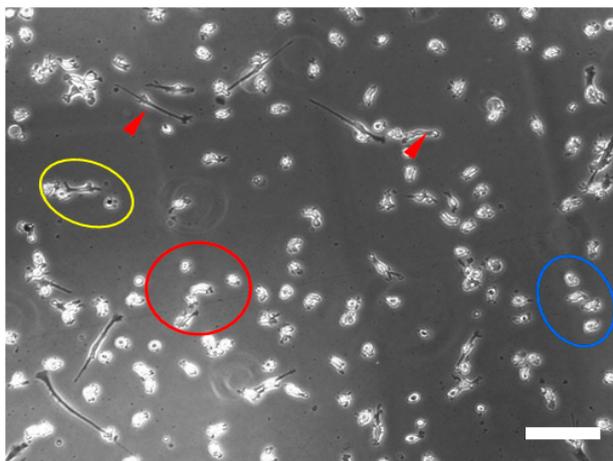
На первой стадии оптимизации протокола получения моно-ДК, тестировали эффективность выделения мононуклеарной фракции лейкоцитов крови при использовании трех препаратов фикола: 1) Ficoll-Paque™ PREMIUM 1.084 (Cytiva brand); 2) Ficoll-Paque™ PREMIUM 1.077 (Cytiva); 3) Фикола раствор, плотность 1,077 г/см<sup>3</sup> (ПанЭко, Россия). Обнаружили, что центрифугирование в градиенте плотности Ficoll-Paque™ PREMIUM 1.084 дает наибольший выход мононуклеарной фракции -  $3 \times 10^8$  клеток из 100 мл крови, против  $2 \times 10^8$  и  $1.7 \times 10^8$ , соответственно.

На следующем этапе подбирали условия для получения наиболее чистой фракции моноцитов с помощью Pan Monocyte Isolation Kit human и МАКС. Прямое следование протоколу Miltenyi Biotec с использованием LS Columns приводило к получению моноцитов, сильно загрязненных

лимфоцитарными клетками. Культивирование таких загрязненных моноцитов в условиях ДК-дифференцировки приводило к пролиферации лимфоидных клеток, что сопровождалось образованием массивных клеточных агрегатов (рис. 1). При этом терялся весь смысл очистки моноцитов, и на выходе получались клеточные популяции с минимальным содержанием ДК.

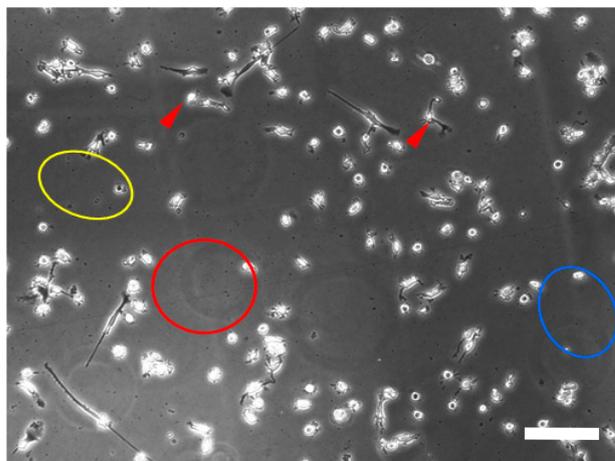


**Рис.1.** Клеточная агрегация на 14 сутки из-за плохо очищенных моноцитов. Масштабная шкала – 250 мкм.



Применение LD Columns по методике описанной производителем приводило к значительным потерям моноцитарной фракции. Проблема была решена следующим образом: 1) несвязавшиеся антитела отмывались центрифугированием в буфере 1×D-PBS (-Ca, -Mg), содержащем 0,5% БСА; 2) объем клеточной суспензии перед нанесением на колонку доводился до 2 мл (вместо 0,5 мл); 3) после нанесения образца, колонка интенсивно промывалась буфером (4 раза по 3 мл) и весь элюат объединялся для последующего центрифугирования. В итоге удалось добиться 10-15% выхода чистых моноцитов из тотальной мононуклеарной фракции. Такая чистая популяция моноцитов не образовывала гетерогенных агрегатов при ДК-дифференцировке (рис. 2).

В связи с тем, что параллельная ДК-дифференцировка и ПСК происходит в Stemline II и mTeSR1, осуществлялось тестирование именно этих безсывороточных сред. Мы использовали агрегацию незрелых моно-ДК с суммарной фракцией лимфоцитов как критерий, отражающий успешность генерации ДК. Суммарную фракцию лимфоцитов получали направленной элюцией (вне магнитного поля) клеток, связавшихся с материалом колонки при выделе-



**Рис.2.** Дифференцирующиеся (7-ой день) моно-ДК обладают значительной подвижностью в культуре. Среда mTeSR1/Stemline II (1:1). Разница по времени между левой и правой фотографиями – 60 мин. Овалы и стрелки показаны для ориентации в изменении положений клеток. Шкала – 100 мкм.

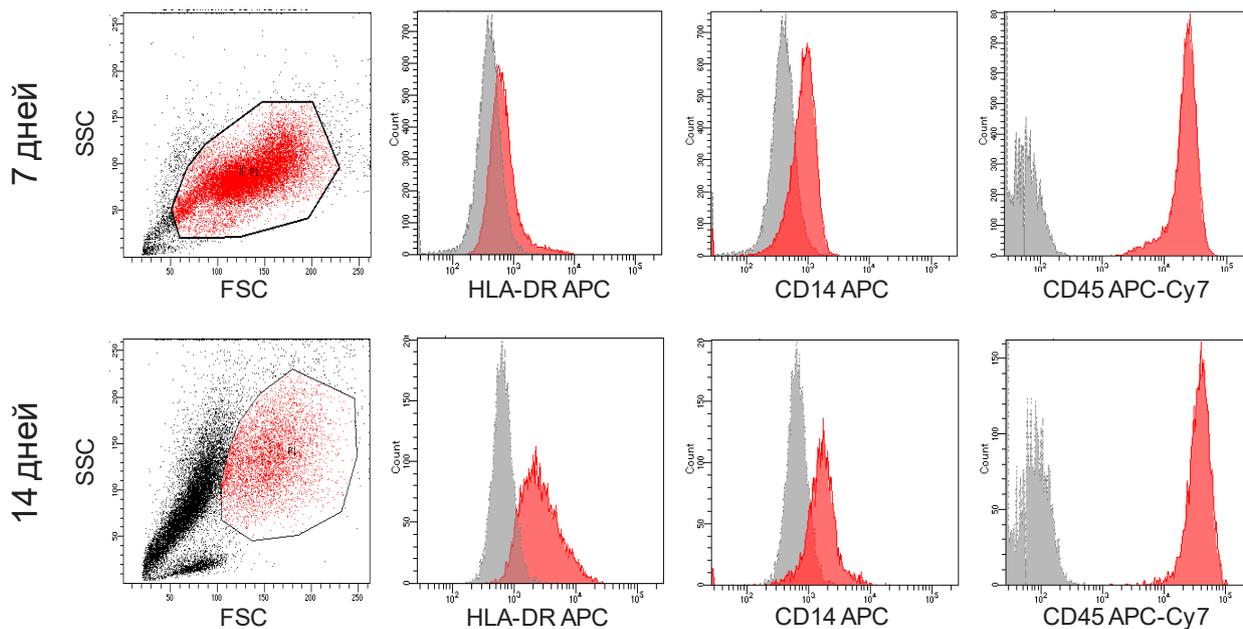
нии моноцитов на LD Columns. Среда mTeSR1 содержит 20% искусственной смеси-заместителя сыворотки [9], тогда как Stemline II успешно использовалась как основа сложной среды для гемопоэтических дифференцировок [10; 11], поэтому мы тестировали несколько разведений mTeSR1 в Stemline II. В эксперименте использовали следующие среды и смеси сред: 1) 100% Stemline II; 2) ~11% (1:8) mTeSR1 в Stemline II; 3) 20% (1:4) mTeSR1 в Stemline II; 4) ~33,3% (1:2) mTeSR1 в Stemline II; 5) 50% (1:1) mTeSR1

в Stemline II; 6) 100% mTeSR1. Моноцитарную и лимфоцитарную фракции смешивали в пропорции 1:1. Было найдено, что наиболее интенсивная агрегация происходила в 50% (1:1) mTeSR1 в Stemline II (табл. 1), поэтому мы выбрали эту смесь для дальнейшей работы.

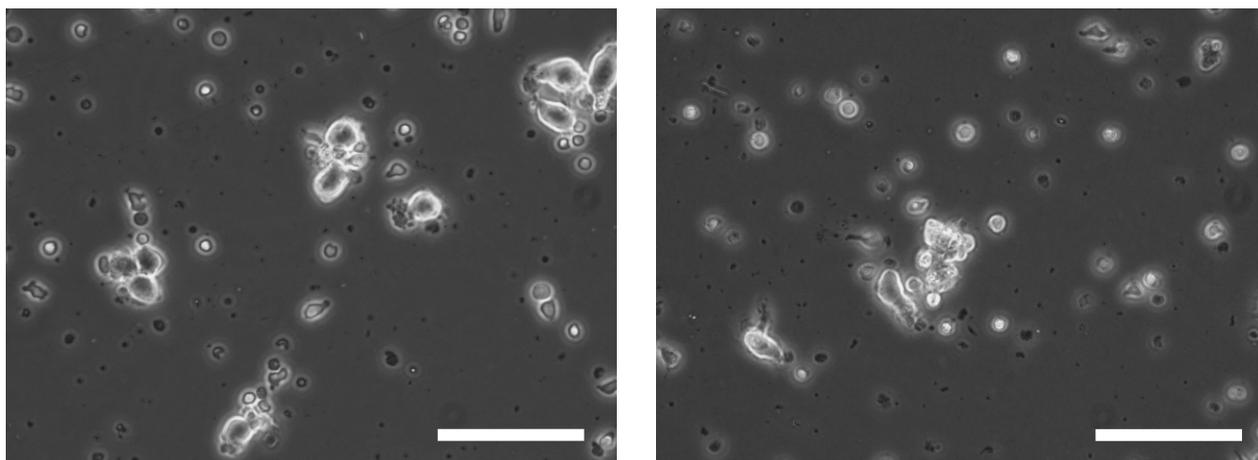
Мы затем тестировали эффективность дифференцировки моноцитов крови в смеси 1:1 этих двух сред. Через 1 неделю, большинство клеток в культуре обладало характерной морфологией ДК и подвижностью (рис. 2). Анализ экспрессии

Таблица 1

Состав смеси	StemlineII 100%	StemlineII: mTeSR1 (8:1)	StemlineII: mTeSR1 (4:1)	StemlineII: mTeSR1 (2:1)	StemlineII: mTeSR1 (1:1)	mTeSR1 100%
Интенсивность клеточной агрегации	++	++	+	+	+++	+/-



**Рис.3.** Проточная цитометрия моно-ДК на разных стадиях дифференцировки. На 14 день произошло заметное увеличение экспрессии HLA-DR, тогда как экспрессия CD14 остается низкой ( по сравнению с CD45).



**Рис. 4.** Агрегация моно-ДК с добавленными лимфоцитами. 48 часов после внесения лимфоцитов в культуру моно-ДК. Среда mTeSR1/Stemline II (1:1). Шкала – 100 мкм.

поверхностных маркеров с помощью проточной цитометрии показал характерный фенотип ДК после двух недель дифференцировки (рис. 3). Двухнедельные моно-ДК обладали способно-

стью агрегировать с суммарными лимфоцитами крови (рис. 4), что является одной из функциональных характеристик ДК. Таким образом, мы подобрали оптимальные условия для очистки и

дифференцировки моноцитов крови в моно-ДК в бессывороточной культуральной среде.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Чистота и выход моноклеарной фракции лейкоцитов периферической крови были выше при центрифугировании в градиенте плотности фиколла 1.084 г/см<sup>3</sup>. Такая повышенная плотность применяется для выделения моноклеаров из крови грызунов, так как плотность этих клеток у грызунов выше, чем у человека [12]. Вместе с тем, наблюдались потери лимфоцитов при центрифугировании в градиенте плотности фиколла 1.077 г/см<sup>3</sup> периферической крови человека [13] из-за физиологического агрегирования лимфоцитов и эритроцитов. Эти данные подтверждают наши выводы о предпочтительности использования более плотного фиколла для очистки моноклеаров крови.

МАКС является эффективным способом очистки моноцитов из моноклеарной фракции крови [14]. В этой работе мы использовали негативную селекцию, когда моноклеары обрабатываются биотинилированными антителами специфичными в отношении поверхностных маркеров, которые не экспрессируются моноцитами (или их экспрессия очень невелика). Затем смесь клеток и антител обрабатывается магнитными микрошариками, которые несут на своей поверхности антитела к биотину. Полученная смесь пропускается через магнитную колонку, и моноциты должны «проскакать» через нее в элюат. Однако, на практике моноциты могут задерживаться на колонке из-за интерференции несвязавшихся антител на колонке или из-за спонтанной агрегации с лимфоцитами. Кроме того, лимфоциты могут плохо задерживаться на недостаточно большой магнитной колонке и попадать в элюат вместе с моноцитами. Поэтому, мы удаляли несвязавшиеся антитела, что препятствовало образованию «липких» зон концентрированных антител на носителе колонки; разбавляли и пипетировали образец перед нанесением на колонку для минимизации агрегации клеток; использовали более избирательные LD Columns; интенсивно промывали колонку для снятия всех неспецифично связавшихся моноцитов с колонки.

