

Тихоокеанский медицинский журнал

2022, № 1 (87)

Январь–март 2022 г.

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 1997 года. Выходит один раз в три месяца

Главный редактор *Шуматов В.Б.*, д-р мед. наук, проф.

Зам. главного редактора: *Елисеева Е.В.*, д-р мед. наук, проф., *Черток В.М.*, д-р мед. наук, проф.

Научный редактор *Калиниченко С.Г.*, д-р мед. наук, доц.

Ответственный секретарь *Колпаков С.Л.*, канд. мед. наук, доц.

Ответственные редакторы номера: *Елисеева Е.В.*, д-р мед. наук, проф., *Черток В.М.*, д-р мед. наук, проф.

Редакционная коллегия

Антоненко Ф.Ф., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Москва)

Беседнова Н.Н., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Владивосток)

Гельцер Б.И., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Владивосток)

Говорин А.В., д-р мед. наук, проф. (Чита)

Гринштейн Ю.И., д-р мед. наук, проф. (Красноярск)

Дюйзен И.В., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Владивосток)

Ковтун О.П., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Екатеринбург)

Козлов В.К., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Хабаровск)

Козлов Р.С., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Смоленск)

Колосов В.П., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Благовещенск)

Кучма В.Р., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Москва)

Маринкин И.О., д-р мед. наук, проф. (Новосибирск)

Невзорова В.А., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Обухова Т.М., д-р мед. наук, проф. (Омск)

Павлов В.Н., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Уфа)

Пиголкин Ю.И., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Москва)

Стегний К.В., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Владивосток)

Стоник В.А., д-р биол. наук, проф., акад. РАН (Владивосток)

Транковская Л.В., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Чазова И.Е., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Москва)

Черняк Б.А., д-р мед. наук, проф. (Иркутск)

Шуматова Т.А., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Маркелова Е.В., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Перельман Ю.М., д-р мед. наук, проф. (Благовещенск)

Полещиков А.В., д-р биол. наук, проф. (С.-Петербург)

Рыжавский Б.Я., д-р мед. наук, проф. (Хабаровск)

Хотимченко Ю.С., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Чумакова Г.А., д-р мед. наук, проф. (Барнаул)

Международный редакционный совет

Jin Liang Hong, MD, PhD, Prof. (Academy of Military Medical Sciences, China)

Nakamura A., MD, PhD, Prof. (University of Hiroshima, Japan)

Rzhetsky A.Yu., MD, PhD, Prof. (University of Chicago, USA)

Sorokin V.A., MD, PhD (National University Heart Centre, Singapore)

Torchilin V.P., MD, PhD, Prof. (Northeastern University, USA)

Watanabe T., MD, PhD, Prof. (Hokkaido Bunkyo University, Japan)

Zhao Baochang, MD, PhD, Prof. (Chinese Academy of Sciences, China)

Редакционный совет

Адрианов А.В., д-р биол. наук, проф., акад. РАН (Москва)

Белевский А.С., д-р мед. наук, проф. (Москва)

Ботвинкин А.Д., д-р мед. наук, проф. (Иркутск)

Горовой П.Г., д-р биол. наук, проф., акад. РАН (Владивосток)

Давидович И.М., д-р мед. наук, проф. (Хабаровск)

Кожевников В.А., д-р мед. наук, проф. (Барнаул)

Лучанинова В.Н., д-р мед. наук, проф. (С.-Петербург)

Мареев В.Ю., д-р мед. наук, проф. (Москва)

Решением президиума ВАК Минобрнауки Российской Федерации включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук. Входит в систему Российского индекса научного цитирования (РИНЦ) на базе научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU

Издатель: Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2; тел.: +7 (423) 242-97-78)

Индекс для подписчиков по каталогу агентства «Роспечать» 18410

Учредители:

Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи (690091, г. Владивосток, ул. Уборевича, 30/37),

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1),

Министерство здравоохранения Приморского края (690007, Владивосток, 1-я Морская ул., 2)

Журнал зарегистрирован Министерством РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций:

ПИ № 77–13584 от 20.09.2002 г.

Редакция

«Тихоокеанского медицинского журнала»

690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 4.

Тел.: +7 (423) 245-77-80;

e-mail: medicinadv@mail.ru

Главный редактор *В.Б. Шуматов*

Зав. редакцией *Е.П. Каргалова*

Редактор *И.М. Забавникова*

Технический редактор *Т.В. Петерсон*

Корректор *И.М. Луговая*

Подписано в печать 14.03.2022

Отпечатано 28.03.2022. Печать офсетная.

Формат 60×90/8. Усл. печ. л. 13.

Заказ № 850. Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии «Рея»:

690074, Владивосток, ул. Снеговая, 13,

тел.: +7 (423) 206-03-51

Цена свободная

Выпуски «Тихоокеанского медицинского журнала» доступны на сайтах <http://tmj-vgmu.ru>, <http://elibrary.ru> и <http://tgmu.ru>

© Тихоокеанский медицинский журнал, 2022

Pacific Medical Journal

2022, No. 1

January–March, 2022

RUSSIAN SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL

Published since 1997. Issued once in three months

Editor-in-chief *Shumatov V.B.*, MD, PhD, Prof.

Deputy editors-in-chief: *Eliseeva E.V.*, MD, PhD, Prof.; *Chertok V.M.*, MD, PhD, Prof.

Research editor *Kalinichenko S.G.*, MD, PhD, Associate Prof.

Editorial secretary *Kolpakov S.L.*, MD, PhD, Associate Prof.

Publishing editors: *Eliseeva E.V.*, MD, PhD, Prof.; *Chertok V.M.*, MD, PhD, Prof.

Editorial board:

Antonenko F.F., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Moscow, Russia)

Besednova N.N., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Vladivostok, Russia)

Chazova I.E., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Moscow, Russia)

Chernyak B.A., MD, PhD, Prof. (Irkutsk, Russia)

Dyuizen I.V., MD, PhD, AM of RAS (Vladivostok, Russia)

Geltser B.I., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Vladivostok, Russia)

Govorin A.V., MD, PhD, Prof. (Chita, Russia)

Grinshteyn Yu.I., MD, PhD, Prof. (Krasnoyarsk, Russia)

Kolosov V.P., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Blagoveschensk, Russia)

Kovtun O.P., MD, PhD, AM of RAS (Ekaterinburg, Russia)

Kozlov R.S., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Smolensk, Russia)

Kozlov V.K., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Khabarovsk, Russia)

Kuchma V.R., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Moscow, Russia)

Marinkin I.O., MD, PhD, Prof. (Novosibirsk, Russia)

Nevzorova V.A., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Obuhova T.M., MD, PhD, Prof. (Omsk, Russia)

Pavlov V.N., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Ufa, Russia)

Pigolkin Yu.I., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Moscow, Russia)

Shumatova T.A., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Stegny K.V., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Vladivostok, Russia)

Stonik V.A., PhD, Prof., Acad. of RAS (Vladivostok, Russia)

Trankovskaya L.V., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Kozhevnikov V.A., MD, PhD, Prof. (Barnaul, Russia)

Luchaninova V.N., MD, PhD, Prof. (St Petersburg, Russia)

Mareev V.Yu., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russia)

Markelova E.V., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Perelman Yu.M., MD, PhD, Prof. (Blagoveschensk, Russia)

Polevshchikov A.V., PhD, Prof. (St Petersburg, Russia)

Ryzhavsky B.Ya., MD, PhD, Prof. (Khabarovsk, Russia)

International editorial council:

Jin Liang Hong, MD, PhD, Prof. (Academy of Military Medical Sciences, China)

Nakamura A., MD, PhD, Prof. (University of Hiroshima, Japan)

Rzhetsky A.Yu., MD, PhD, Prof. (University of Chicago, USA)

Sorokin V.A., MD, PhD (National University Heart Centre, Singapore)

Torchilin V.P., MD, PhD, Prof. (Northeastern University, USA)

Watanabe T., MD, PhD, Prof. (Hokkaido Bunkyo University, Japan)

Zhao Baochang, MD, PhD, Prof. (Chinese Academy of Sciences, China)

Editorial council:

Andrianov A.V., PhD, Prof. Acad. of RAS (Moscow, Russia)

Belevsky A.S., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russia)

Botvinkin A.D., MD, PhD, Prof. (Irkutsk, Russia)

Chumakova G.A., MD, PhD, Prof. (Barnaul, Russia)

Davidovich I.M., MD, PhD, Prof. (Krasnoyarsk, Russia)

Gorovoy P.G., PhD, Prof., Acad. of RAS (Vladivostok, Russia)

Khotimchenko Yu.S., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

As decreed by the State Commission for Academic Degrees and Titles of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, the Pacific Medical Journal has been included into the List of leading peer-reviewed journals issued in Russia and recommended for publishing the principal data of thesis papers by academic degree applicants.

Publisher: Pacific State Medical University
2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690002
Russian Federation;
Phone: +7 (423) 242-97-78)

Founders:

Regional Clinical Center of Specialized Types of Medical Care (30/37 Uborevitcha St., Vladivostok, 690091, RF)
Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, RF)
Somov Institute of Epidemiology and Microbiology (1 Selskaya St., Vladivostok, 690087, RF)
Ministry of Health of Primorsky Krai (2, 1st Morskaya St., Vladivostok, 690007, RF)

Mass media registration certificate dated Sept. 20, 2002. Series III № 77–13584

Federal service for surveillance over non-violation of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial address:

4 Ostryakova Ave. Vladivostok 690002
Russian Federation
Phone: +7 (423) 245-56-49
e-mail: medicinadv@mail.ru

Signed to print March 14, 2022

Printed March 28, 2022

Offset printing. Format 60×90/8

13 cond. printed sheets. Ord. No. 850.

Edition 1000 copies

Printed by

Reya Printing House
13 Snegovaya St., Vladivostok, 690074,
Russian Federation;
Phone: +7 (423) 206-03-51

Обзоры

Чертюк В.М., Швалева В.Н.
 Научная школа П.А. Мотавкина 6

Невзорова В.А., Чертюк В.М., Бродская Т.А., Селюкова П.А., Захарчук Н.В.
 Дисфункция митохондрий и сосудистое старение при коморбидной патологии..... 10

Гельцер Б.И., Котельников В.Н., Кожанов А.Г.
 Респираторно-мышечная дисфункция дыхательной мускулатуры и хроническая обструктивная болезнь легких: патофизиологические взаимосвязи и клиническое значение..... 17

Жадан П.М., Ващенко М.А.
 Репродуктивные адаптации морских ежей с планктотрофной личинкой 26

Котюба Е.П., Дячук В.А.
 Роль серотонина, ацетилхолина, оксида азота и FMRF-амида в адаптации морских гребешков к гипоксии 36

Пушчина Е.В., Капустянов И.А., Вараксин А.А.
 Вирусные векторы в трансгенных исследованиях: перспективы использования для лечения болезней ЦНС и генной терапии..... 46

Вахненко Ю.В., Доровских И.Е., Домке А.П.
 Кардиоваскулярная составляющая постковидного синдрома..... 56

Колдаев В.М., Кропотов А.В.
 Каротиноиды в практической медицине 65

Оригинальные исследования

Калиниченко С.Г., Коробцов А.В., Матвеева Н.Ю., Матвеев Ю.А.
 Нейроглиальная активность в фокусе ишемического инсульта..... 72

Жильников Д.И., Рыжавский Б.Я.
 Некоторые особенности головного мозга крыс линии Вистар, развивавшихся в пометах различной численности 79

Мурадов А.Г., Эфендиев В.У., Андин А.В., Демидов Д.П., Дробот Д.Б., Сакович В.А.
 Непосредственные результаты бимаммарного коронарного шунтирования у пациентов с ишемической болезнью сердца 85

Шперлинг И.А., Семакин Р.В., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Баженов М.В.
 Изменения микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях после локального применения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной взрывной травме..... 90

Наблюдения из практики

Козка А.А., Олифирова О.С.
 Случай комплексного лечения глубоких ожогов ягодиц, промежности, половых органов, полученных взрывом от петарды..... 98

Reviews

Chertok V.M., Shvalev V.N. P.A.
 Motavkin Scientific School..... 6

Nevzorova V.A., Chertok V.M., Brodskaya T.A., Selyukova P.A., Zakharchuk N.V.
 Mitochondrial dysfunction and vascular aging in comorbid pathology..... 10

Geltser B.I., Kotelnikov V.N., Kozhanov A.G.
 Respiratory and muscular dysfunction of the respiratory muscles and chronic obstructive pulmonary disease: pathophysiological relationships and clinical significance 17

Zhadan P.M., Vaschenko M.A.
 Reproductive adaptations of sea urchins with planktotrophic larvae.....26

Kotsyuba E.P., Dyachuk V.A.
 The role of serotonin, acetylcholine, nitric oxide and FMRF-amide in the adaptation of scallops to hypoxia36

Pushchina E.V., Kapustyanov I.A., Varaksin A.A.
 Viral Vectors in Transgenic Research: Prospects for the Treatment of CNS Diseases and Gene Therapy.....46

Vakhnenko Y.V., Dorovskikh I.E., Domke A.P.
 Cardiovascular component of post-COVID-19-syndrome56

Koldaev V.M., Kropotov A.V.
 Carotenoids in practical medicine 65

Original Researches

For citation: Kalinichenko S.G., Korobtsov A.V., Matveeva N.Yu., Matveev Yu. A.
 Neuroglial activity in the focus of ischemic stroke..... 72

Zhilnikov D.I., Ryzhavskii B.Ya.
 Some features of the brain of Wistar rats that developed in litters of various numbers..... 79

Muradov A.G., Efendiev V.U., Andin A.V., Demidov D.P., Drobot D.B., Sakovich V.A.
 Immediate results of using both internal thoracic arteries for coronary artery bypass surgery in patients with coronary artery disease 86

Shperling I.A., Semakin R.V., Shulepov A.V., Shperling N.V., Bazhenov M.V.
 Changes in microcirculation and metabolic activity in soft tissue after local injection of hyaluronic acid in different modes in experimental explosive injury.....91

Practice Observation

Kozka A.A., Olifirova O.S.
 A case of complex treatment of deep burns of the buttocks, perineum, genitals, received by an explosion from a firecracker 98



1 января 1922 года исполнилось 100 лет со дня рождения Павла Александровича Мотавкина – доктора медицинских наук профессора, заслуженного деятеля науки, действительного члена РАЕН.

Жизнь этого мудрого и талантливого человека вместила целую цепь заметных событий: война, учеба в Ярославском медицинском институте, который он окончил с отличием, обучение в аспирантуре и успешная защита кандидатской диссертации.

Профессиональную деятельность П.А. Мотавкин начал в 1957 г. в Приморском крае. Вначале был медицинский факультет Дальневосточного государственного университета, затем вместе с факультетом он перешел во вновь организованный медицинский институт. Стоял у истоков образования вуза, был одним из первых преподавателей. В самое трудное время его назначили проректором по учебной и научной работе. Однако, несмотря на занятость административными делами, в 1963 г. блестяще защитил докторскую диссертацию.