Наш выбор бессывороточных сред в основном был основан на практических соображениях использования моно-ДК как позитивного контроля в нашей работе по получению iPSC-производных ДК. Путем селекции сред, смешанных в разных пропорциях, мы нашли, что среда mTeSR1/Stemline II (1:1) работает наиболее оптимально. Для этой селекции мы использовали функциональное тестирование эффективности

агрегации моно-ДК и лимфоцитов. Молекулярной основой такой агрегации может являться по большей части взаимодействие TCR комплексов T лимфоцитов с MHC Class I и MHC Class II на поверхности «молодых» моно-ДК. Возможным антигеном, активирующим моно-ДК в этой реакции служит БСА [15], который присутствует в значительных концентрациях в обеих средах. Необходимо упомянуть, что FGF2, присутствующий в больших дозах в mTeSR1 [9], улучшает прикрепление моноцитов к культуральному пластику в первичной культуре клеток [16].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, мы установили, что эффективная генерация моно-ДК происходит в смеси двух стандартных бессывороточных сред, которые обычно используются для культивации стволовых клеток.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

**Финансирование.** Статья подготовлена при финансовой поддержке регионального гранта РНФ №22-15-20063 (грантовое соглашение № 22-15-20063 от 25 марта 2022 г.).

**Funding.** This work was supported by Russian Scientific Foundation, grant No 22-15-20063.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Steinman R. M. Decision about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:1-22. doi:10.1146/annurev-immunol-100311-102839.
2. Cabeza-Cabrerizo M., Cardoso A., Minutti C. M., da Costa M. P., Reis e Sousa C. Dendritic cells revisited. *Annu Rev Immunol.* 2021;39:131-166. doi:10.1146/annurev-immunol-061020-053707.
3. Hasegawa H., Matsumoto T. Mechanisms of tolerance induction by dendritic cells in vivo. *Front Immunol.* 2018;9:350. doi:10.3389/fimmu.2018.00350. eCollection 2018.
4. Calmeiro J., Carrascal M. A., Tavares A. R., Ferreira D. A., Gomes C., Falcão A., Cruz M. T., Neves B. M. Dendritic cell vaccines for cancer immunotherapy: the role of human conventional type 1 dendritic cells. 2020;12(2):158. doi: 10.3390/pharmaceutics12020158.
5. Wculek S. K., Cueto F. J., Mujal A. M., Melero I., Krummel M. F., Sancho D. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. 2020;20(1):7-24. doi:10.1038/s41577-019-0210-z.
6. Sallusto F., Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus

interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor  $\alpha$ . 1994;179(4):1109-1118. doi: 10.1084/jem.179.4.1109.

7. Duddy M. E., Dickson G., Hawkins S. A., Armstrong M. A. Monocyte-derived dendritic cells: a potential target for therapy in multiple sclerosis (MS). *Clin Exp Immunol.* 2001;123(2):280-287. doi:10.1046/j.1365-2249.2001.01433.x.

8. Chelladura K. S., Christyraj J. D. S., Rajagopalan K., Yesudhasan B. V., Venkatachalam S., Mohan M., Vasantha N. C., Christyraj J. R. S. S. Alternative to FBS in animal cellculture-an overview and future perspective. *Heliyon* 2021;7(8):e07686. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07686.

9. Ludwig T., Thomson J. A. Defined, feeder-independent medium for human embryonic stem cell culture. *Curr Protoc Stem Cell Biol.* 2007;Chapter 1:Unit 1C.2. doi: 10.1002/9780470151808.sc01c02s2.

10. Filonenko E. S., Tan Y., Wang C., Zhang B., Shah Z., Zhang J., Ullah H., Kiselev S. L., Lagarkova M. A., Li, D., Dai Y., Samokhvalov I. M., Recapitulative hematopoietic development of human pluripotent stem cells in the absence of exogenous hematopoietic cytokines. *J Cell Mol Med.* 2021;25(18):8701-8714. doi:10.1111/jcmm.16826.

11. Shah Z., Filonenko E. S., Ramensky V., Fan C., Wang C., Ullah H., Zhang B., Volchkov P., Samokhvalov I. M. MYB bi-allelic targeting abrogates primitive clonogenic progenitors while

the emergence of primitive blood cells is not affected. *Haematologica* 2021;106(8):2191-2202. doi: 10.3324/haematol.2020.249193.

12. Bøyum A., Løvhaug D., Tresland L., Nordlie E. M. Separation of leukocytes: improved cell purity by fine adjustments of gradient medium density and osmolality. *Scand J Immunol.* 1991;34(6):697-712. doi:10.1111/j.1365-3083.1991.tb01594.x.

13. Hokland P., Heron I. Analysis of the lymphocyte distribution during Isopaque-Ficoll isolation of mononuclear cells from human peripheral blood. *J Immunol Methods* 1980;32(1):31-39. doi: 10.1016/0022-1759(80)90114-3.

14. Chometon, TQ., Siqueira M. da S., Sant'anna J. C., Almeida M. R., Gandini M., Nogueira A. C. M. de A., Antas P. R. Z. A protocol for rapid monocyte isolation and generation of singular human monocyte-derived dendritic cells. *PLoS One.* 2020;15:e0231132. 10.1371/journal.pone.0231132. eCollection 2020.

15. Mogues, T., Li, J., Coburn, J., Kuter, D.J. IgG antibodies against bovine serum albumin in humans--their prevalence and response to exposure to bovine serum albumin. *J Immunol Methods* 2005;300(1-2):1-11. doi:10.1016/j.jim.2005.01.022.

16. Tang P., Jerebtsova M., Przygodsky R., Ray P. E. Fibroblast growth factor-2 increases the renal recruitment and attachment of HIV-infected mononuclear cells to renal tubular epithelial cells. *Pediatr Nephrol.* 2005;20(12):1708-1716. doi:10.1007/s00467-005-2018-2.

## РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ОНКОТРАНСФОРМАЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Головкин И. О., Макалиш Т. П., Зима Д. В., Непритимова Е. А., Зяблицкая Е. Ю.,

Фомочкина И. И., Кубышкин А. В., Сафронюк С. Л.

Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

**Для корреспонденции:** Макалиш Татьяна Павловна, к.б.н., ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: gemini\_m@list.ru

**For correspondence:** Makalish T. P., PhD, Leading Researcher of the Central Research Laboratory of the Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: gemini\_m@list.ru

### Information about authors:

**Golovkin I. O.**, <http://orcid.org/0000-0002-3578-5130>

**Makalish T. P.**, <http://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

**Zima D. V.**, <http://orcid.org/0000-0003-4732-0311>

**Nepritimova E. A.**, <http://orcid.org/0000-0001-8989-3615>

**Zyablitskaya E. Yu.**, <http://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

**Fomochkina I. I.**, <http://orcid.org/0000-0003-3065-5748>

**Kubyshekin A. V.**, <http://orcid.org/0000-0002-9400-1826>

**Safronyuk S. L.**, <http://orcid.org/0000-0002-6276-7755>

### РЕЗЮМЕ

При физиологических концентрациях активные формы кислорода (АФК) считаются вторичными мессенджерами, играющими важную клеточную функцию в пролиферации, экспрессии генов, синтезе гормонов и др. Однако избыток АФК приводит к окислительному стрессу, который может инициировать и поддерживать повреждения ДНК и нестабильность генома. Щитовидная железа является отличной моделью для изучения влияния АФК на нестабильность генома, так как фолликулярные клетки, синтезирующие тиреоидные гормоны, требуют присутствия  $H_2O_2$  в сложном механизме их биосинтеза. Считается, что окислительный стресс и повреждение ДНК являются событиями, предшествующими неоплазии в клетках щитовидной железы. Кроме того, окислительные повреждения ДНК выявляются на поздних стадиях рака щитовидной железы, что свидетельствует о том, что окислительный стресс способствует поддержанию нестабильности генома в последующих стадиях онкогенеза.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, окислительный стресс, активные формы кислорода, глутатион.

### THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN ONCOTRANSFORMATION OF THE THYROID GLAND

**Golovkin I. O., Makalish T. P., Zima D. V., Nepritimova E. A., Zyablitskaya E. Yu.,  
Fomochkina I. I., Kubyshekin A. V., Safronyuk S. L.**

Institution «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

### SUMMARY

At physiological concentrations, reactive oxygen species (ROS) are considered second messengers that play an important cellular function in proliferation, gene expression, hormone synthesis, etc. However, an excess of ROS leads to oxidative stress, which can initiate and maintain DNA damage and genomic instability. The thyroid gland is an excellent model for studying the effect of ROS on genome instability, since follicular cells synthesizing thyroid hormones require the presence of  $H_2O_2$  in the complex mechanism of their biosynthesis. Oxidative stress and DNA damage are thought to be events that precede neoplasia in thyroid cells. In addition, oxidative DNA damage is detected in the late stages of thyroid cancer, which indicates that oxidative stress contributes to the maintenance of genome instability in subsequent stages of oncogenesis.

**Key words:** thyroid gland, oxidative stress, reactive oxygen species, glutathione

Активные формы кислорода (АФК) разделяются на две группы: свободные радикалы, представленные супероксид анионом ( $O_2^-$ ) и гидроксид анионом ( $OH^-$ ), и нерадикальные мо-

лекулы, например, пероксид водорода ( $H_2O_2$ ). Основными источниками АФК является утечка электронов к  $O_2$  в митохондриях во время обратного транспорта электронов в комплексе 1 или 3

[1], восстановления  $O_2$  до  $O_2$  НАДФ-оксидазами (NOX), во время передачи сигналов фактора роста [2] и производство  $H_2O_2$  во время фолдинга белков [3]. Менее значимые источники образования  $H_2O_2$  – это активность цитохрома P450, моноаминоксидаз, ксантиноксидаз, циклооксигеназ, гликолактоксидаз, оксидаз гидрокислот, альдегидоксидаз и оксидаз аминокислот [4]. Внутри клеток существует баланс между продукцией АФК и их детоксикацией антиоксидантными системами, которые поддерживают клеточный гомеостаз [5; 6]. При некоторых заболеваниях, включая рак, окислительно-восстановительный баланс в клетке нарушается, что приводит к увеличению внутри- и внеклеточных уровней АФК, вызывающие окислительный стресс, способствующий возникновению опухолей и их прогрессированию в сторону злокачественных фенотипов, включая ангиогенез, пролиферацию, инвазию и апоптоз [7].

#### *Антиоксидантная защита*

Существует много механизмов антиоксидантной защиты. Некаталитические молекулы, которые непосредственно удаляют АФК, преимущественно включают в себя эндогенно полученные билирубин, альфа-липоевую кислоту, мелатонин, меланин, восстановленный глутатион (GSH) и мочевую кислоту, а также экзогенно полученные витамин E, C, бета-каротин и растительные полифенолы [8]. Среди ферментов антиоксидантов стоит выделить супероксиддисмутазы цитозольные (SOD1), митохондриальные (SOD2) и внеклеточные (SOD3), каждая из которых катализирует превращение  $O_2$  в  $H_2O_2$  и  $O_2$  [9]. В частности, SOD1 и SOD2 защищают от спонтанного онкогенеза, и, хотя их называют супрессорами опухолей, они также могут активироваться во время онкогенеза [10]. Ферменты, удаляющие  $H_2O_2$ , включают каталазу (CAT), непосредственно превращающую  $H_2O_2$  в  $H_2O$  и  $O_2$  [11], пероксиредоксины (Prx) и глутатионпероксидазы (Gpx), которые восстанавливают  $H_2O_2$  до  $H_2O$  [12; 13]. За счет большого количества и высокой каталитической активности до 90% клеточных пероксидов будет восстановлено именно Prx. Prx подразделяются на «типичные» 2-Cys Prx1-5, «атипичный» 2-Cys Prx5, а также 1-Cys Prx6. Восстановление  $H_2O_2$  в типичных Prx происходит за счет окисления тиоредоксина (Trx) [14]. При восстановлении же  $H_2O_2$  с помощью 1-Cys Prx6 требуется больше GSH, нежели Trx, что ведет к образованию дисульфид глутатиона (GSSG). Также Prx и Gpx способствуют устранению активных форм азота [15].

Антиоксидантные свойства тиоредоксинов (цитозольные Trx1, митохондриальный Trx2) проявляются за счет способности переносить

электроны на окисленный Prx1-5, метионин сульфатредуктазы и редокс чувствительные факторы транскрипции, что позволяет восстанавливать их до более активных состояний. Это приводит к окислению остатков Cys в активных центрах Trx, которые затем восстанавливаются селенопротеинами и тиоредоксиредуктазами TrxR1 и TrxR2, соответственно с использованием НАДФН в качестве кофактора с накоплением НАДФ+. Подобно другим окислительно-восстановительным системам, данная может активироваться при широком спектре видов рака [16]. Также системы Trx и GSH перекрываются, поскольку окисленный Trx1 может восстанавливаться глутатионредоксинами с использованием GSH в качестве кофактора, замещая таким образом при определенных обстоятельствах TrxR1 [17]. Кроме того, уровень GSSG может быть уменьшен системой Trx, создавая избыточность между антиоксидантными системами Trx и GSH [18].

Так как GSH необходим в тиол-зависимых антиоксидантных системах, его биосинтез играет важную роль. Помимо белков-антиоксидантов непрямого действия, которые поставляют глутамат, цистеин и глицин для синтеза GSH [19], в биосинтезе участвуют ферменты глутатионсинтетаза и глутамат-цистеинлигаза (GSL), включающая в себя каталитическую (GCLC) и модифицирующую субъединицы (GCLM). GCL катализирует начальную стадию синтеза GSH и является лимитирующим ферментом, а GSS-конечную стадию [20]. В раковых клетках GCLC и GCLM являются важной детерминантой чувствительности к химио- и радиорезистентности [21], а высокие уровни могут быть связаны с плохим прогнозом после операции [22]. Ограничение количества глутамата, цистеина и глицина в результате участия в других биохимических процессах, ограничивает синтез GSH, а такие ферменты, как CHAC1 и CHAC2, могут утилизировать GSH [23] (Рис. 1).