П.А. Мотавкин – создатель и в течение шести десятков лет бессменный заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Тихоокеанского (Владивостокского) медицинского вуза, организатор и руководитель лаборатории гаметогенеза Института биологии моря Дальневосточного отделения РАН. Под его руководством защищено 132 диссертации, из них 33 докторские и 99 кандидатских. Учеников П.А. Мотавкина можно встретить в различных уголках земного шара.

Результаты научных исследований кафедры стали достоянием широкой научной общественности. Написано 9 монографий, более 300 научных статей,

получено 7 патентов на изобретения. Более двух десятков статей и две монографии опубликованы на английском, немецком и французском языках. Обобщенные данные по проблеме «нейрохимия мозга» вошли в «Руководство по гистологии» и «Лекции по гистологии». Монография «Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения», написанная в соавторстве с его учеником В.М. Чертоком, удостоена диплома премии им. Б.И. Лаврентьева Академии медицинских наук, а содержащиеся в ней данные о наличии трех механизмов управления гемоциркуляцией включены в учебники по гистологии.

Круг интересов Павла Александровича не ограничивался профессиональной деятельностью. Через всю жизнь он пронес любовь к истории и литературе. Обладая незаурядным литературным даром, свой многогранный жизненный опыт и мудрое восприятие жизни он воплотил в серии книг для молодых преподавателей («Лекция в вузе», «Основы дидактики», «Летопись студенческой науки»).

Воспоминания о детстве, юности, годах войны и послевоенной учебе в медицинском институте нашли оригинальное воплощение в книгах «Командир сан-взвода» (2002), «История и легенды деревни Дорское» (2005) и «Экзаменов прекрасная пора» (2006). Написанные живым, образным языком эти художественные произведения интересны читателям разных поколений.

Научные и жизненные достижения П.А. Мотавкина отмечены почетными званиями «Заслуженный деятель науки», «Заслуженный изобретатель СССР». Он избран действительным членом Российской академии естественных наук (РАЕН), почетным членом нескольких зарубежных научных обществ, а за вклад

в развитие города – почетным гражданином г. Владивостока. На войне он был дважды ранен и за ратные подвиги награжден орденами Красной Звезды, Отечественной Войны I степени и многими медалями. Среди наград самой дорогой П.А. Мотавкин считал медаль «За боевые заслуги», врученную ему в 1942 г. на фронте под г. Демидовым Смоленской области. Уже в мирные годы его грудь украсили ордена «Знак Почета», два ордена Трудового Красного Знамени и знак «150 лет г. Владивостоку».

Он никогда не обслуживал власть, но заставлял власть прислушиваться к своим словам. Гражданскую позицию, которая нередко сильно отличалась от официальной точки зрения, он отстаивал в центральной и местной печати, на телевидении и радио. Зачастую он единственный открыто высказывал свои критические замечания на заседаниях ученого совета, брал под защиту опальных сотрудников. Были хорошо известны его активное неприятие чванливости, невежества, необязательности.

Все работавшие вместе с этим поразительным человеком высоко ценили его постоянное стремление помочь в трудные минуты жизни, ободрить, дать мудрый совет. Он был вдохновенным ученым, генерирующим идеи, и щедро одарял ими своих учеников, блестящим лектором и терпеливым учителем, умеющим красиво и интересно передавать свои знания ученикам. Можно было бы бесконечно цитировать слова благодарности ему от самых взыскательных наших судей – студентов. Однако этот удивительно скромный человек избегал славословия в свой адрес.

Павел Александрович был не только одним из основателей Владивостокского медицинского института, но и единственным из профессоров того периода, который в течение 65 лет продолжал успешную научно-педагогическую и общественную работу в стенах родного вуза.

Сегодня рядом с его именем не обязательно ставить степени, звания или награды. В нашей памяти – это человек с большой буквы. И этим все сказано!

*Главный редактор «Тихоокеанского медицинского журнала»,
ректор В.Б. Шуматов*

УДК 611-018.2:001

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-6-9

Научная школа П.А. Мотавкина

В.М. Черток¹, В.Н. Швалев²¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия² Институт клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, г. Москва, Россия

Память о выдающемся ученом профессоре П.А. Мотавкине во многом связана с созданием во Владивостоке известной нейроморфологической школы. За относительно короткий исторический период под руководством П.А. Мотавкина были сделаны научные открытия, на основе которых сформировались новые представления о механизмах сосудистой регуляции головного и спинного мозга человека и животных. Накопленный за годы исследований обширный фактический материал позволил не только раскрыть основные закономерности функционирования этой регуляторной системы в обычных условиях жизнедеятельности, но и решить ряд проблем, имеющих отношение к коррекции ее расстройств при сосудистых заболеваниях.

Ключевые слова: П.А. Мотавкин, нейроморфологическая школа

Поступила в редакцию 09.12.2021. Получена после доработки 16.12.2021. Принята к печати 30.12.2021.

Для цитирования: Черток В.М., Швалев В.Н. Научная школа П.А. Мотавкина. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022; 1:6–9. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-6-9

Для корреспонденции: Черток Виктор Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-1107-4561; e-mail: chertokv@mail.ru

P.A. Motavkin Scientific School

V.M. Chertok¹, V.N. Shvalev²¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia² A.L. Myasnikov Institute of Clinical Cardiology, Moscow, Russia

Summary: Remembrance of the outstanding scientist Professor P.A. Motavkin is largely connected with the creation of the famous neuromorphological school in Vladivostok. During a relatively short historical period, scientific discoveries were made under the leadership of P.A. Motavkin. New ideas about the mechanisms of vascular regulation of the brain and spinal cord of humans and animals were presented on the basis of these discoveries. Extensive factual material accumulated over the years of research has allowed not only to identify the basic laws of the functioning of this regulatory system in normal conditions of life, but also to solve a number of problems related to the correction of its disorders in case of vascular diseases.

Keywords: P.A. Motavkin, Neuromorphological school

Received 09 December 2021; Revised 16 December 2021; Accepted 30 December 2021

For citation: Chertok V.M., Shvalev V.N. P.A. Motavkin Scientific School. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:6–9. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-6-9

Corresponding author: Victor M. Chertok, MD, PhD, Professor, Head of Human Anatomy Department, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-1107-4561; e-mail: chertokv@mail.ru

За относительно короткий исторический период под руководством П.А. Мотавкина – талантливого педагога и выдающегося ученого – были сделаны научные открытия, на основе которых сформировались новые представления о механизмах сосудистой регуляции головного и спинного мозга человека и животных. Большой вклад в решение этой проблемы внесли многочисленные ученики П.А. Мотавкина: д-р мед. наук, проф. Г.С. Власов, д-р мед. наук, проф. В.С. Каредина, д-р мед. наук, проф. Л.Д. Маркина (Палашенко), член-корр. АН РФ, д-р мед. наук, проф. Ю.И. Пиголкин, д-р мед. наук, проф. В.М. Черток и многие другие.