Центральную роль в антиоксидантной защите играет НАДФН. Он является важным метаболитом в восстановительном биосинтезе макромолекул. Связываясь с CAT, он предотвращает инактивацию ферментов  $H_2O_2$  [24], поддерживает работу глутатионредуктаз (Gsr) и TrxR [25], что в свою очередь дает возможность GSH и Trx использовать Gpx и Prx для полноценной реализации своей антиоксидантной роли [26]. Поскольку НАДФН является окислительно-восстановительным эквивалентом в клетках и активно участвует во многих окислительно-восстановительных реакциях как кофермент, его синтез должен непрерывно поддерживаться, что в первую очередь достигается ферментом глюкозо-6-

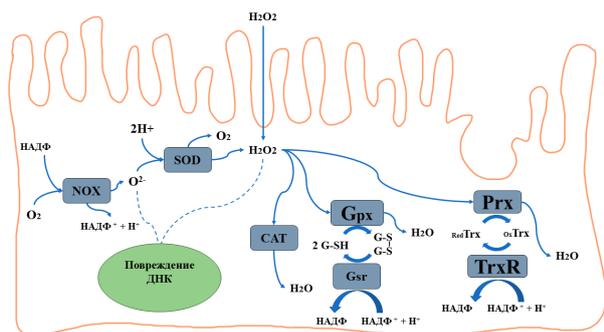


Рис. 1. – Антиоксидантная защита клеток. SOD – супероксиддисмутаза, CAT – каталаза, Gpx – глутатионпероксидаза, Gsr – глутатионредуктаза, Prx – пероксиредоксины, TrxR – тиоредоксинредуктазы, Trx – тиоредоксин (Red – восстановленный, ox – окисленный), NOX – НАДФ-оксидаза

фосфат дегидрогеназой [27]. Другие ферменты, которые поставляют НАДФН – это изоцитратдегидрогеназа, нуклеотидтрансгидрогеназа и глутаматдегидрогеназа [26]. Особое внимание стоит уделить соматическим мутациям в изоцитратдегидрогеназе в злокачественных новообразованиях на ранних стадиях онкогенеза. Хорошо известно, что нарушенная работа этого фермента может нарушать эпигенетические механизмы и дифференцировку клеток [28].

*Окислительно-восстановительные ферменты в синтезе гормонов щитовидной железы.*

Наличие в клетках АФК в определенных концентрациях зачастую является необходимым условием для их нормального функционирования. Наиболее ярким примером является щитовидная железа, т.к. синтез гормонов возможен только в присутствии  $H_2O_2$ . Два основных фермента, участвующие в окислительно-восстановительных стадиях синтеза гормонов щитовидной железы являются тиреопероксидаза (ТРО) и двойные оксидазы (DUOX1/2). ТРО катализирует йодирование остатка тиреоглобулина, в то время как DUOX2 поставляет  $H_2O_2$ , необходимый для работы ТРО. ТРО представляет собой трансмембранный белок, экспрессирующийся на апикальном участке тироцитов, и его активность регулируется ТТГ и окисленным йодом [29; 30] (Рис.2).

DUOX1 и DUOX2 принадлежат к семейству НАДФ-оксидаз, представленному 7-ми членами, NOX1-5 и DUOX1-2. DUOX1-2 активно экспрессируется в щитовидной железе, однако уровень DUOX2 в пять раз выше по сравнению с DUOX1 [30]. Каждому DUOX требуются факторы созревания для выхода из эндоплазматического ретикулума и достижения плазматической мембраны, где они образуют стабильный комплекс и синтезируют  $H_2O_2$ , контролируемым

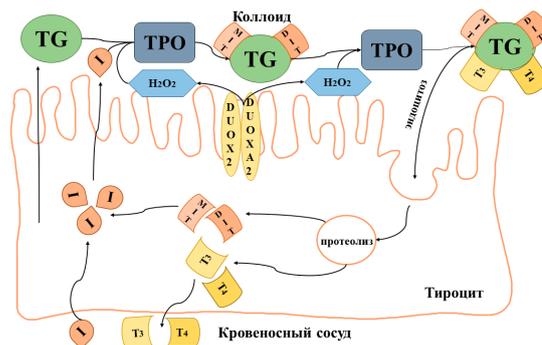


Рис. 2. Схема синтеза тиреоидных гормонов в тироците. TG – тиреоглобулин, ТРО – тиреопероксидаза, MIT – моноидтирозин, DIT – диодтирозин, DUOX2 – двойная оксидаза 2, DUOX2 – фактор созревания DUOX2.

образом [31]. Произведенная DUOX  $H_2O_2$  способствует функциональному взаимодействию между DUOX и ТРО, а также регулирует уровень внеклеточного  $H_2O_2$ , ограничивая диффузию  $H_2O_2$  в клетку, защищая ее от окислительного повреждения [32; 33]. Отсутствие ТРО может способствовать развитию рака, это можно объяснить тяжестью симптомов с врожденным зобом и частую эволюцию этого состояния с образованием узлов и опухолей у пациентов с дефектом ТРО, а экспрессия и активность ТРО снижается или не обнаруживается в тканях рака щитовидной железы. В случае фолликулярного рака щитовидной железы, экспрессия DUOX1-2 и факторов их созревания связана с дифференцировкой опухоли, а более низкая наблюдается в опухолях с мутацией BRAF, которые менее дифференцированы, чем другие опухоли фолликулярного рака щитовидной железы. И хотя экспрессия DUOX1-2 положительно коррелирует с карциномой щитовидной железы, это не означает, что каждый DUOX имеют одинаковы вклад на ранних стадиях развития опухоли [34; 35].

В свою очередь тироциты способны и к NOX4. В отличие от других представителей NOX, которым требуется сигнал для индукции производства АФК, NOX4 синтезирует АФК постоянно, а его активность регулируется на уровне транскрипции [36; 37]. Физиологическая функция NOX4 в клетках щитовидной железы в настоящее время до конца не выяснена, в то же время активно исследуется его роль при онкогенезе щитовидной железы. Недавние исследования показали, что существует связь между повышенными уровнями мРНК NOX4 и дедифференцировкой щитовидной железы [38; 39]. ТТГ и инсулин подавляют уровень экспрессии NOX4 и повышают ТРО и тиреоид-специфичные фак-

торы роста в дифференцированных клетках щитовидной железы, соответственно повышенная транскрипция NOX4 и концентрация  $H_2O_2$  связаны с нарушением регуляции дифференцировки щитовидной железы [40]. NOX4 активен в околоядерной области клетки и может влиять на уровень окислительного стресса в ядре, таким образом способствовать окислительным модификациям и повреждениям. Экспрессия NOX4 увеличена при раке щитовидной железы, особенно при папиллярном раке [41; 42].

#### *Антиоксидантные системы тироцитов*

Поскольку на апикальной мембране находятся DUOX1-2, синтезирующие  $H_2O_2$ , необходимые для работы ТРО, первая линия защиты находится внутри структуры фолликула. Апикальная мембрана тироцитов обладает низкой проницаемостью для  $H_2O_2$ , что обеспечивает ограждение от  $H_2O_2$ , содержащегося в просвете фолликула [43]. Основными антиоксидантными ферментами щитовидной железы являются CAT, Gpx, Gsr и системы Prx/TxR. Хотя CAT, которая присутствует в пероксисомах, способна удалять  $H_2O_2$ , превращая ее в воду и кислород [44], предполагается, что Gpx и TxR более важны для элиминации патологических концентрации  $H_2O_2$  [45]. Защитная роль Gpx и TxR подчеркнута данными, демонстрирующими скоординированную активацию экспрессии TxR во время синтеза тиреоидных гормонов и прямой детоксикации  $H_2O_2$  ферментом Gpx3, секретируемым фолликулами щитовидной железы во внеклеточное пространство [46; 47]. Экспрессия Prx1 стимулируется ТТГ и  $H_2O_2$ , а его сверхэкспрессия защищает от  $H_2O_2$  индуцированной гибели клеток [48]. Известно, что раковые клетки демонстрируют пониженную экспрессию Gpx и TxR1, с повышенным количеством АФК по сравнению со здоровыми тироцитами, что указывает на нарушение окислительно-восстановительного баланса при канцерогенезе щитовидной железы [49]. К тому же фолликулярные клетки, расположенные в месте образования  $H_2O_2$  в большей степени подвержены окислительному повреждению ДНК [50, 51].

Интересную роль в окислительном стрессе щитовидной железы играют SOD. Нередко наблюдается, что мРНК SOD3 может быть повышено при доброкачественных опухолях, но постепенно уменьшается по мере уменьшения степени дифференцировки клеток при канцерогенезе [52]. Механизм объясняется мутациями в онкогене RAS, которая регулирует транскрипцию SOD3 [53; 54]. Экспрессия мРНК повышается при низких уровнях RAS, но полностью прекращается в клетках с более высокой активацией RAS [54]. Сходная ситуация наблюдает-

ся и для SOD2, и считается, что снижение экспрессии SOD является плохим прогнозом, для пациентов с фолликулярным раком щитовидной железы [55].

В виду вышеописанного наибольший интерес представляют антиоксидантные системы на основе тиолов. Несмотря на то, что SOD, являются высокорекреационным ферментом его роль в превращении супероксид аниона в перекись водорода, которая менее опасная для клеток, но при накоплении становится токсичным. Перекись водорода в присутствии ионов железа может превращаться в более агрессивный гидроксильный радикал по реакции Фентона. Каталаза в основном содержится в изобилии в пероксисомах, но отсутствует во многих органеллах. Таким образом, в основную роль антиоксидантной защиты берет на себя GSH. GSH является основным и универсальным клеточным антиоксидантом. Он может участвовать в неферментативной защите, выступая в качестве ловушки радикалов [56]. Его синтез происходит в цитоплазме, после чего он транспортируется в органеллы и ядро и играет ключевую защитную роль против индуцированной оксидантами гибели клеток [57]. Основным ферментом, восстанавливающим перекись водорода в митохондриях, является Gpx. Не мало важно способность Gpx восстанавливать перекисные липиды до соответствующих спиртов [58], а также способности GSH к образованию дисульфидной связи с остатками цистеина в белках, в процессе S-глутатионилирования, что позволяет защищать белки от окислительного стресса и вносит существенный вклад в редокс-сигналинг и регуляцию активности белков [59]. Ключевым субстратом в восстановлении окисленных остатков цистеина выступает GSH, а состояние а состоянии системы определяется соотношением GSH к GSSG. В нормальных условиях, GSSG присутствует в минимальном количестве, что минимизирует окислительное действие АФК, а нарушение соотношения в пользу GSSG оказывает влияние на регуляцию функционирования белков, экспрессии генов, пролиферации, клеточного метаболизма и жизнедеятельности клетки в целом [60]. Таким образом GSH играет широкую роль в жизнедеятельности клеток и играет значительную роль в системе антиоксидантной системе.

Таким образом, более глубокое изучение значения количества перекиси водорода в процессе малигнизации ткани щитовидной железы и роль глутатиона в этом процессе может пролить свет на данное явление. Дальнейшее изучение уровней GSH в злокачественных опухолях способствует растущему пониманию процессов,

происходящих во время онкогенеза и создание более эффективных способов лечения.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания № FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

**Funding.** This work was financially supported by state task No FZEG-2020-0060 of the Russian Ministry of Science in the field of scientific research on the topic «Algorithms for molecular-genetic diagnosis of malignant neoplasms and approaches to their targeted therapy using cellular and genetic technologies».

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Murphy M. P. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J.* 2009;417(1):1-13. doi:10.1042/BJ20081386.
2. Brown D. I., Griendling K. K. Nox proteins in signal transduction. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(9):1239-53. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.023.
3. Ye Z. W., Zhang J., Ancrum T., Manevich Y., Townsend D. M., Tew K. D. Glutathione S-Transferase P-Mediated Protein S-Glutathionylation of Resident Endoplasmic Reticulum Proteins Influences Sensitivity to Drug-Induced Unfolded Protein Response. *Antioxid Redox Signal.* 2017;26(6):247-261. doi:10.1089/ars.2015.6486
4. Sies H., Jones D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(7):363-383. doi: 10.1038/s41580-020-0230-3
5. Veal E. A., Day A. M., Morgan B. A. Hydrogen peroxide sensing and signaling. *Mol Cell.* 2007;26(1):1-14. doi: 10.1016/j.molcel.2007.03.016
6. Lukosz M., Jakob S., Büchner N., Zschauer T. C., Altschmied J., Haendeler J. Nuclear redox signaling. *Antioxid Redox Signal.* 2010;12(6):713-42. doi: 10.1089/ars.2009.2609
7. Köhrle J. Selenium and the thyroid. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2015;22(5):392-401. doi: 10.1097/MED.000000000000190
8. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. *Free radicals in biology and medicine.* Oxford University Press; 2015; ISBN 978-0-19-871748-5
9. Sheng Y., Abreu I. A., Cabelli D. E., Maroney M. J., Miller A. F., Teixeira M., Valentine J. S. Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chem Rev.* 2014;114(7):3854-918. doi: 10.1021/cr4005296
10. Gill J. G., Piskounova E., Morrison S. J. Cancer, Oxidative Stress, and Metastasis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2016;81:163-175. doi: 10.1101/sqb.2016.81.030791
11. Kirkman H. N., Gaetani G. F. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci.* 2007;32(1):44-50. doi: 10.1016/j.tibs.2006.11.003
12. Flohe R. B., Maiorino M. Glutathione peroxidases. *BBA.* 2013;1830(5):3289-3303. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020
13. Elko E. A., Cunniff B., Seward D. J., Chia S. B., Aboushousha R., van de Wetering C., van der Velden J., Manuel A., Shukla A., Heintz N. H., Anathy V., van der Vliet A., Janssen-Heininger Y. M. W. Peroxiredoxins and Beyond; Redox Systems Regulating Lung Physiology and Disease. *Antioxid Redox Signal.* 2019;31(14):1070-1091. doi: 10.1089/ars.2019.7752
14. Perkins A., Nelson K. J., Parsonage D., Poole L. B., Karplus P. A. Peroxiredoxins: guardians against oxidative stress and modulators of peroxide signaling. *Trends Biochem Sci.* 2015;40(8):435-45. doi: 10.1016/j.tibs.2015.05.001
15. Fisher A. B. Peroxiredoxin 6 in the repair of peroxidized cell membranes and cell signaling. *Arch Biochem Biophys.* 2017;617:68-83. doi: 10.1016/j.abb.2016.12.003
16. Jia J. J., Geng W. S., Wang Z. Q., Chen L., Zeng X. S. The role of thioredoxin system in cancer: strategy for cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2019;84(3):453-470. doi: 10.1007/s00280-019-03869-4
17. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(5):3217-66. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.09.018
18. Yan X., Zhang X., Wang L., Zhang R., Pu X., Wu S., Li L., Tong P., Wang J., Meng Q. H., Jensen V. B., Girard L., Minna J. D., Roth J. A., Swisher S. G., Heymach J. V., Fang B. Inhibition of Thioredoxin/Thioredoxin Reductase Induces Synthetic Lethality in Lung Cancers with Compromised Glutathione Homeostasis. *Cancer Res.* 2019;79(1):125-132. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1938.
19. Koppula P., Zhang Y., Zhuang L., Gan B. Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer. *Cancer Commun*