Научная нейростологическая школа, созданная во Владивостоке П.А. Мотавкиным, быстро получила широкую известность и признание у нас в стране и за рубежом. Обобщенные сведения о возрастных и видовых

особенностях холин- и адренергической иннервации сосудов головного мозга, их ультраструктуре у большой группы позвоночных животных включены в две монографии, одна из которых, написанная в соавторстве с В.М. Чертоком [1] (научный редактор В.Н. Швалев), впоследствии удостоена именной премии АН СССР им. Б.И. Лаврентьева «за выдающийся вклад в развитие отечественной морфологии», другая – с Л.Д. Маркиной и Г.Г. Божко [2]. Опубликованные в этих работах материалы представляли особый интерес, поскольку во многом соответствовали выдвинутой В.Н. Швалевым теории об этапах формирования вегетативной нервной системы в связи с возникновением ее основных медиаторов в пренатальном онтогенезе [3, 4].

Впечатляющие открытия, сделанные П.А. Мотавкиным и его учениками, составили весомую базу для

понимания важности нервной системы в регуляции мозгового кровообращения. Накопленный за годы исследований обширный фактический материал позволил не только раскрыть основные закономерности функционирования этой регуляторной системы в обычных условиях жизнедеятельности, но и решить ряд проблем, имеющих отношение к коррекции ее расстройств при сосудистых заболеваниях [5, 6, 7]. Особое внимание в указанных выше исследованиях уделялось организации рецепторного аппарата, вазомоторных сплетений различной медиаторной принадлежности и нейромышечных отношений в стенке мозговых артерий [1, 8–10]. Было установлено, что воздействие вазомоторных нервов на мышечные клетки опосредуется многочисленными и разнообразными эфферентными окончаниями, расположенными либо в непосредственной близости от поверхности миоцитов, либо отграниченных от них более или менее выраженной прослойкой соединительной ткани наружной оболочки сосуда. Важно отметить, что во многих публикациях П.А. Мотавкина и его учеников показана взаимозависимость изменений регуляции мозговой гемодинамики с эндотелиальными нарушениями [6, 11, 12].

В 1977 г. из лаборатории П.А. Мотавкина вышла работа, в которой были представлены морфологические доказательства способности эндотелия в совокупности с другими тканевыми элементами внутренней оболочки выполнять регуляторную функцию [13]. Это открытие могло бы стать еще одним выдающимся достижением Владивостокской научной школы. Однако известная оторванность отечественной науки от мировых научных центров не позволила сделать эти в высшей степени интересные материалы достоянием мировой общественности.

П.А. Мотавкиным были значительно расширены представления о структуре головного и спинного мозга в норме и патологии. В 1994 г. совместно с Ю.И. Пиголкиным и Ю.В. Каминским им была издана монография, в которой рассматривались вопросы гистохимической организации спинного мозга человека в норме и при некоторых заболеваниях [5]. В 2005 г. в книге, написанной в соавторстве с С.Г. Калиниченко, приведены новые материалы по типологии, медиаторной специфичности и морфофункциональным связям нейронов коры мозжечка человека и животных [14]. В крупном издании П.А. Мотавкина и И.В. Дюйзен была подробно освещена нейрохимическая организация ствола мозга [15]. В.Е. Охотин под руководством П.А. Мотавкина провел блестящие исследования по изучению топохимии холинергических нейронов в ядрах ствола мозга человека [16]. Существенное значение для понимания центральных и периферических механизмов управления гемодинамикой имеют исследования В.М. Чертока, опубликовавшего совместно с А.Е. Коцюбой несколько монографий по этой проблеме [17–19], а также цикл работ по изучению пространственных отношений между нейронами, продуцирующими классические

медиаторы и газотрансмиттеры [20, 21]. В вазомоторных центрах мозга этими же авторами впервые были описаны два пула нейронов, отличающихся не только морфогистохимическими признаками, но и особенностями реакции на изменение кровяного давления [22 – 24]. Гистофизиология капилляров мозга была представлена в ряде работ П.А. Мотавкина и его учеников [8, 11, 25, 26]. Некоторые итоги этих исследований подведены в монографии, написанной им совместно с А.В. Ломакиным и В.М. Чертоком [25]. Авторы книги были удостоены премии ДВНЦ АН СССР «За существенный вклад в развитие дальневосточной науки».

Замечу, что особенно ценный материал для этих исследований – мозг человека, который в связи с использованными методиками необходимо было брать не позднее трех часов после смерти (что в то время разрешалось немногим учреждениям), предоставлен Институтом клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова Российского кардиологического научно-производственного комплекса МЗ РФ. С этого началось плодотворное научное сотрудничество между Кардиоцентром и кафедрой гистологии Владивостокского медицинского института, которое продолжалось многие десятилетия.

Среди крупных достижений научной школы, созданной П.А. Мотавкиным, следует выделить открытие неизвестной ранее биологам и медикам эндокринной железы. При анализе капиллярного русла и эпандимы спинного мозга П.А. Мотавкиным вместе с его учеником А.П. Бахтиновым была обнаружена новая эндокринная железа [27, 28]. У человека эта железа, получившая название «интраспинальный орган», располагается в пояснично-крестцовом отделе спинного мозга и имеет глиальное происхождение. Как было установлено, ее развитие начинается во время полового созревания и характеризуется активным влиянием на сердечно-сосудистую систему. Важно подчеркнуть, что инволюция интраспинального органа обычно начинается с 35-летнего возраста, что совпадает по времени с начальными проявлениями инволюции симпатического отдела вегетативной нервной системы [3, 4].

Наряду с изданиями книг по гистофизиологии головного и спинного мозга, кровеносных сосудов П.А. Мотавкиным совместно с А.А. Вараксиным была написана монография по организации нервной системы и регуляции размножения у двустворчатых моллюсков [29], которая позднее была переведена на французский язык [30], а с Ю.С. Хотимченко – книга по биологии размножения и регуляции гаметогенеза и нереста у иглокожих [31].

П.А. Мотавкин публиковал работы и «клинического» содержания. Так, в монографии «Клиническая и экспериментальная патофизиология легких», написанной вместе с профессором Б.И. Гельцером [32], изложены материалы по значению оксида азота при легочных заболеваниях, и детально рассмотрены возрастные аспекты активности нитрооксидсинтазы

в организме человека и животных. Несомненное значение для клинической практики имеет работа П.А. Мотавкина и И.В. Дюйзен по изучению нитрооксидергических механизмов формирования боли [33].

Как отмечал Павел Александрович в своих воспоминаниях, наряду с преподаванием гистологии и научной работой его всегда увлекала и проза и поэтическое творчество. Он издал свои воспоминания в стихах и прозе о детстве, юности, годах войны, послевоенной жизни: «Командир санвзвода», «Автобиография», «Истории и легенды деревни Дорское», «Экзаменов прекрасная пора». «Любовь и стремление к поэзии, – вспоминал П.А. Мотавкин, – появились у меня еще в ранние школьные годы».

Прошли тяжелое военное время, учеба в Ярославском медицинском институте, аспирантура под руководством известного нейростолога профессора И.И. Гутнера, и наступил шестидесятилетний период заведывания кафедрой гистологии Владивостокского (Тихоокеанского) медицинского вуза. Длительная и успешная деятельность П.А. Мотавкина связана с его глубоким убеждением о необходимости постоянного труда. На стене его кабинета висело изречение Канта: «Работа – лучший способ наслаждаться жизнью». Эти слова как нельзя лучше характеризуют Павла Александровича Мотавкина как ученого и человека.

Память о выдающемся исследователе и яркой личности – профессоре П.А. Мотавкине, во многом связана с созданием во Владивостоке известной нейроморфологической школы. Но и вне научной жизни он останется для нас доброжелательным, скромным, исключительно трудолюбивым и разносторонне образованным человеком.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

1. Мотавкин П.А., Черток В.М. *Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения*. М.: Медицина, 1980. 200 с. [Motavkin P.A., Chertok V.M. *Histophysiology of vascular mechanisms of cerebral circulation*. M.: Medicine, 1980. 200 p. (in Russ).]
2. Мотавкин П.А., Маркина Л.Д., Божко Г.Г. *Сравнительная морфология сосудистых механизмов мозгового кровообращения у позвоночных*. М.: Наука, 1981. 206 с. [Motavkin P.A., Markina L.D., Bozhko G.G. *Comparative morphology of vascular mechanisms of cerebral circulation in vertebrates*. M.: Nauka, 1981. 206 p. (in Russ).]
3. Швалев В.Н. Возрастные изменения регуляторных механизмов в кардиоваскулярной системе и значение нитрооксидсинтазы в норме и патологии. *Кардиология*. 2007; 5:67–72. [Shvalev V.N. Age-related changes in regulatory mechanisms in the cardiovascular system and the importance of nitroxide synthase in norm and pathology. *Cardiology*. 2007; 5:67–72. (in Russ).]
4. Швалев В.Н. Возрастные изменения нервного аппарата сердца и содержания в нем оксида азота в норме и при патологии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2012; 2: 94–99. [Shvalev V.N. Age-related changes in the nervous apparatus of the heart and the content of nitric oxide in it in normal and pathological conditions. *Pacific Medical Journal*. 2012; 2: 94–99. (in Russ).]
5. Мотавкин П.А., Пиголкин Ю.И., Каминский Ю.В. *Гистофизиология кровообращения в спинном мозге*. М.: Наука, 1994. 232 с. [Motavkin P.A., Pigolkin Yu.I., Kaminsky Yu.V. *Histophysiology of blood circulation in the spinal cord*. M.: Nauka, 1994. 232 p. (in Russ).]
6. Мотавкин П.А., Черток В.М. *Борьба с нарушениями мозгового кровообращения*. М.: Знание, 1986; 9. 64 с. [Motavkin P.A., Chertok V.M. *Struggle with disorders of cerebral circulation*. M.: Znanie, 1986. No. 9. 64 p. (in Russ).]
7. Reutov V.P., Sorokina E.G., Davydova L.A., Chertok V.M., Sukmansky O.I., Pinelis V.G. The role of nitric oxide and superoxide anion radical cycles in cerebral small vessels pathology. In "understanding and treating cerebral small vessel disease". *Russian Engineering Research*. 2021. № 3. С. 53–69.
8. Мотавкин П.А., Черток В.М. Ультраструктура нервов артерий основания головного мозга. *Морфология*. 1979;76(1):13–16. Motavkin P.A., Chertok V.M. Ultrastructure of the nerves of the arteries of the base of the brain. *Morphology*. 1979;76(1):13–16. (in Russ).]
9. Мотавкин П.А., Черток В.М. Иннервация мозга. Тихоокеанский медицинский журнал. 2008; 3:11–24. [Motavkin P.A., Chertok V.M. Brain innervation. *Pacific Medical Journal*. 2008; 3:11–24. (in Russ).]
10. Мотавкин П.А., Черток В.М., Пиголкин Ю.И. Морфологические исследования регуляторных механизмов внутри-мозгового кровообращения. *Морфология*. 1982; 82(6):42–49. [Motavkin P.A., Chertok V.M., Pigolkin Yu.I. Morphological studies of regulatory mechanisms of intracerebral circulation. *Morphology*. 1982; 82(6):42–49. (in Russ).]
11. Черток В.М., Пиголкин Ю.И. Структурные преобразования внутренней оболочки артерий мягкой оболочки головного мозга при атеросклерозе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1987; 103(2):215–218. [Chertok V.M., Pigolkin Yu.I. Structural transformations of the tunica intima of the arteries of the pia mater cranial in atherosclerosis. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 1987; 103(2):215–218. (in Russ).]
12. Черток В.М., Пиголкин Ю.И., Мирошниченко Н.В. Гистохимическая характеристика капиллярного русла головного мозга человека при старении и атеросклерозе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1984; 76(7):991–993. [Chertok V.M., Pigolkin Yu.I., Miroshnichenko N.V. Histochemical characteristics of the capillary bed of the human brain during aging and atherosclerosis. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 1984; 76(7):991–993. (in Russ).]
13. Черток В.М. *Функциональная морфология артерий основания головного мозга у кошки*. Диссертация ... канд. мед. наук. Владивосток, 1977. 225 с. [Chertok V.M. *Functional morphology of the arteries of the base of the brain in a cat*. Dissertation ... Candidate of Medical Sciences. Vladivostok, 1977. 225 p. (in Russ).]
14. Мотавкин П.А., Калиниченко С.Г. *Кора мозжечка*. М.: Наука, 2005. 319 с. [Motavkin P.A., Kalinichenko S.G. *Cerebellar cortex*. M.: Nauka, 2005. 319 p. (in Russ).]
15. Мотавкин П.А., Дюйзен И.В. *Мозговой ствол*. СПб.: СпецЛит, 2011. 563 с. [(in Russ).]
16. Мотавкин П.А., Охотин В.Е. Холинергические ядра моста головного мозга человека. *Морфология*. 1980;79(11):23–28. [Motavkin P.A., Okhotin V.E. Cholinergic nuclei of the bridge of the human brain. *Morphology*. 1980;79(11):23–28. (in Russ).]
17. Черток В.М., Коцюба А.Е. *Структурная организация бульбарного отдела сердечно-сосудистого центра*. Владивосток:

- Медицина ДВ, 2013.164 с. [Chertok V.M., Kotsyuba A.E. *Structural organization of the bulbar department of the cardiovascular center*. Vladivostok: Medicine DV, 2013.164 p. (in Russ).]
18. Черток В.М., Коцюба А.Е. *Газообразные посредники в центральной регуляции гемодинамики*. Владивосток: Медицина ДВ. 2021. 212 с. [Chertok V.M., Kotsyuba A.E. *Gaseous mediators in the central regulation of hemodynamics*. Vladivostok: Medicine DV. 2021. 212 p. (in Russ).]
19. Черток В.М., Коцюба А.Е. *Регуляторные механизмы сосудов головного мозга*. Владивосток: Медицина ДВ, 2022. 216 с. [Chertok V.M., Kotsyuba A.E. *Regulatory mechanisms of cerebral vessels*. Vladivostok: Medicine DV, 2022. 216 p. (in Russ).]
20. Chertok V.M., Kotsyuba A.E. Norepinephrergic and nitroxidergic neurons of vasomotor nuclei in hypertensive rats. *Bull. Experim. Biol. Med.* 2015;158(5): 695–700.
21. Chertok V.M., Kotsyuba A.E. Comparative study of catecholaminergic and nitroxidergic neurons in the vasomotor nuclei of the caudal part of the brainstem in rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2016; 46(2):229–234.
22. Черток В.М., Коцюба А.Е., Старцева М.С. Топохимия межъядерных и внутриядерных интернейронов вазомоторной области продолговатого мозга у гипертензивных крыс. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2015;160(9):374–379. [Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Startseva M.S. Topochemistry of internuclear and internuclear interneurons of the vasomotor region of the medulla oblongata in hypertensive rats. *Bull. Experim. Biol. Med.* 2015;160(9):374–379. (in Russ).]
23. Черток В.М., Коцюба А.Е., Старцева М.С. Интернейроны в стволе мозга человека. *Вестник РАМН РФ*. 2015;70(5):582–588. [Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Startseva M.S. Interneurons in the human brain stem. *Bull. RAMS.* 2015;70(5):582–588. (in Russ).]
24. Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Kotsyuba E.P., Startseva M.S. Two pools of interneurons in the bulbar region of the cardiovascular center of rats. *Dokl. Biological Sciences.* 2015; 463(1):178–182.
25. Мотавкин П.А., Ломакин А.В., Черток В.М. *Капилляры головного мозга*. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1983. 140 с. [Motavkin P.A., Lomakin A.V., Chertok V.M. *Capillaries of the brain*. Vladivostok: Publishing House of the DVNTS of the USSR Academy of Sciences, 1983. 140 p. (in Russ).]
26. Черток В.М., Черток А.Г. Регуляторный потенциал капилляров мозга. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016; 2:72–81. [Chertok V.M., Chertok A.G. Regulatory potential of brain capillaries. *Pacific Medical Journal.* 2016; 2:72–81. (in Russ).]
27. Мотавкин П.А., Бахтинов А.П. Интраспинальный орган человека. *Морфология*. 1990;10:5–19. [Motavkin P.A., Bakhtinov A.P. Human intraspinal organ. *Morphology.* 1990;10:5–19. (in Russ).]
28. Мотавкин П.А. Долгая дорога к истине. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2012;2:9–16. [Motavkin P.A. A long way to the truth. *Pacific medical journal.* 2012; 2:9–16 (in Russ).]
29. Мотавкин П.А., Вараксин А.А. *Гистофизиология нервной системы и регуляция размножения у двустворчатых моллюсков*. М.: Наука. 1983. 208 с. [Motavkin P.A., Varaksin A.A. *Histophysiology of the nervous system and regulation of reproduction in bivalves*. М.: Nauka. 1983. 208 p. (in Russ).]
30. Motavkin P.A., Varaksin A.A. *La reproduction chez les mollusques bivalves. Rôle du système nerveux et régulation*. Brest Fc.: IFREMER, 1988. 250 p.
31. Хотимченко Ю.С., Мотавкин П.А. *Биология размножения и регуляции гаметогенеза и нереста у иглокожих*. М.: Наука, 1993. 168 с. [Khotimchenko Yu.S., Motavkin P.A. *Biology of reproduction and regulation of gametogenesis and spawning in echinoderms*. М.: Nauka, 1993. 168 p. (in Russ).]
32. Мотавкин П.А., Гельцер Б.И. *Клиническая и экспериментальная патофизиология легких*. М.: Наука. 1998. 168 с. [Motavkin P.A., Geltser B.I. *Clinical and experimental pathophysiology of the lungs*. М.: Nauka. 1998. 168 p. (in Russ).]
33. Мотавкин П.А., Дюйзен И.В. Нитроксидергические механизмы формирования боли. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2003;2:11–16. [Motavkin P.A., Duizen I.V. Nitroxidergic mechanisms of pain formation. *Pacific Medical Journal.* 2003;2:11–16. (in Russ).]

УДК 616.13:576.311.3-06

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-10-16

Дисфункция митохондрий и сосудистое старение при коморбидной патологии

В.А. Невзорова¹, В.М. Черток¹, Т.А. Бродская^{1,2}, П.А. Селюкова¹, Н.В. Захарчук¹¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия² Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия

Сердечно-сосудистые заболевания занимают лидирующие позиции в структуре смертности современного общества. Для большинства данных заболеваний характерны неконтролируемые процессы оксидативного стресса, протеолиза, тканевой и клеточной гипоксии, вызывающие эндотелиальную дисфункцию. Тканевая и клеточная гипоксия с накоплением митохондриальных реактивных форм кислорода, повреждающих липопротеиды, белки, нуклеиновые кислоты, является краеугольным камнем теории свободнорадикального окисления в патогенезе сосудистого старения. Особенностью «состаренного» фенотипа клеток является уменьшение числа митохондрий, снижение количества копий митохондриальной ДНК и потеря митохондриального белка в тканях. Помимо морфологических изменений, угнетается функция митохондрий, ослабевает активность их белков и ферментов. Изменения функций митохондрий могут быть вторичными в ответ на различные стимулы и связаны с нарушением их структуры и ослаблением активности в ответ на особые генетические и фенотипические условия. Перепрограммирование митохондриального биогенеза занимает центральную позицию в различных теориях развития ускоренного старения и служит одной из привлекательных мишеней для возможных вмешательств в продлении активного долголетия.

Ключевые слова: митохондрии, клеточное старение, свободнорадикальное окисление, курение, сердечно-сосудистые заболевания

Поступила в редакцию 20.12.2021. Получена после доработки 11.02.2022. Принята к печати 14.02.2022.

Для цитирования: Невзорова В.А., Черток В.М., Бродская Т.А., Селюкова П.А., Захарчук Н.В. Дисфункция митохондрий и сосудистое старение при коморбидной патологии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;1:10–16. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-10-16

Для корреспонденции: Захарчук Наталья Владимировна – д-р мед. наук, профессор института терапии и инструментальной диагностики Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-5809-3989; e-mail: zaharchuknat@mail.ru

Mitochondrial dysfunction and vascular aging in comorbid pathology

V.A. Nevzorova¹, V.M. Chertok¹, T.A. Brodskaya^{1,2}, P.A. Selyukova¹, N.V. Zakharchuk¹¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Summary: Cardiovascular diseases take a leading position in the structure of mortality in modern society. Most diseases are characterized by uncontrolled processes of oxidative stress, proteolysis, tissue and cellular hypoxia, which cause endothelial dysfunction. Tissue and cellular hypoxia accumulated with mitochondrial reactive forms of oxygen damaging lipoproteins, proteins, nucleic acids plays an important role in the pathogenesis of vascular aging. Cellular aging is characterized by a decrease in the number of mitochondria, a decrease in the number of copies of mitochondrial DNA, and the loss of mitochondrial protein. In addition to morphological changes, the function of mitochondria is oppressed, at the same time the activity of their proteins and enzymes decreases. Changes in the functions of mitochondria can be secondary in response to various stimuli and are associated with a violation of their structure and a change in activity in response to specific genetic and phenotypic conditions. Reprogramming of mitochondrial biogenesis occupies a central position in the theory of cellular aging and is one of the targets for interventions in prolonging active longevity.

Keywords: mitochondria, cellular aging, free radical oxidation, smoking, cardiovascular diseases

Received 20 December 2021; Revised 11 February 2022; Accepted 14 February 2022

For citation: Nevzorova V.A., Chertok V.M., Brodskaya T.A., Selyukova P.A., Zakharchuk N.V. Mitochondrial dysfunction and vascular aging in comorbid pathology. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:10–16. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-10-16

Corresponding author: Natalia V. Zakharchuk, MD, PhD, Professor of Institute of Therapy and Instrumental Diagnostics, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-5809-3989; e-mail: zaharchuknat@mail.ru

Хронические неинфекционные заболевания (ХНИЗ) представляют серьезную проблему, которая сохраняется и даже набирает силу в сложившейся ситуации, связанной с пандемией COVID-19. Результаты обследований пациентов врачами общей практики свидетельствуют о наличии более чем у 25% взрослого

населения двух и более заболеваний со значительным увеличением вариантов поли- или мультиморбидности у лиц старше 65 лет [1]. По мере старения популяции кластер заболеваний, связанных с возрастом, становится все более разнообразным и включает, помимо патологий с атеросклерозом, эндокринные

заболевания, хронические болезни органов дыхания, болезнь Альцгеймера, остеоартрит, остеопороз и пр. Ежедневно около 100000 человек умирает от болезней, соотносящихся со старением, и прежде всего от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [2], которые в том числе ассоциированы с сахарным диабетом 2 (СД2) типа, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и иными патологиями, признанными большинством исследователей в качестве традиционных моделей ускоренного старения. Выделяют физиологические механизмы старения, связанные с замедлением процессов клеточного метаболизма, регулирующих изменение температура тела, объема крови и внеклеточной жидкости, уменьшение массы и потерю функционального резерва большинства органов [3].