- (Lond). 2018;38(1):12. doi: 10.1186/s40880-018-0288-x
20. Lu S. C.. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(5):3143-53. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.09.008
21. Lin L. C., Chen C. F., Ho C. T., Liu J. J., Liu T. Z., Chern C. L.  $\gamma$ -Glutamylcysteine synthetase ( $\gamma$ -GCS) as a target for overcoming chemo- and radio-resistance of human hepatocellular carcinoma cells. *Life Sci*. 2018;198:25-31. doi: 10.1016/j.lfs.2018.02.015
22. Sun J., Zhou C., Ma Q., Chen W., Atyah M., Yin Y., Fu P., Liu S., Hu B., Ren N., Zhou H. High GCLC level in tumor tissues is associated with poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection. *J Cancer*. 2019;10(15):3333-3343. doi: 10.7150/jca.29769
23. Oakley A. J., Yamada T., Liu D., Coggan M., Clark A. G., Board P. G. The identification and structural characterization of C7orf24 as gamma-glutamyl cyclotransferase. An essential enzyme in the gamma-glutamyl cycle. *J Biol Chem*. 2008;283(32):22031-42. doi: 10.1074/jbc.M803623200
24. Kirkman H. N., Gaetani G. F. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci*. 2007;32(1):44-50. doi: 10.1016/j.tibs.2006.11.003
25. Ying W. NAD<sup>+</sup>/NADH and NADP<sup>+</sup>/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(2):179-206. doi: 10.1089/ars.2007.1672
26. Purohit V., Simeone D. M., Lyssiotis C. A. Metabolic Regulation of Redox Balance in Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(7):955. doi: 10.3390/cancers11070955
27. Ciccicarese F., Ciminale V. Escaping Death: Mitochondrial Redox Homeostasis in Cancer Cells. *Front Oncol*. 2017;7:117. doi: 10.3389/fonc.2017.00117
28. Dang L., Su S. M. Isocitrate Dehydrogenase Mutation and (R)-2-Hydroxyglutarate: From Basic Discovery to Therapeutics Development. *Annu Rev Biochem*. 2017;86:305-331. doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-044732
29. Taurog A. Molecular evolution of thyroid peroxidase. *Biochimie*. 1999;81(5):557-62. doi: 10.1016/s0300-9084(99)80110-2
30. Uyttersprot N., Pelgrims N., Carrasco N., Gervy C., Maenhaut C., Dumont J. E., Miot F. Moderate doses of iodide in vivo inhibit cell proliferation and the expression of thyroperoxidase and Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter mRNAs in dog thyroid. *Mol Cell Endocrinol*. 1997;131(2):195-203. doi: 10.1016/s0303-7207(97)00108-1
31. Grasberger H., Refetoff S. Identification of the maturation factor for dual oxidase. Evolution of an eukaryotic operon equivalent. *J Biol Chem*. 2006;281(27):18269-72. doi: 10.1074/jbc.C600095200
32. Carré A., Louzada R. A., Fortunato R. S., Ameziane-El-Hassani R., Morand S., Ogryzko V., de Carvalho D. P., Grasberger H., Leto T. L., Dupuy C. When an Intramolecular Disulfide Bridge Governs the Interaction of DUOX2 with Its Partner DUOXA2. *Antioxid Redox Signal*. 2015;23(9):724-33. doi: 10.1089/ars.2015.6265
33. Louzada R. A., Corre R., Ameziane-El-Hassani R., Hecht F., Cazarin J., Buffet C., Carvalho D. P., Dupuy C. Conformation of the N-Terminal Ectodomain Elicits Different Effects on DUOX Function: A Potential Impact on Congenital Hypothyroidism Caused by a H2O2 Production Defect. *Thyroid*. 2018;28(8):1052-1062. doi: 10.1089/thy.2017.0596
34. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159(3):676-90. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.050
35. Lacroix L., Nocera M., Mian C., Caillou B., Virion A., Dupuy C., Filetti S., Bidart J. M., Schlumberger M. Expression of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase flavoprotein DUOX genes and proteins in human papillary and follicular thyroid carcinomas. *Thyroid*. 2001;11(11):1017-23. doi: 10.1089/105072501753271699
36. Martyn K. D., Frederick L. M., von Loehneysen K., Dinauer M. C., Knaus U. G. Functional analysis of Nox4 reveals unique characteristics compared to other NADPH oxidases. *Cell Signal*. 2006;18(1):69-82. doi: 10.1016/j.cellsig.2005.03.023
37. Nakano Y., Banfi B., Jesaitis A. J., Dinauer M. C., Allen L. A., Nauseef W. M. Critical roles for p22phox in the structural maturation and subcellular targeting of Nox3. *Biochem J*. 2007;403(1):97-108. doi:10.1042/BJ20060819
38. Azouzi N., Cailloux J., Cazarin J. M., Knauf J. A., Cracchiolo J., Al Ghuzlan A., Hartl D., Polak M., Carré A., El Mzibri M., Filali-Maltouf A., Al Bouzidi A., Schlumberger M., Fagin J. A., Ameziane-El-Hassani R., Dupuy C. NADPH Oxidase NOX4 Is a Critical Mediator of BRAFV600E-Induced Downregulation of the Sodium/Iodide Symporter in Papillary Thyroid Carcinomas. *Antioxid Redox Signal*. 2017;26(15):864-877. doi: 10.1089/ars.2015.6616
39. Weyemi U., Caillou B., Talbot M., Ameziane-El-Hassani R., Lacroix L., Lagent-Chevallier O., Al Ghuzlan A., Roos D., Bidart J. M., Virion A., Schlumberger M., Dupuy C.

- Intracellular expression of reactive oxygen species-generating NADPH oxidase NOX4 in normal and cancer thyroid tissues. *Endocr Relat Cancer*. 2010;17(1):27-37. doi: 10.1677/ERC-09-0175
40. Oglio R., Salvarredi L., Rossich L., Copelli S., Pisarev M., Juvenal G., Thomasz L. Participation of NADPH 4 oxidase in thyroid regulation. *Mol Cell Endocrinol*. 2019;480:65-73. doi: 10.1016/j.mce.2018.10.012
41. Ameziane-El-Hassani R., Schlumberger M., Dupuy C. NADPH oxidases: new actors in thyroid cancer? *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(8):485-94. doi: 10.1038/nrendo.2016.64
42. Weyemi U., Caillou B., Talbot M., Ameziane-El-Hassani R., Lacroix L., Laget-Chevallier O., Al Ghuzlan A., Roos D., Bidart J. M., Virion A., Schlumberger M., Dupuy C. Intracellular expression of reactive oxygen species-generating NADPH oxidase NOX4 in normal and cancer thyroid tissues. *Endocr Relat Cancer*. 2010;17(1):27-37. doi: 10.1677/ERC-09-0175
43. Song Y., Driessens N., Costa M., De Deken X., Detours V., Corvilain B., Maenhaut C., Miot F., Van Sande J., Many M. C., Dumont J. E. Roles of hydrogen peroxide in thyroid physiology and disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(10):3764-73. doi: 10.1210/jc.2007-0660
44. Chance B., Oshino N. Kinetics and mechanisms of catalase in peroxisomes of the mitochondrial fraction. *Biochem J*. 1971;122(2):225-233. doi:10.1042/bj1220225
45. Björkman U., Ekholm R. Hydrogen peroxide degradation and glutathione peroxidase activity in cultures of thyroid cells. *Mol Cell Endocrinol*. 1995;111(1):99-107. doi: 10.1016/0303-7207(95)03552-i
46. Howie A. F., Arthur J. R., Nicol F., Walker S. W., Beech S. G., Beckett G. J. Identification of a 57-kilodalton selenoprotein in human thyrocytes as thioredoxin reductase and evidence that its expression is regulated through the calcium-phosphoinositol signaling pathway. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(6):2052-8. doi: 10.1210/jcem.83.6.4875
47. Howie A. F., Walker S. W., Akesson B., Arthur J. R., Beckett G. J. Thyroidal extracellular glutathione peroxidase: a potential regulator of thyroid-hormone synthesis. *Biochem J*. 1995;308 (Pt 3)(Pt 3):713-7. doi: 10.1042/bj3080713
48. Kim H., Lee T. H., Park E. S., Suh J. M., Park S. J., Chung H. K., Kwon O. Y., Kim Y. K., Ro H. K., Shong M. Role of peroxiredoxins in regulating intracellular hydrogen peroxide and hydrogen peroxide-induced apoptosis in thyroid cells. *J Biol Chem*. 2000;275(24):18266-70. doi: 10.1074/jbc.275.24.18266
49. Metere A., Frezzotti F., Graves C. E., Vergine M., De Luca A., Pietraforte D., Giacomelli L. A possible role for selenoprotein glutathione peroxidase (GPx1) and thioredoxin reductases (TrxR1) in thyroid cancer: our experience in thyroid surgery. *Cancer Cell Int*. 2018;18:7. doi: 10.1186/s12935-018-0504-4
50. Maier J., van Steeg H., van Oostrom C., Karger S., Paschke R., Krohn K. Deoxyribonucleic acid damage and spontaneous mutagenesis in the thyroid gland of rats and mice. *Endocrinology*. 2006;147(7):3391-7. doi: 10.1210/en.2005-1669
51. Halliwell B. Can oxidative DNA damage be used as a biomarker of cancer risk in humans? Problems, resolutions and preliminary results from nutritional supplementation studies. *Free Radic Res*. 1998;29(6):469-86. doi: 10.1080/10715769800300531
52. Laatikainen L. E., Castellone M. D., Hebrant A., Hoste C., Cantisani M. C., Laurila J. P., Salvatore G., Salerno P., Basolo F., Näsman J., Dumont J. E., Santoro M., Laukkanen M. O. Extracellular superoxide dismutase is a thyroid differentiation marker down-regulated in cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2010;17(3):785-96. doi: 10.1677/ERC-10-0021
53. Howell G. M., Hodak S. P., Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist*. 2013;18(8):926-32. doi: 10.1634/theoncologist.2013-0072
54. Cammarota F., de Vita G., Salvatore M., Laukkanen M. O. Ras oncogene-mediated progressive silencing of extracellular superoxide dismutase in tumorigenesis. *Biomed Res Int*. 2015;2015:780409. doi: 10.1155/2015/780409
55. Ashtekar A., Huk D., Magner A., La Perle K. M. D., Boucai L., Kirschner L. S. Alterations in Sod2-Induced Oxidative Stress Affect Endocrine Cancer Progression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(11):4135-4145. doi: 10.1210/jc.2018-01039
56. Galano A., Alvarez-Idaboy J. R. Glutathione: mechanism and kinetics of its non-enzymatic defense action against free radicals. *RSC Adv*. 2011;1:1763-1771. doi: 10.1039/C1RA00474C
57. Fernández-Checa J. C. Redox regulation and signaling lipids in mitochondrial apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;304(3):471-9. doi: 10.1016/s0006-291x(03)00619-3
58. Ighodaro O. M., Akinloye O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 2018;54(4). doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001
59. Jacob C., Battaglia E., Burkholz T., Peng D., Bagrel D., Montenarh M. Control of oxidative

posttranslational cysteine modifications: from intricate chemistry to widespread biological and medical applications. *Chem Res Toxicol.* 2012;25(3):588-604. doi: 10.1021/tx200342b

60. Cai Z., Yan L. J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *J Biochem Pharmacol Res.* 2013;1(1):15-26. PMID: 23662248

## КОГНИТИВНЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ: P300 В НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Игнатова Ю. П., Макарова И. И., Страхов К. А.

Кафедра физиологии с курсом теории и практики сестринского дела, ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, 170100, ул. Советская, 4, Тверь, Россия

**Для корреспонденции:** Игнатова Юлия Петровна, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры физиологии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России e-mail: [physiologtgma@mail.ru](mailto:physiologtgma@mail.ru)

**For correspondence:** Ignatova Ju. P., Associate Professor, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Physiology of Tver State Medical University, e-mail: [physiologtgma@mail.ru](mailto:physiologtgma@mail.ru)

### Information about author:

**Ignatova Ju. P.**, <https://orcid.org/0000-0003-3546-8861>

**Makarova I. I.**, <https://orcid.org/0000-0002-0297-3389>

**Strahov K. A.**, <https://orcid.org/0000-0001-9978-8798>

### РЕЗЮМЕ

В настоящем обзоре рассмотрены исследования когнитивных функций, проведенные с помощью вызванного потенциала P300. В современных условиях мозг человека получает и вынужден перерабатывать огромный поток информации. В связи с этим все большая роль в социальной адаптации отводится когнитивной деятельности. Для изучения электрической активности структур мозга во время умственной работы используется метод вызванных потенциалов. Процессы, связанные с познавательной сферой (память, внимание, переработка информации, принятие решения), находят отражение в когнитивных вызванных потенциалах. Суть анализа когнитивных процессов головного мозга заключается в том, что выделяются не только реакции на тот или иной основной раздражитель, но и происходящие в мозгу эндогенные события, связанные с узнаванием и запоминанием стимула. В настоящем обзоре показана широта использования метода когнитивных вызванных потенциалов, в частности P300, в разных областях медицины. Наряду с неинвазивностью данной методики, одной из положительных ее сторон является независимость результатов исследования от отношения пациента к процедуре, его мотивационного настроя. Анализ амплитудно-временных характеристик P300 позволяет не только оценить функциональное состояние высших отделов головного мозга, но и спрогнозировать влияние неблагоприятных факторов на познавательные функции. Это, в свою очередь, дает возможность своевременно провести мероприятия по улучшению условий для когнитивной работы, и тем самым снизить риск возникновения ошибочных действий в профессиональной деятельности. Объективность и информативность компонента P300 позволяют его использовать в процессе выявления ранних нарушений когнитивных функций, что позволит начать своевременную терапию и предотвратить усугубление ситуации в когнитивной сфере.