Среди активно обсуждаемых проблем сохранения активного долголетия состояние сосудистого эндотелия и энергетического обмена рассматриваются в качестве одного из приоритетных направлений исследований. Для большинства ХНИЗ, ассоциированных с ССЗ, типичны неконтролируемые процессы оксидативного стресса, протеолиза, тканевой и клеточной гипоксии, вызывающих дезорганизацию структуры сосудистой стенки [4, 5, 6].

Процессы регуляции механизмов сосудистого старения имеют различный уровень реализации. Например, доказаны вовлеченность нейрогормональной сигнальной системы, ренин-ангиотензин-альдостеронового каскада и обмена инсулина, ослабление иммунологического контроля над процессами воспаления. Накопление клеточного пула с провоспалительным или «состаренным» фенотипом рассматривается в качестве маркера компенсаторных и дезадаптивных реакций в ответ на процессы клеточного повреждения при системном воспалении и считается одним из отличительных признаков старения тканей [7, 8, 9]. Особенностью «состаренного» фенотипа клеток является уменьшение числа митохондрий, снижение количества копий митохондриальной ДНК (мтДНК) и потеря митохондриального белка в тканях [10]. Помимо морфологических изменений, угнетается функция митохондрий, ослабевает активность их белков и ферментов, в частности ацилкарнитинтрансферазы и адениннуклеотидтранслазы [11]. Изменения функций митохондрий могут быть вторичными в ответ на гормональные, нейрогуморальные и прочие стимулы [12] и связаны с нарушением их структуры и изменением активности в ответ на особые генетические и фенотипические условия [13]. Существуют сведения о различной степени снижения экспрессии мтДНК, о повышенном уровне ее мутаций в разных условиях и в зависимости от типа клеток и тканей [14], обсуждаются роль коактиваторов митохондриального биогенеза и особенности транскрипционных факторов, участвующих в генерации митохондрий [15].

Темпы и интенсивность процессов старения во многом определяются геномной нестабильностью,

процессами укорочения теломер и целым комплексом эпигенетических изменений с утратой межклеточной коммуникации и нарушениями процессов энергетического обмена, центральную позицию в регуляции которого занимает состояние митохондрий [16].

Приобретение эукариотами свойства использовать молекулярный кислород для эффективного генерирования больших количеств энергии в форме АТФ с помощью митохондрий произошло более 1,5 – 2 млрд лет назад в результате эндосимбиотического слияния между клетками-предшественниками эукариот и протобактерией, способной генерировать химическую энергию посредством окислительного фосфорилирования [17, 18, 19].

Согласно современным данным митохондрии являются парасимбиотическими органеллами с собственной ДНК, метаболомом, транскриптомом и протеомом, которые одновременно нуждаются в наличии клетки в качестве «организма-хозяина» для репликации и формирования промежуточных продуктов энергии и белков. Митохондрии образуют взаимосвязанную внутриклеточную сеть, обладающую высокой пластичностью и способностью менять размеры и положение в зависимости от процессов внутри- и межклеточного сигналинга и доступности субстрата для синтеза энергии от «клетки-хозяина» [9]. Их жизненный цикл для обеспечения эффективного взаимодействия с «клеткой-хозяином» включает процесс образования новых органелл в результате деления и/или слияния митохондрий вследствие ядерного или митохондриального кодирования [10]. С другой стороны, для поддержания здорового пула митохондрий «клетка-хозяин» активирует процессы митофагии дефектных митохондрий с помощью инкапсуляции в аутофагосомы и деградации в лизосомах [11]. Являясь основными кислородопотребляющими органеллами клетки, митохондрии нуждаются в постоянной доступности кислорода для функционирования электронной транспортной цепи (ЭТЦ) и обеспечения эффективного аэробного гликолиза.

Тканевая и клеточная гипоксия с накоплением митохондриальных реактивных форм кислорода (мРФК), повреждающих липопротеиды, белки, нуклеиновые кислоты и сами митохондрии становится краеугольным камнем теории свободнорадикального окисления сосудистого старения, впервые провозглашенной еще в 1956 году [20]. Адаптация к процессам гипоксии необходима для поддержания биоэнергетического гомеостаза и защиты от повреждающего действия недоокисленных или мРФК. Контроль над ней достигается сформированной в ходе эволюции системой регуляторов факторов транскрипции, индуцируемых гипоксией (HIF), состоящей из лабильной альфа-единицы HIF- α (HIF-1 α или HIF-2 α) и стабильной бета-единицы HIF- β . В условиях достаточного количества кислорода HIF-1 α непрерывно синтезируется в цитозоле. При гипоксии HIF-1 α стабилизируется, перемещаясь в ядро

клетки и связываясь с регуляторными последовательностями промоутерных HIF-регулируемых генов. В свою очередь мишенями транскрипции HIF-генов являются гены, ответственные за выживание и метаболизм клеток в целом, что обеспечивает адаптацию к гипоксии [21]. Система HIF и активность митохондрий находятся в тесном реципрокном взаимодействии, которое может утрачиваться при развитии системной сосудистой дисфункции в результате возраст-ассоциированных патологий.

Одним из общих факторов риска большинства ХНИЗ является табакокурение. При хроническом воздействии табачного дыма одновременно с процессами перепрограммирования митохондрий на аэробный гликолиз, происходит истощение пула мтДНК с появлением митохондриальных аномалий, уменьшением крист, повышением экспрессии маркера митохондриального стресса и стойких митохондриальных повреждений PINK-1 (фосфатазы и гомолог-тензин-индуцируемой предполагаемой киназы-1) [22]. По мере прогрессирования митохондриальной дисфункции увеличивается утечка электронов в ЭТЦ, что вносит вклад в накопление нестабильных РФК, которые, взаимодействуя с липидами, белками и нуклеиновыми кислотами, вызывают дальнейшее повреждение митохондрий.

По нашим данным, хроническое воздействие табачного дыма и связанная с ним гипоксия провоцируют каскад необратимых морфо-функциональных изменений в организме вследствие развития местных и системных воспалительных реакций. Компоненты табачного дыма оказывают как прямое токсическое действие, так и через ряд промежуточных процессов активируют провоспалительный потенциал лейкоцитов, запускают оксидативный и цитокиновый стрессы, инициируют развитие эндотелиальной дисфункции.

Курение – один из триггеров патологического каскада, запускающего механизмы необратимых структурных изменений головного мозга, в том числе церебральных сосудов и нейронов [23, 24, 25, 26]. В сосудах головного мозга снижается линейная скорость кровотока, которая на определенных этапах является компенсаторной реакцией, но при отсутствии коррекции может рассматриваться в качестве пускового механизма прогрессирования дезадаптивной перестройки сосудистого русла. Снижение скорости кровотока и, соответственно, уменьшение напряжения сдвига на определенном участке сосуда может стать причиной изменения его структуры, роста неоинтимы и уменьшения просвета. Ключевыми процессами морфологической перестройки сосудистой стенки, активирующимися при различных воздействиях, являются пролиферация, миграция клеток и изменение композитной структуры внеклеточного матрикса. Эти процессы управляются многочисленными факторами роста, рядом цитокинов, а также системами протеолитических ферментов, среди которых ведущую роль

играют ферменты фибринолиза и матриксные металлопротеиназы [27, 28, 29].