**Ключевые слова:** когнитивные вызванные потенциалы P300, когнитивные функции, практическое применение когнитивного вызванного потенциала P300.

### COGNITIVE EVOKED POTENTIALS: P300 IN NEUROPHYSIOLOGY AND CLINICAL PRACTICE

Ignatova Yu. P., Makarova I. I., Strahov K. A.

Tver State Medical University, Tver, Russia

### SUMMARY

This review considers the cognitive functions studied using the P300 evoked potential. In modern conditions, the human brain receives and processes a lot of information. Therefore, a large role in social adaptation belongs to cognitive activity. The method of evoked potentials is used to study the electrical activity of brain structures during mental work. Cognitive processes (memory, attention, information processing, decision making) are reflected in the cognitive evoked potentials. The analysis of the cognitive processes of the brain consists in clarifying the endogenous events occurring in the brain associated with the recognition and memorization of a stimulus. This review shows the breadth of the use of the method of the cognitive evoked potentials, in particular P300, in various fields of medicine. The method is non-invasive and independent of the patient's attitude to the procedure, his motivation. Analysis of the amplitude-time characteristics of P300 allows not only to assess the functional state of the higher parts of the brain, but also to predict the impact of adverse factors on cognitive functions. This makes it possible to improve the conditions for cognitive work in a timely and reduce the risk of errors in professional activities. Due to the objectivity and informativeness of P300, it can be used in the process of detecting early changes in cognitive functions and, accordingly, start timely therapy and prevent cognitive decline. Key words: event-related potentials, P300, cognitive functions, practical application of the cognitive evoked potential P300.

**Key words:** cognitive evoked potentials P300, cognitive functions, practical application of the cognitive evoked potential P300.

На современном этапе эволюции мозг человека получает и вынужден перерабатывать огромный поток информации. В связи с этим все большая роль в социальной адаптации отводится когнитивной деятельности. Для изучения электрической активности структур мозга во время умственной работы используется метод вызванных потенциалов (ВП). Ввиду неинвазивности и доступности на сегодняшний день метод ВП является единственным объективным способом оценки параметров проведения и переработки афферентной информации [1; 2].

Процессы, связанные с познавательной сферой (память, внимание, переработка информации, принятие решения), находят отражение в когнитивных вызванных потенциалах (КВП). Суть анализа когнитивных процессов головного мозга заключается в выделении не только реакции на тот или иной основной раздражитель, но и в происхождении в мозгу эндогенных событий, связанных с узнаванием и запоминанием стимула.

В случае развития патологии центральных отделов нервной системы, на ранних ее этапах трудно выявить начинающиеся изменения в когнитивной сфере без их объективной оценки, хотя при своевременной коррекции они обратимы. Маркером высших интегративных функций головного мозга, позволяющим объективно оценить степень нарушения когнитивных функций человека, являются КВП. В связи с этим значима роль методики регистрации КВП, в частности Р300, в ранней диагностике когнитивных изменений, а также в процессе динамического наблюдения и оценки эффективности проводимой терапии [3].

Р300 в большинстве случаев используется как электрофизиологическая мера когнитивной функции на этапе принятия решения, важная роль в котором принадлежит оперативной памяти и эффективности ее использования [2; 4].

Так, нейрофизиологические особенности переработки информации рассматривались в работе П. А. Продиус (2018) при регистрации ВП, в том числе и Р300. В зависимости от выполнения задания разной сложности было выделено две группы обследуемых: точная (0-4 ошибки) и неточная (5-9 ошибок). Относительно Р300 наблюдалась большая амплитуда в лобном и центральных отведениях у лиц точной группы в сравнении с неточной при усложнении задания. Более выраженную амплитуду Р300 автор объясняет усилением бдительности и снижением импульсивности [5].

В другом исследовании КВП Р300 использовался при оценке результативности и механизмов целенаправленной деятельности [6].

Амплитуда N2 и P3 волны Р300 была выделена авторами как один из прогностически важных показателей, отобранных искусственной нейронной сетью для классификации обследуемых по результативности целенаправленной деятельности.

Анализ параметров КВП Р300 осуществляли в процессе реализации функции подавления когнитивного контроля у лиц с различной латерализацией мозга [7]. Различия в амплитуде Р300 между группами обследуемых выражены по многим отведениям, широко распределенным в головном мозге в обоих условиях (Go и NoGo), что, вероятно, связано с перцептивной сложностью визуальных стимулов. На основе полученных данных авторы пришли к выводу, что использование ресурсов когнитивного контроля, отражающихся в параметрах Р300, различается у групп лиц с различными типами латеральной асимметрии.

Таким образом, электрофизиологические показатели позволяют более точно дифференцировать различия в осуществлении когнитивного контроля у лиц с различными вариантами асимметрии мозга.

В своей работе А. А. Баркар и Л. Д. Маркина регистрировали КВП Р300 у правшей и левшей [8]. Для диагностики функциональной межполушарной асимметрии использовалась разработанная авторами формула расчета индекса латентности Р300 с анализом отдельно по полушариям. Рассчитанный индекс латентности и амплитуда Р300 значительно отличались между правшами и левшами и были больше на стороне доминирующего полушария. Полученные данные указывают о возможности использовать КВП Р300 как дополнительный критерий в оценке функциональной межполушарной асимметрии.

Исходя из того, что Р300 является индикатором функционального состояния нервной системы, его параметры использовали для выявления влияния климатогеографических условий на когнитивные функции. Проживание в условиях Арктической зоны требует от организма напряжения адаптивных механизмов, в том числе со стороны центральной нервной системы. Анализ Р300 у школьников 16–17 лет, проживающих в данных климатических условиях, показал более продолжительную его латентность среди коренного населения в сравнении со сверстниками из других регионов [9]. Более длительная обработка информации по данным Р300 при отсутствии снижения его амплитуды у школьников среди коренного населения отражает адаптивные психофизиологические особенности популяции лиц, длительно проживающих на Севере.

В исследованиях Е. В. Кривоноговой проведена оценка влияния успешного биоуправления параметрами сердечного ритма на характеристики P300 у подростков Арктического региона. По мнению автора, с учетом полученных результатов, возможно разработать программы для коррекции дисбаланса вегетативной регуляции, эмоционального состояния и когнитивных функций в зависимости от индивидуальных особенностей и климатогеографических условий. Интеграция структур, отвечающих за работу вегетативной нервной системы и выполнение сложных когнитивных функций, позволила при биоуправлении ритмом сердца изучать как параметры variability сердечного ритма, так амплитудно-временные характеристики P300 [10].

Ю. В. Филиппова и Н. В. Пономарева в своей работе использовали параметры компонента P300 для объективизации латерализации инволюционных процессов в мозге при старении у мужчин и женщин [11]. Увеличение латентности P300 отмечалось с возрастом, как у мужчин, так и у женщин, причем у последних данная корреляционная связь была больше в правом полушарии. Полученные результаты указывают, что для женщин при нормальном старении характерно более значительное замедление обработки информации в правых теменных областях в сравнении с мужчинами - ровесниками. Авторы рекомендуют использовать метод КВП для выявления предрасположенности к развитию когнитивных дисфункций при старении.

Акцент на различия параметров P300 у представителей мужского и женского пола прослеживается и в других исследованиях. По результатам нейрофизиологического обследования процессы восприятия информации, ее дифференцировки и опознания более интенсивно происходят у мальчиков в сравнении с девочками младшего и среднего школьного возраста [12]. Относительно P300 большая его латентность в обоих полушариях была зарегистрирована у 8-летних девочек в сравнении с их сверстниками мужского пола, что свидетельствует о более быстром процессе принятия решений последними. Возрастной период 14–17 лет характеризуется отсутствием гендерных отличий КВП P300.

Представленные данные отражают неравномерный процесс развития головного мозга, и соответственно когнитивных функций среди мальчиков и девочек младшего и среднего школьного возраста.

Ранее в работе П. И. Козловой и Ю. С. Джос использована методика зрительных P300 при изучении биоэлектрической активности мозга в зависимости от пола [13]. Авторы рассматривали особенности протекания нервных процессов у

школьников при восприятии зрительной информации. По результатам исследования латентность компонента P2 была значимо меньше, а амплитуды компонентов P2, N2, P300 значимо больше у девушек. Полученные данные свидетельствуют о наличии различий в процессе распознавания зрительного стимула в зависимости от пола. По мнению авторов, различия в параметрах КВП свидетельствуют о более быстром темпе созревания центральной нервной системы у школьниц, характеризующийся увеличением доли произвольного внимания и оперативной памяти в процессе опознания стимула.

Гендерные особенности когнитивных функций Н. И. Скульская и М. В. Надеждина исследовали у мужчин и женщин в климактерический период [14]. У мужчин с низким уровнем тестостерона выявлено значимое увеличение латентности P300 в сравнении с лицами мужского пола с нормальным уровнем гормона; у женщин же с низким уровнем эстрадиола и тестостерона отсутствовало значимое увеличение латентности P300 и нейровизуализационные изменения головного мозга.

О. И. Клочкова и В. В. Гнездицкий, используя метод КВП, анализировали латентность компонентов N2 и P3 для представления времени между двумя нажатиями компьютерной мыши в процессе позиционной компьютерной игры [15]. Выявленные особенности когнитивных операций обследуемых мужского пола позволяют им действовать быстрее в сравнении с представительницами женского пола. Кроме этого, данные, полученные при регистрации КВП с нажатием кнопки, позволяют оценить частоту обращения к осознанным когнитивным процессам в рабочей памяти, связанную с количеством операций сравнения, принятия решения и активации действия.

P300, являясь мерой когнитивной функции в процессах принятия решения, используется в области экспертизы профессиональной пригодности. Так, КВП P300 был использован у работников локомотивных бригад в процессе моделирования элементов их профессиональной деятельности [16]. Результаты исследования показали, что «надежные» профессионально машинисты совершали на тренажере значимо меньше ошибок в поездной деятельности в сравнении с «ненадежными». При этом у последних длительность латентного периода P300 была значимо больше, что указывает на ухудшение когнитивных процессов на уровне принятия решения.

Таким образом, метод КВП позволяет объективно оценить характеристики когнитивных функций, устойчивость которых обязательна в профессиональной деятельности лиц операторских профессий. Своевременное обнаружение

изменений когнитивных процессов позволит избежать срыва надежности оператора, а соответственно ошибок, приводящим к авариям.

А. В. Шахановой и Л.Ш. Беданокковой при регистрации и анализе КВП на слуховые и зрительные стимулы было обнаружено увеличение амплитуды и уменьшение длительности интервалов N200-P300 в группах баскетболистов и дзюдоистов в сравнении с обследуемыми не занимающимися спортом [17]. Полученные данные позволяют говорить об ускоренной переработке информации и более эффективном использовании ресурсов оперативной памяти среди спортсменов. Авторы считают, что метод КВП в комплексе мероприятий полезен для оценки эффективности тренировочного процесса, а также для отбора спортсменов, наиболее подготовленных к соревнованиям.

P300 может быть использован как один из методов оценки влияния неблагоприятных, в том числе производственных факторов на когнитивные функции [18; 19]. Исследование умственной активности горнорабочих виброопасных профессий включало метод КВП [18]. В отношении P300 выявлены значимые изменения, свидетельствующие о когнитивных нарушениях (уменьшение амплитуды и увеличение латентного периода P300 в сравнении с группой контроля). Исследование ВП, в частности P300, является одним из важных инструментальных методов ранней диагностики когнитивного дефицита. Авторы обращают внимание, что параметры КВП являются абсолютно объективными, независимо от отношения пациентов к исследованию, и отражают самые незначительные отклонения в функционировании различных образований головного мозга, принимающих участие в формировании когнитивного потенциала.

В. В. Сериков и соавторы, анализируя работоспособность машинистов по соотношению процессов возбуждения и торможения, также использовали метод регистрации P300 [20]. Данное исследование при помощи методики КВП до и после моделирования профессиональной деятельности на тренажерном комплексе показало, что, несмотря на успешное выполнение задания в целом, были выявлены обследуемые, у которых латентный период компонентов P300 был значительно больше нормы. Данную категорию машинистов с дисбалансом процессов возбуждения и торможения распределили в «группу риска». Эти же лица совершали больше ошибок по окончанию поездки на тренажере, что свидетельствует о слабой работе адаптивных процессов в структурах головного мозга.

Проведенное исследование показывает, что метод КВП в комплексе нейробиологического

обследования помогает выявлять категорию лиц, для которых увеличение продолжительности рабочего времени может повлечь риск возрастания количества ошибочных действий в их профессиональной деятельности.

Эффективность выполнения когнитивных задач снижается в условиях гипоксии, что обусловлено нарушениями интегративной деятельности мозга, ошибками в принятии решений. Н. В. Шемякина и Ж. В. Нагорнова оценивали влияние нормобарической гипоксии на выполнение задач, изучая характеристики электроэнцефалограммы и КВП [21]. Изменений точности деятельности при выполнении задач и спектральной мощности электроэнцефалограммы (ЭЭГ) в условиях умеренной гипоксии не было обнаружено, однако, в данных условиях увеличивалась латентность когнитивного компонента P300, свидетельствующая о снижении скорости протекания процессов на стадии принятия решения. Полученные авторами результаты позволили сделать вывод, что волна P300 наиболее чувствительна к изменениям функционального состояния нервной системы, и тем самым наиболее информативна в сравнении с характеристиками спектральной мощности ЭЭГ.

Влияние фонового шума на когнитивные процессы, и, соответственно, на работоспособность анализировали у молодых и пожилых обследуемых [22]. При регистрации слухового КВП в тишине пожилые люди имели значительно большую латентность P300 в сравнении с молодыми людьми. В присутствии фонового шума в сравнении с тишиной латентность P300 была значительно больше также у пожилых обследуемых. Различий в амплитуде не обнаружено. Фоновый шум негативно сказывается на скорости обработки информации. Кроме того, следует учитывать возрастное ухудшение функционального состояния структур мозга, участвующих в формировании слухового P300.

В другом исследовании было изучено влияние нарушения режима сна на когнитивные функции у подростков с помощью P300, отражающего состояние интегративных процессов в мозге в процессе когнитивной деятельности [23]. В группе лиц с нарушением сна отмечалось снижение его качества, а также уменьшение амплитуды и увеличение латентности P300 в сравнении с контрольной группой. Кроме этого, анализ характеристик P300 показал, что качество предыдущего ночного сна определяет нейрональную активность как у обследуемых с нарушением сна, так и у здоровых подростков.

Оптимальная адаптация к окружающей среде во многом определяется эмоциональным фоном человека и его настроением в ожидании информации, что влияет на мозговую активность. Н. В.

Рева и соавторы регистрировали ВП при ослаблении негативных и усилении позитивных эмоций [24]. В случае уменьшения интенсивности негативных эмоций наблюдалось уменьшение амплитуды P300, усиление положительных эмоций не находило отражения в изменениях ВП, при этом авторы отмечают чувствительность P300 к осознанной регуляции, что отражает возможность управления процессами первичной оценки мотивационной значимости эмоциогенной информации.

К действию неблагоприятных факторов среды особенно чувствительны дети с повышенной тревожностью, так как используют значительное количество ресурсов на обработку поступающей информации и выработку ответных реакций. По мнению А. В. Грибанова и соавторов тревожность ребенка как сложный психологический и психофизиологический феномен требует системного подхода с использованием всех данных, полученных с помощью различных нейрофизиологических методов, в том числе и P300 [25].

Также P300 может выполнять роль маркера посттравматического стрессового расстройства, являющегося результатом мощного негативного воздействия на психику индивидуума и сопровождающееся повышенной тревожностью [26]. У обследуемых в данном психическом состоянии было выявлено уменьшение амплитуды и увеличение латентности P300 в сравнении со здоровыми лицами, полученные данные подтверждают развитие истощения нервной системы в условиях постоянного ее перенапряжения.

В другом исследовании обследуемых вводили в состояние стресса путем повышения температуры тела и регистрировали P300 [27]. В условиях пассивного теплового стресса отмечалось уменьшение амплитуды P300, свидетельствующее о снижении нейрональной активности в процессе когнитивной деятельности. После охлаждения, возвращения к нормальной температуре тела, активность нервной системы восстанавливалась, что находило отражение в увеличении амплитуды P300.

Таким образом, результаты исследований КВП у людей с высоким уровнем тревожности подтверждают наличие изменений в процессах восприятия и обработки поступающей информации на фоне различных эмоциональных состояний.

Помимо нейрофизиологии метод КВП, в частности P300, широко распространен и в клинической практике. В. В. Дульнев и Т. А. Слюсарь проводили сравнительную оценку параметров мультимодальных ВП (зрительных ВП на вспышку, акустических стволовых и акустических КВП) среди здоровых детей и с церебральным параличом [28]. Выявлено значимое

увеличение латентности всех компонентов КВП, что предполагает снижение объема оперативной памяти и концентрации активного внимания у детей с данной патологией. В отсутствие клинических проявлений когнитивных нарушений полученные данные свидетельствуют о морфофункциональной незрелости соответствующих структур головного мозга у детей с церебральным параличом. По мнению авторов метод КВП потенциально применим для объективной оценки степени когнитивного дефицита у больных детей и его следует включать в алгоритм диагностики данной патологии. Результаты, полученные по данной методике, следует использовать для раннего планирования реабилитационных мероприятий, направленных на предотвращение клинически значимого отставания когнитивных функций от сверстников, и соответственно повышение качества жизни пациентов.

В работе Н. А. Савельева и соавторов изучение слуховых КВП проводили у детей с моторной дисfazией, поскольку речевая функция тесно связана с мышлением, сознанием и памятью [29]. Характерным для детей с данной патологией было значимое увеличение латентности P300, свидетельствующее о нарушениях в процессах дифференцировки, запоминания и принятия решения, причем у четверых детей с моторной дисfazией полностью отсутствовал ответ в обоих полушариях, что рассматривается авторами как нарушение процессов восприятия, опознавания и дальнейшей дифференцировки стимулов.

Проведенное исследование еще раз подтверждает значимость КВП в оценке состояния центрального звена сенсорных систем без активного участия пациента, что особенно актуально в случае обследования детей.

Аналогичное исследование КВП P300 осуществляли при обследовании детей с дислексией [30]. Увеличение латентности и снижение амплитуды P300 у детей с данной патологией указывало на снижение способности и увеличение времени обработки информации при когнитивной нагрузке. Также было отмечено, что топографическое распределение изменений параметров P300 может быть использовано для последующего терапевтического вмешательства.

Высокоинформативный метод КВП позволяет оценить функционирование головного мозга. Латентность пиков при этом отражает длительность интегративных действий и обработки стимула в стратегических когнитивных зонах. А. Ф. Изнак и соавторы регистрировали слуховые КВП у больных с аффективно-бредовыми расстройствами в рамках приступообразной шизофрении [31]. В группе лиц с депрессивно-бредовым состоянием до лечения выраженность клинических симпто-

мов отражалась в уменьшении латентности всех компонентов слуховых КВП, в том числе и P3 (P300). По мнению авторов, полученные данные обусловлены дефицитом тормозных процессов в коре полушарий большого мозга в патогенезе шизофрении. В случае маниакально-бредовых состояний большая выраженность исходных клинических проявлений шизофрении ассоциировалась с большей латентностью компонента P3 слуховых КВП. На фоне проводимой терапии в стадии ремиссии при депрессивно-бредовых состояниях большая латентность пика P3 является одним из индикаторов остаточных симптомов депрессии и тревоги. У пациентов с маниакально-бредовым состоянием остаточные симптомы шизофрении находили отражение в большем значении латентности только компонента P3. Остаточные проявления маниакального аффекта на этапе становления ремиссии не находили отражения в изменении латентности слуховых КВП. Учитывая изменения латентности компонентов слуховых КВП, как считают авторы, данную методику возможно использовать как предикторы эффективности терапии аффективно-бредовых расстройств, но обязательно с учетом клинической симптоматики.

В другом исследовании КВП P300 использовали как «биологический маркер», определяющий предрасположенность к развитию шизофрении [32]. Сравнивали амплитуду волны P300 среди здоровых лиц, больных шизофренией, а также субъектов с генетически обусловленным высоким риском и имеющих клинически высокий риск развития шизофрении. В группе риска и больных выявлено значимое уменьшение амплитуды P300 в сравнении со здоровыми обследуемыми. Большая вариабельность данного параметра в процессе выполнения задания отмечалась среди больных и имеющих клинически высокий риск развития шизофрении. При этом в группе обследуемых с диагнозом шизофрения вариабельность P300 коррелировала с выраженностью негативных симптомов и результатами нейрокогнитивных функций. По полученным результатам авторы считают, что КВП P300 является эндофенотипом шизофрении.

Изучение когнитивных функций у пациентов с биполярным расстройством в стадии ремиссии показало значительную корреляцию величины амплитуды P300 с результатами нейропсихологических тестов [33]. Однако, ни амплитуда P300, ни результаты нейропсихологических тестов не коррелировали с результатами когнитивных жалоб обследуемых. Полученные данные подтверждают объективность метода КВП P300.

Перспективность использования метода ВП в диагностике состояния нервной системы рас-

сматривается у пациентов со стенозом позвоночного канала в поясничном отделе позвоночника [34]. В данной работе наряду с соматосенсорными, вегетативными кожными ВП оценивали параметры компонента P300 КВП. Результаты исследования показали, что у пациентов с исходно большей латентностью и низкой амплитудой P300 итог лечения был хуже, чем у больных с изначально нормальными параметрами P300. Однако, слабая связь тяжести стеноза позвоночного канала, болевого синдрома и изменений волны P300 позволяет последнее рассматривать всего лишь как психогенную составляющую болевого синдрома при данном заболевании.

А. О. Сельский и соавторы использовали разработанный ими дизайн эксперимента для изучения влияния визуального стимула на КВП у обследуемых, страдающих мигренью, и, соответственно, с выраженным угнетением когнитивных функций [35]. Выявленные особенности КВП по мнению авторов необходимо учитывать при настройке автоматизированных интерфейсов мозг-компьютер.

В клинике цереброваскулярных заболеваний все большее значение приобретают нарушения когнитивных функций [36; 37], что обуславливает широту использования метода КВП. Так, у обследуемых, подвергшихся облучению, в отдаленный его период отмечается рост цереброваскулярной патологии [37]. Обследование этих пациентов показало, что когнитивные нарушения более выражены в группе облученных с хронической ишемией головного мозга. Уменьшение латентности N1 указывает на ослабление тормозных процессов и нарушение произвольного внимания. Увеличение латентности P300, межпиковой латентности N2-P3 и N2-N3 свидетельствует о нарушении процессов обработки информации, снижении объема оперативной памяти.

Таким образом, КВП, отражая высшие интегративные функции головного мозга, могут служить объективными показателями механизмов нарушения когнитивных процессов.

Ранее нейрофизиологическое исследование (P300) проводили на участниках ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС [38]. Выявлена закономерность: с увеличением дозы облучения уменьшалась амплитуда компонента P300 и возрастал его латентный период. Полученные нейрофизиологические особенности свидетельствуют о радиочувствительности центральной нервной системы человека, так и о раннем старении мозга у ликвидаторов, вызванного воздействием малых доз радиации.

Параметры P300 оценивали при исследовании психических и нейрофизиологических

проявлений деятельности центральной нервной системы у лиц, подвергшихся радиационному воздействию в антенатальный период [39]. Среди обследуемых, подвергшихся радиационному воздействию во внутриутробный период, наблюдалось большее число лиц с увеличенной латентностью Р300 в сравнении с контрольной группой. Это свидетельствует о более глубоком изменении активности головного мозга в отдаленном периоде у лиц, облученных антенатально.

Полученные результаты, в том числе и методом КВП, по заключению автора могут быть использованы в диагностике и контроле терапии в случае радиационного воздействия, а также обосновывают необходимость превентивного лечения облученных лиц.

В. В. Семашко и соавторы использовали метод КВП при изучении путей оптимизации восстановления высших корковых функций у пациентов с церебральной ишемией [40]. Выявлено значимое увеличение латентности Р300 и снижение его амплитуды у пациентов с инфарктом мозга в первые сутки заболевания, что свидетельствует о когнитивных нарушениях. К концу острого периода инфаркта мозга после базовой терапии наблюдалась нормализация амплитудно-временных параметров Р300, что указывает на восстановление объема оперативной памяти и направленного внимания.

КВП Р300 как маркер когнитивных функций был рассмотрен у пациентов в подострый период инсульта до и после использования технологии Neurowave [41]. Согласно полученным результатам Р300 позволяет не только определить выраженность когнитивных нарушений, но и может быть прогностическим маркером когнитивного восстановления.

И.Б. Зуева и соавторы при оценке когнитивных функций с помощью слуховых КВП у пациентов с артериальной гипертензией обнаружили увеличение латентности Р300 и снижение его амплитуды [42]. Также в данной группе выявлена связь Р300 с уровнем диастолического артериального давления и отрицательная корреляция с показателями нейропсихологических тестов. Проведенное исследование свидетельствует об информативности метода КВП, дополняющего клиничко-нейропсихологическое исследование в диагностике когнитивных расстройств в среднем возрасте у пациентов с артериальной гипертензией, которая является одним из основных патогенетических факторов развития сосудистой деменции.

Исследование Р300 может быть использовано для ранней диагностики когнитивных дисфункций у данной категории больных.

Т.Л. Оленская и соавторы также оценивали латентность Р300 у больных с артериальной гипертензией [43]. Авторы подтверждают эффективность метода КВП при когнитивных нарушениях, особенно в отсутствие изменений в тестах, и по их мнению, КВП информативен и может быть использован для раннего выявления лиц с повышенным риском развития изменений в познавательной сфере. Значимое уменьшение латентного периода волны Р300 после немедикаментозного лечения обосновывает целесообразность включения в схемы профилактики и реабилитации пожилых пациентов с артериальной гипертензией курсов адаптации к гипобарической гипоксии, а также дозированных физических тренировок «Скандинавская ходьба с палками». Наряду с улучшением показателей когнитивных функций, повышением самооценки физического состояния, уменьшением проявлений тревожно-депрессивного синдрома, снижается количество используемых лекарств и риск ее осложнений.

Регистрация КВП является более предпочтительным методом оценки степени когнитивных нарушений в отличие от нейропсихологических тестов у пациентов с физическими недостатками - неврологический дефицит при рассеянном склерозе [44]. В отличие от результатов тестирования, не коррелировавших с длительностью и тяжестью заболевания, значимое увеличение латентности Р300 прослеживалось у пациентов по мере увеличения длительности и тяжести заболевания. И.Е. Повереннова и соавторы в своем исследовании продемонстрировали важность Р300 для оценки нарушений когнитивных функций на ранних стадиях рассеянного склероза, поскольку на этом этапе их не удается выявить при неврологическом осмотре.

Q. Zeng и соавторы использовали Р300 как один из инструментов когнитивной оценки при идиопатических воспалительных демиелинизирующих заболеваниях [45]. Авторами исследования выявлено увеличение латентности Р300, которая отрицательно коррелировала с результатом тестирования по Монреальской когнитивной шкале. При этом амплитуда Р300 уменьшалась и положительно коррелировала с итогом опросника. Проведенное исследование подтверждает, что Р300 полезен для выявления когнитивного дефицита при данной патологии.

Информативность Р300 как надежного показателя когнитивных функций отмечена и при изучении влияния глубокой стимуляции мозга различной частоты на выраженность симптомов болезни Паркинсона [46]. Значительное увеличение латентности обнаружено при частоте стимуляции 130 Гц в сравнении с частотами 80 и 60

Гц, а также в отсутствие стимуляции. Значимых изменений амплитуды P300, ни при какой частоте стимуляции не наблюдалось. По полученным данным стимуляция частотой 60 и 80 Гц оказывает меньшее влияние на внимание и когнитивные процессы у пациентов с болезнью Паркинсона.

Объективность метода КВП для оценки функции внимания и скорости переработки информации использовалась у пациентов с эпилепсией, обязательным компонентом клинической картины которой являются нарушения когнитивных процессов [47]. Изменения познавательных функций у больных эпилепсией на уровне когнитивных нарушений (по результатам опросника) подтверждались в показателях нейрофизиологического исследования P300.

М. Gongora и соавторы осуществляли регистрацию P300 у здоровых людей до и после приема противоэпилептического средства или плацебо [48]. Как показали результаты, в случае приема Levetiracetam наблюдалось уменьшение латентного периода P300 в сравнении с плацебо, и тем самым, P300 позволяет не только оценить когнитивную активность мозга, но и спрогнозировать эффект лечебной терапии.

Н. В. Пономарева и соавторы исследовали параметры слуховых КВП при выявлении их связи с полиморфизмом гена предрасположенности к болезни Альцгеймера [49]. Увеличение латентности P300 слуховых КВП было обнаружено у здоровых лиц-носителей генотипа риска болезни Альцгеймера PICALM GG в возрастной группе старше 50 лет. Полученные результаты свидетельствуют о замедлении информационных процессов при старении, что обусловлено нейрональной дисфункцией и субклиническими нейродегенеративными процессами в коре полушарий большого мозга.

Рассмотренные в нашем обзоре исследования показывают широту использования метода КВП, в частности P300, в разных областях медицины. Наряду с неинвазивностью данной методики одной из положительных ее сторон является независимость результатов исследования от отношения пациента к процедуре, его мотивационного настроения. Анализ амплитудно-временных характеристик P300 позволяет не только оценить функциональное состояние высших отделов головного мозга, но и спрогнозировать влияние неблагоприятных факторов на познавательные функции. Это в свою очередь дает возможность своевременно провести мероприятия по улучшению условий для когнитивной работы, и тем самым снизить риск возникновения ошибочных действий в профессиональной деятельности.

В статье продемонстрирована объективность и информативность компонента P300 в процес-

се выявления ранних нарушений когнитивных функций, что позволит начать своевременную терапию и предотвратить усугубление ситуации в когнитивной сфере.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Торопина Г. Г. Вызванные потенциалы: руководство для врачей. М.: МЕДпресс-информ; 2016.
2. Макарова И. И., Игнатова Ю. П., Маркова К. Б. Вызванные потенциалы мозга как биоэлектрический феномен, отражающий функциональное состояние нервной системы. Верхневолжский медицинский журнал. 2016;3:29–36.
3. Жарикова А. В., Пономарев В. В. Возможности применения когнитивного вызванного потенциала P300 в клинической практике. Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. 2012;2:105-116.
4. Гнездицкий В. В., Корепина О. С., Чацкая А. В., Ключкова О. И. Память, когнитивность и эндогенные вызванные потенциалы мозга: оценка нарушения когнитивных функций и объема оперативной памяти без психологического тестирования. Успехи физиологических наук. 2017;48(1): 3-23.
5. Продюс П. А. Нейрофизиологические маркеры точности переработки информации. Вестник новых медицинских технологий. 2018;1:51-59.
6. Зорин Р. А., Жаднов В. А., Лапкин М. М. Электрофизиологические корреляты системной организации физиологических функций у лиц с различной результативностью целенаправленной деятельности. Вестник новых медицинских технологий. 2016; 23(2):44-49. doi:10.12737/20423.
7. Маракшина Ю. А., Вартанов А. В., Беспалов Б. И. Роль латеральной асимметрии в задаче подавления ответа по компонентам вызванных потенциалов. Психология. Журнал Высшей школы экономики. 2017;14(4):679-697. doi:10.17323/1813-8918-2017-4-679-697
8. Баркар АА., Маркина ЛД. Когнитивные вызванные потенциалы, как дополнительный критерий в оценке функциональной межполушарной асимметрии. Асимметрия. 2019;13(2):17-23. doi:10.25692/ASY.2019.13.2.003.
9. Кривоногова Е. В. Когнитивный вызванный потенциал р300у школьников 16-17 лет, проживающих в регионах Арктической зоны РФ. Журнал медико-биологических исследований. 2020;8(4):360-367. doi:10.37482/2687-1491-Z028.
10. Кривоногова Е. В. Особенности характеристик акустического когнитивного вызванного потенциала при успешном биоуправлении параметрами ритма сердца у подростков арктического региона России.

- Экология человека. 2016;1:26-31. doi:10.33396/1728-0869-2016-1-26-31
11. Филиппова Ю. В., Пономарева Н. В. Латерализация изменений когнитивных вызванных потенциалов при нормальном старении: гендерные различия и значение для развития когнитивных расстройств. Асимметрия. 2018;12(4):628-630. doi:10.18454/ASY.2018.12.4.027.
12. Калинина Л. П., Джос Ю. С., Волокитина Т. В. Когнитивные вызванные потенциалы P300 у мальчиков и девочек 7-17 лет. Экология человека. 2018;7:43-47. doi:10.33396/1728-0869-2018-7-43-47.
13. Козлова П. И., Джос Ю. С. Характеристика зрительных когнитивных вызванных потенциалов у школьников 13-18 лет в зависимости от пола. Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Естественные науки. 2014;1:64-71.
14. Скульская Н. И. Надеждина М. В. Динамика когнитивного вызванного потенциала P300 и гендерные особенности когнитивных нарушений в климактерическом периоде. Уральский медицинский журнал. 2013;1(106): 59-62.
15. Клочкова О. И., Гнездицкий В. В. Использование когнитивных вп (р300) для оценки частоты возможных обращений к рабочей памяти игрока при взаимодействии с компьютером. Физиология человека. 2018;44(1):20-29. doi:10.7868/S0131164618010034.
16. Колягин В. Я., Сериков В. В. Методологические аспекты применения когнитивных вызванных потенциалов у лиц операторских профессий. Медицина труда и промышленная экология. 2017;7:9-12.
17. Шаханова А. В., Беданоква Л. Ш. Особенности влияния спортивных нагрузок различной тренировочной направленности на параметры когнитивных вызванных потенциалов в ситуации внимания. Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки. 2012; 4 (110):86-92.
18. Борзунова Ю. М. Вызванные потенциалы головного мозга в оценке сенсорных и когнитивных функций у горнорабочих виброопасных профессий. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012;38(1):61-62.
19. Xie J. Q., Yan Y. L., Yi G. L., Lu Z. N. Cognitive function analysis of chronic lead poisoning in adults. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing ZaZhi. 2021;39(5):343-45. doi:10.3760/cma.j.cn121094-20200218-00062.
20. Сериков В. В., Обознов А. А., Колягин В. Я., Закревская А. А. Диагностика процессов соотношения возбуждения и торможения в коре головного мозга машинистов методом вызванного потенциала (P-300). Институт психологии Российской академии наук. Организационная психология и психология труда. 2018; 3(2): 166-182.
21. Шемякина Н. В., Нагорнова Ж. В. Изменения когнитивных вызванных потенциалов и спонтанной биоэлектрической активности в условиях нормобарической гипоксии. Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2018; 104(11): 1368-1380. doi: 10.1134/S0869813918110109
22. Mc Cullagh J., Shinn J. B. Auditory P300 in Noise in Younger and Older Adults. J Am Acad Audiol. 2018;29(10):909-916. doi:10.3766/jaaa.17077.
23. Aseem A., Hussain M. E. Sleep quality and its effect on event related potential P300 in adolescents with and without sleep disturbances. Int J Adolesc Med Health. 2019; 34(1). doi:10.1515/ijamh-2019-0097.
24. Рева Н. В., Павлов С. В., Коренек В. В., Локтев К. В., Тумялис А. В., Брак И. В. Регуляция положительных и отрицательных эмоций у человека: исследование вызванных потенциалов головного мозга. Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2015;101(1):114-122.
25. Грибанов А. В., Панков М. Н., Депутат И. С., Нехорошкова А. Н., Старцева Л. Ф., Кожевникова И. С. Нейрофизиологические подходы к оценке тревожности у детей. Современные проблемы науки и образования. 2018;6:106.
26. Shim M., Jin M. J., Chang-Hwan Im C. H., Lee S. H. Machine-learning-based classification between post-traumatic stress disorder and major depressive disorder using P300 features. NeuroimageClin. 2019;24:102001. doi:10.1016/j.nicl.2019.102001.
27. Nakata H., Kakigi R., Shibasaki M. Effects of passive heat stress and recovery on human cognitive function: An ERP study. PLoS One. 2021;16(7):e0254769. doi: 10.1371/journal.pone.0254769.
28. Дульнев В. В., Слюсарь Т. А. Мультимодальные (зрительные, слуховые, когнитивные) вызванные потенциалы у детей с церебральным параличом. Медицинский алфавит. 2020;22:52-55. doi:10.33667/2078-5631-2020-22-52-55.
29. Савельева Н. А., Анисимов Г. В., Калашникова Т. П. Показатели когнитивных вызванных потенциалов у детей с речевым дизонтогенезом. Фундаментальные исследования. 2015;1-2:346-349.
30. Papagiannopoulou E. A., Lagopoulos J. P300 event-related potentials in children with dyslexia. Ann Dyslexia. 2017;67(1):99-108. doi:10.1007/s11881-016-0122-6.
31. Изнак А. Ф., Изнак Е. В., Пантелеева Г. П., Олейчик И. В., Абрамова Л. И., Столяров С. А. Слуховые когнитивные вызванные потенциалы в динамике терапии аффективно-бредовых состояний. Физиология человека. 2014;40(6):7. doi:10.7868/S0131164614060034.
32. Kim M., Lee T. H., Kim J. H., Hong H., Lee T. Y., Lee Y. Decomposing P300 into correlates of genetic risk and current symptoms in schizophrenia: An inter-trial variability analysis. Schizophr Res. 2018;192:232-239. doi:10.1016/j.schres.2017.04.001.
33. Toyoshima K., Toyomaki A., Miyazaki A., Martinez-Aran A., Vieta E., Kusumi I. Associations between cognitive impairment and P300 mean amplitudes in individuals with bipolar disorder in remission. Psychiatry Res. 2020;290:113125. doi: 10.1016/j.psychres.2020.113125.

34. Адамбаев З. И. Прогностическая значимость показателей электронейромиографии и вызванных потенциалов при стенозе позвоночного. Медицинские новости. 2019;6:69–38.

35. Сельский А. О., Журавлёв М. О., Руннова А. Е. Влияние положения объекта на вызванные потенциалы во время длительных когнитивных тестов. Ученые записки физического факультета Московского университета. 2021; 5: 2150701.

36. Азизова Т. В., Банникова М. В., Мосеева М. В., Григорьева Е. С., Крупенина Л. Н. Смертность от цереброваскулярных заболеваний в когорте работников, подвергшихся профессиональному облучению. Неврологический журнал. 2016;21(4):226-231. doi:10.18821/1560-9545-2016-21-4-226-231.

37. Литвинчук Е. А., Кантина Т. Э., Буртовая Е. Ю. Результаты исследования когнитивных вызванных потенциалов у лиц, подвергшихся радиационному воздействию. Бюллетень сибирской медицины. 2019; 18(4): 85-91. doi: 10.20538/1682-0363-2019-4-85-91

38. Loganovsky K. M., Kuts K. V. Cognitive evoked potentials P300 after radiation exposure. Probl Radiat Med Radiobiol. 2016; 21: 264-290.

39. Буртовая Е. Ю., Кантина Т. Э., Белова М. В., Аклеев А. В. Психический и нейрофизиологический статус лиц, подвергшихся радиационному воздействию в период антенатального развития. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2014; 4(85):57-60.

40. Семашко В. В., Шамова Т. М., Самушия К. А., Попова Г. В., Петрова О. В. Оптимизация процесса реабилитации пациентов с церебральной ишемией, по данным когнитивных вызванных потенциалов. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2017; 15(4): 396-399. doi: 10.25298/2221-8785-2017-15-4-396-399.

41. Salvo S. D., Buono V. L., Bonanno L., Micchia K., Cartella E., Romeo L. Role of visual P300 in cognitive assessment of subacute stroke patients: a longitudinal study. Int J Neurosci. 2020;130(7):722-726. doi:10.1080/00207454.2019.1705808.

42. Зуева И. Б., Кривонос Д. С., Буч А. В. Оценка когнитивных функций с помощью когнитивного вызванного потенциала у пациентов с артериальной гипертензией. Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. 2017;5(13):10-16.

43. Оленская Т. Л., Николаева Ю. В., Маличенко А. А., Николаева А. Г. Применение адаптации к гипобарической гипоксии и физических тренировок для коррекции синдрома когнитивных нарушений у пациентов с артериальной гипертензией. Здоровье для всех. 2019;1:8-15.

44. Повереннова И. Е., Романова Т. В., Захаров А. В., Хивинцева Е. В. Раннее выявление когнитивных нарушений у пациентов с рассеянным склерозом. Саратовский научно-медицинский журнал. 2017; 13(1): 164-168.

45. Zeng Q., Dong X., Ruan C., Hu B., Zhou B., Xue Y. et al. Cognitive impairment in Chinese IIDDs revealed by MoCA and P300. MultSclerRelatDisord. 2017; 16: 1-7. doi: 10.1016/j.msard.2017.05.006.

46. Romagnolo A., Zibetti M., Lenzi M., Vighetti S., Pongmala C., Artusi C. A. Low frequency subthalamic stimulation and event-related potentials in Parkinson disease. Parkinsonism Relat Disord. 2021;82:123-127. doi:10.1016/j.parkreldis.2020.12.007.

47. Махмудова З. Т. Изменения показателя когнитивного вызванного потенциала P300 при эпилепсии взрослых. Журнал теоретической и клинической медицины. 2016; 3:107-110.

48. Gongora M., Nicoliche E., Magalhães J., Vicente R., Teixeira S., Bastos V.H., et al. Event-related potential (P300): the effects of levetiracetam in cognitive performance. Neurol Sci. 2021;42(6):2309-2316. doi:10.1007/s10072-020-04786-8.

49. Пономарева Н. В., Андреева Т. В., Протасова М. А., Филиппова Ю. В., Колесникова Е. П., Фокин В. Ф. Генетическая ассоциация гена предрасположенности к болезни Альцгеймера PICALM с показателями когнитивных слуховых вызванных потенциалов при старении. Биохимия. 2018;83(9):1351-1360. doi: 10.1134/S0320972518090099.

## REFERENCES

1. Toropina G. G. Evoked potentials: a guide for physicians. M.: MEDpress-inform; 2016. (In Russ.).

2. Makarova I. I., Ignatova Yu. P., Markova K. B. Evoked brain potentials as bioelectrical phenomenon reflecting the functional state of the nervous system. Verkhnevolzhskii meditsinskii zhurnal. 2016;3:29–36. (In Russ.).

3. Zharikova A. V., Ponomarev V. V. Indications for use of cognitive evoke potential P300 in clinical practice. Izvestiya Natsional'noi akademiin nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk. 2012;2:105-116. (In Russ.).

4. Gnezditskii V. V., Korepina O. S., Chatskaya A. V., Klochkova O. I. Memory, cognition and the endogenous evoked potentials of the brain: the estimation of the disturbance of cognitive functions and capacity of working memory without the psychological testing. Uspekhifiziologicheskikh nauk. 2017;48(1):3-23. (In Russ.).

5. Prodius P. A. Neurophysiological markers of precision of information processing. Journal of New Medical Technologies. 2018;1:51-59. (In Russ.).

6. Zorin R. A., Zhadnov V. A., Lapkin M. M. Electrophysiological correlates of the system organization of the physiological functions in people with different effectiveness of purposeful activity. Journal of New Medical Technologies. 2016;23(2):44-49. (In Russ.). doi:10.12737/20423.

7. Marakshina Yu. A., Vartanov A. V., Bespalov B. I. Role of the lateral asymmetry in response inhibition task in event-related potentials components. Psikhologiya.

- ZhurnalVysheishkolyekonomiki. 2017;14(4):679-697. (In Russ.). doi: 10.17323/1813-8918-2017-4-679-697.
8. Barkar A. A., Markina L. D. Cognitive evoked potentials, as additional criterion in the estimation of functional interhemispheric asymmetry. *Asimmetriya*. 2019; 13(2): 17-23. (In Russ.). doi: 10.25692/ASY.2019.13.2.003.
9. Krivonogova E. V. Event-related potential P300 in 16-17-year-old schoolchildren living in the Arctic zone of the Russian Federation. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy*. 2020; 8(4): 360-367. (In Russ.). doi: 10.37482/2687-1491-Z028.
10. Krivonogova E. V. Features of auditory cognitive evoked potentials P300 in successful heart rate variability biofeedback in adolescents living in Arctic area. *Human Ecology*. 2016; 1: 26-31. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2016-1-26-31.
11. Filippova Yu. V., Ponomareva N. V. Lateralization of cognitive evoked potential changes in normal aging: gender differences and implications for cognitive development of cognitive disorders. *Asimmetriya*. 2018; 12(4): 628-630. (In Russ.). doi: 10.18454/ASY.2018.12.4.027
12. Kalinina L. P., Dzhos Yu. S., Volokitina T. V. Cognitive event-related potentials p300 in schoolchildren aged 7-17 years. *Human Ecology*. 2018;7:43-47. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2018-7-43-47
13. Kozlova P. I., Dzhos Yu. S. Sex-related characteristics of visual cognitive evoked potentials in schoolchildren aged 13-18 years. *Arctic Environmental Research*. 2014;1:64-71. (In Russ.).
14. Skul'skaya N. I., Nadezhdina M. V. The dynamics of cognitive evoked potential p300 and gender features of cognitive impairment in climacteric. *Ural'skiy medicinskiy zhurnal*. 2013;1(106):59-62. (In Russ.).
15. Klochkova O. I., Gnezdiczkij V. V. Use of cognitive evoked potentials (p300) as an approach to assessing the frequency of possible requests towards the working memory of players during computer games. *Human Physiology*. 2018; 44(1): 20-29. (In Russ.). doi:10.7868/S0131164618010034.
16. Kolyagin V. Ya., Serikov V. V. Methodologic aspects of cognitive evoked potentials in operator occupations. *Meditsina truda i promyshlennay aekologiya*. 2017; 7: 9-12. (In Russ.).
17. Shakhanova A. V., Bedanokova L. Sh. Features of influence of sports loads of the various training orientations on parameters of the cognitive evoked potentials related to the engagement of attention. *Vestnik Adygejskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 4: Estestvenno-matematicheskie i tekhnicheskie nauki*. 2012;4(110): 86-92. (In Russ.).
18. Borzunova Yu. M. Evoked potentials of the brain in the estimation touch and cognitive functions at miners vibration of trades. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2012; 1 (38): 61-62. (In Russ.).
19. Xie J. Q., Yan Y. L., Yi G. L., Lu Z. N. Cognitive function analysis of chronic lead poisoning in adults. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2021; 39(5): 343-345. doi:10.3760/cma.j.cn121094-20200218-00062
20. Serikov V.V., Oboznov A.A., Kolyagin V.Ya., Zakrevskaya A.A. Application of the cognitive evoked potential P-300 for the evaluation of the brain work of locomotive drivers. *Institute of psychology of the Russian Academy of Sciences. Organizational Psychology and Labor Psychology*. 2018; 3(2): 166-182. (In Russ.).
21. Shemyakina N. V., Nagornova Zh.V. Changes of bioelectrical activity and cognitive event related potentials in the influence of the normobaric hypoxia. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2018; 104(11): 1368-1380. (In Russ.). doi: 10.1134/S0869813918110109.
22. McCullagh J., Shinn J. B. Auditory P300 in Noise in Younger and Older Adults. *J Am Acad Audiol*. 2018;29(10): 909-916. doi: 10.3766/jaaa.17077.
23. Aseem A., Hussain M. E. Sleep quality and its effect on event related potential P300 in adolescents with and without sleep disturbances. *Int J Adolesc Med Health*. 2019; 34(1). doi: 10.1515/ijamh-2019-0097.
24. Reva N. V., Pavlov S. V., Korenek V. V., Loktev K. V., Tumyalis A. V., Brak I. V. The regulation of negative and positive emotions during picture viewing: an ERP study. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2015;101(1):114-122. (In Russ.).
25. Gribanov A. V., Pankov M. N., Deputat I. S., Nekhoroshkova A. N., Starceva L. F., Kozhevnikova I. S. Neurophysiological approaches to analysis of anxiety in children. *Modern Problems of Science and Education. Surgery*. 2018 6:106. (In Russ.).
26. Shim M., Jin M. J., Im C. H., Lee S. H. Machine-learning-based classification between post-traumatic stress disorder and major depressive disorder using P300 features. *Neuroimage Clin*. 2019;24:102001. doi: 10.1016/j.nicl.2019.102001
27. Nakata H., Kakigi R., Shibasaki M. Effects of passive heat stress and recovery on human cognitive function: An ERP study. *PLoS One*. 2021;16(7):e0254769. doi: 10.1371/journal.pone.0254769
28. Dul'nev V. V., Slyusar' T. A. Multi-modal (visual, acoustic, cognitive) evoked potentials in children with cerebral palsy. *Medicinskijalfavit*. 2020; 22: 52-55. (In Russ.). doi: 10.33667/2078-5631-2020-22-52-55.
29. Savel'eva N. A., Anisimov G.V., Kalashnikova T.P. Indicators cognitive evoked potentials children with speech dysontogenesis. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2015; 1-2: 346-349. (In Russ.).
30. Papagiannopoulou E. A., Lagopoulos J. P300 event-related potentials in children with dyslexia. *Ann Dyslexia*. 2017;67(1):99-108. doi:10.1007/s11881-016-0122-6.
31. Iznak A. F., Iznak E. V., Panteleeva G. P., Olejchik I. V., Abramova L. I., Stolyarov S. A. Event-related evoked potentials in the course of treatment of affective-delusional conditions. *Human Physiology*. 2014;40(6):7. (In Russ.). doi: 10.7868/S0131164614060034.

32. Kim M., Lee T.H., Kim J. H., Hong H., Lee T. Y., Lee Y. Decomposing P300 into correlates of genetic risk and current symptoms in schizophrenia: An inter-trial variability analysis. *Schizophr Res.* 2018;192:232-239. doi:10.1016/j.schres.2017.04.001.
33. Toyoshima K., Toyomaki A., Miyazaki A., Martinez-Aran A., Vieta E., Kusumi I. Associations between cognitive impairment and P300 mean amplitudes in individuals with bipolar disorder in remission. *Psychiatry Res.* 2020;290:113125. doi: 10.1016/j.psychres.2020.113125
34. Adambaev Z. I. Spinal stenosis, degenerative-dystrophic diseases of the spine. *Meditinskije novosti.* 2019; 6: 69–71. (In Russ.).
35. Sel'skij A. O., ZHuravlyov M. O., Runnova A. E. Influence of object position on evoked potentials during long-term cognitive tests. *Moscow University Physics Bulletin.* 2021; 5: 2150701. (In Russ.).
36. Azizova T. B., Bannikova M. B., Moseeva M. B., Grigor'eva E. S., Krupenina L. N. Mortality rate from cerebrovascular diseases in workers occupationally exposed to ionizing radiation. *Neurological Journal.* 2016;21(4):226-231. (In Russ.). doi: 10.18821/1560-9545-2016-21-4-226-231.
37. Litvinchuk E. A., Kantina T. E., Burtovaya E. Yu. Findings of the study of cognitive evoked potentials in persons exposed to radiation. *Bulleten' sibirskoj mediciny.* 2019; 18(4): 85-91. (In Russ.). doi: 10.20538/1682-0363-2019-4-85-91.
38. Loganovsky K. M., Kuts K. V. Cognitive evoked potentials P300 after radiation exposure. *ProblRadiac Med Radiobiol.* 2016;21:264-290.
39. Burtovaya E. Yu., Kantina T. E., Belova M. V., Akleev A. V. Mental and neurophysiological status of persons exposed to radiation during antenatal development. *Siberian Journal of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2014; 4(85): 57-60. (In Russ.).
40. Semashko V. V., SHamova T. M., Samushiya K. A., Popova G. V., Petrova O. V. Optimization of rehabilitation process in patients with cerebral ischemia according to cognitive evoked potentials. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta.* 2017;15(4):396-399. (In Russ.). doi: 10.25298/2221-8785-2017-15-4-396-399.
41. Salvo S. D., Buono V. L., Bonanno L., Micchia K., Cartella E., Romeo L. Role of visual P300 in cognitive assessment of subacute stroke patients: a longitudinal study. *Int J Neurosci.* 2020;130(7):722-726. doi: 10.1080/00207454.2019.1705808
42. Zueva I. B., Krivonosov D. S., Buch A. V. Assessment of cognitive functions using cognitive evoked potential in patients with arterial hypertension. *International Heart and Vascular Disease Journal.* 2017; 5(13): 10-16. (In Russ.).
43. Olenskaya T. L., Nikolaeva Yu. V., Malichenko A. A., Nikolaeva A. G. Application of adaptation to hypobaric hypoxia and physical trainings for correction of syndrome cognitive disturbance of patients with arterial hypertension. *Zdorov'e dlya vseh.* 2019; 1: 8-15. (In Russ.).
44. Poverennova I. E., Romanova T. V., Zaharov A. V., Hivinceva E. V. Early detection of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *Saratov Journal of Medical Scientific Research.* 2017;13(1):164-168. (In Russ.).
45. Zeng Q., Dong X., Ruan C., Hu B., Zhou B., Xue Y. et al. Cognitive impairment in Chinese IIDDs revealed by MoCA and P300. *MultSclerRelatDisord.* 2017; 16: 1-7. doi: 10.1016/j.msard.2017.05.006
46. Romagnolo A., Zibetti M., Lenzi M., Vighetti S., Pongmala C., Artusi C. A. Low frequency subthalamic stimulation and event-related potentials in Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2021;82:123-127. doi:10.1016/j.parkreldis.2020.12.007.
47. Mahmudova Z. T. Changes in the index of cognitive evoked potential P300 in adult epilepsy. *Zhurnal teoreticheskoy i klinicheskoy mediciny.* 2016;3:107-110. (In Russ.).
48. Gongora M., Nicoliche E., Magalhães J., Vicente R., Teixeira S., Bastos V. H. Event-related potential (P300): the effects of levetiracetam in cognitive performance. *Neurol Sci.* 2021;42(6):2309-2316. doi: 10.1007/s10072-020-04786-8
49. Ponomareva N. V., Andreeva T. V., Protasova M. A., Filippova Yu. V., Kolesnikova E. P., Fokin V. F. Genetic association between Alzheimer's disease risk variant of the PICALM gene and auditory event-related potentials in aging. *Biochemistry.* 2018; 83(9):1351-1360. (In Russ.). doi: 10.1134/S0320972518090099