Согласно свободнорадикальной теории старения митохондрии считаются основным источником РФК, и по мере увеличения возраста их роль в накоплении повреждений клеточного и тканевого дифферона становится наиболее значительной [30]. При ССЗ и связанных с ними коморбидных патологиях помимо накопления РФК страдает антиоксидантная защита. Установлен вклад дефектов в состоянии ключевого компонента окислительно-восстановительного гомеостаза клеток – транскрипционного ядерного фактора Nrf2 (эритроид 2-связанный фактор) в нарушении противодействия избыточным процессам окислительно-восстановительного фосфорилирования при процессах ишемии-реперфузии, прогрессировании сердечной недостаточности и кардиопульмональной коморбидности [31, 32]. Высказывается мнение о возможности разработки таргетной коррекции Nrf2 для сдерживания процессов сосудистого старения в условиях накопления в популяции лиц с явлениями мульти или полиморбидности [33].

Несмотря на признанную роль избыточного свободнорадикального окисления в качестве индуктора разнообразных, в том числе репликативных механизмов старения, накоплены данные, ставящие под сомнение однозначную роль мРФК в их реализации [34, 35]. Для увеличения продолжительности жизни необходимо соблюдение баланса между оптимальным содержанием мРФК с целью стимуляции синтеза внутри- и межклеточных мессенджеров «выживания» в ответ на физиологические и повреждающие стимулы и избыточным количеством мРФК. мРФК – важные сигнальные молекулы для активации клеток, но только в том случае, когда они производятся в небольших количествах [36, 37, 38].

Вследствие клеточного перепрограммирования под влиянием мРФК формируется пул метаболически активного секреторного фенотипа клеток с увеличением синтеза провоспалительных цитокинов (ФНО- α (фактор некроза опухоли альфа), интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6), хемокинов (CXCL1, CXCL8, CCL2), факторов роста (ТФР- β , белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста, фактор роста эндотелия сосудов) и матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов (ММР2, ММР9). Дисбаланс в состоянии ММР2 и ММР9 играет существенную роль в процессах морфо- и ангиогенеза с развитием системной эндотелиальной дисфункции и сосудистого ремоделирования [27, 28, 39]. Наблюдается преимущественное утолщение средней оболочки и интимы сосудов с нарушением структурной последовательности эндотелиоцитов, пролиферацией гладкомышечных клеток, деградацией эластина и инфильтрацией субэндотелиального пространства коллагеном, протеогликанами и воспалительными лейкоцитами [40]. Избыточное содержание коллагена в эластиновых волокнах сопровождается накоплением кальция, холестерина и компенсаторным усилением

активности эластазы, которая в свою очередь вызывает деградацию гликопротеинов и прогрессирование процессов сосудистого старения [41].

Промежуточные продукты гликолиза митохондрий участвуют в синтезе жирных кислот и аминокислот, используя пентозофосфатный путь, необходимый для синтеза восстановленного никотинамидаденин-дифосфата (НАДФН) и продукции рибозо-5-фосфата для поддержания процессов окислительно-восстановительного гомеостаза и синтеза нуклеотидов. Азот и глутамат, которые образуются в результате катаболизма глутамин востребованы для синтеза нуклеотидов, аминокислот и глутатиона [12]. Воспроизводство перечисленных выше макромолекул и поддержание клеточного окислительно-восстановительного баланса (ОВБ) способствуют необходимому росту и выживанию как самих клеток, так и их микроокружения. Окислительное повреждение прежде всего затрагивает саму мтДНК, в результате чего образуется специфический молекулярный паттерн клеточного повреждения (DAMP – damage-associated molecular pattern), выполняющий функции вторичного мессенджера в индукции воспалительного каскада [42]. Высвобождение мтДНК в цитозоль вызывает активацию формирования инфламмосомы NLRP-3 (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Receptor Pyrin Domain-Containing-3) с реализацией целой сети событий в виде транслокации ядерного фактора транскрипции каппа β и высвобождения провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-18 и ФНО- α [43].

Повышенная продукция мРФК является основной причиной развития воспалительного процесса, гипертрофических и фиброзных изменений [44]. Соответственно, при недостаточной активности антиоксидантных систем формируется «порочный круг», следствием которого становится развитие и прогрессирование митохондриальной дисфункции, которая признается одним из классических механизмов развития приобретенных морфологических и функциональных нарушений в тканях при ССЗ и связанных с ними состояниях [45]. Иными словами, инициация и поддержание системного воспаления, как одного из ведущих механизмов сосудистого старения под влиянием измененного биогенеза митохондрий, может происходить разнообразными путями и иметь характер непрерывного континуума, стартовой точкой которого служит нарушение окислительного фосфорилирования в ЭТЦ митохондрий.

Исследования последних лет выявили дополнительные, напрямую не связанные с энергообменом, но не менее важные функции митохондрий, которые включают регуляцию пролиферации, дифференцировки и механизмов гибели клеток (апоптоз, некроз, пироптоз) [20, 46]. Одним из общих факторов, лежащих в основе процесса старения, является накопление молекулярных повреждений и нарушение механизмов воспроизводства клеточного пула. Размер популяций стволовых клеток (СК), необходимый для

возобновления погибших клеток, зависит от баланса между самообновлением и их дифференцировкой. Выход из митохондрий танатогенных белков реализуется за счет формирования митохондриальных апоптотических пор и повышения их проницаемости. Предполагается, что выбор клеткой вариантов программированной гибели определяется количеством открытых пор в митохондриях [47].

Мезенхимальные СК (МСК) костного мозга у пожилых пациентов демонстрируют повышенные уровни мРФК, изменение метилирования ДНК, укорочение теломер и повышенную экспрессию белка, связанного со старением, фермента бета-галактозы глюкозида, которые способствуют ингибированию дифференцировки МСК [48]. При большинстве ХНИЗ МСК имеют признаки клеточного старения с повреждением ДНК, которое может быть результатом окислительного стресса с потерей регенеративной способности, в большинстве органов: легких, сердце, сосудистой и нервной системах, скелетных мышцах и др. [30]. Высказываются гипотезы о вкладе нарушений переноса митохондрий через туннельные нанотрубки или внеклеточные везикулы МСК в механизмах клеточного повреждения [42].

Понимание молекулярных механизмов старения МСК имеет решающее значение для выяснения общих механизмов, лежащих в основе мультиморбидности, и дает возможность найти методы лечения, которые остановят его прогрессирование или даже восстановят функцию стволовых клеток [49]. Среди разнообразных теорий старения особое место занимает вопрос, связанный с нарушением механизмов репликации. Старение можно рассматривать как результат изменений в экспрессии генов и эпигенетических факторов, связанных с альтерацией ДНК и регулированием количества клеточных делений с помощью теломер [50].

Теломераза – это ферментный комплекс, поддерживающий длину теломер и состоящий из обратной транскриптазы теломеразы (TERT) и матрицы РНК с белком дискерином. Избыточный окислительный стресс снижает активность теломеразы и приводит к укорочению теломер, что вызывает активацию белка p21 с высвобождением провоспалительных медиаторов (ИЛ-6, CXCL1, CXCL8 и CCL2), доказывая, что стареющие клетки являются провоспалительными. Укороченные теломеры индуцируют экспрессию проапоптотического белка p53 с последующим подавлением генов коактиваторов рецептора-гамма –1a и –b подтипов, экспрессия которых необходима для поддержания митохондриальной функции и выживания. В инверсию митохондриального биогенеза особый вклад вносят нарушения процессов митофагии, которые в свою очередь связаны с изменением активности белков семейства сиртуинов (sirtuins, Silent Information Regulator proteins, SIRT).

Сиртуины или «молчащие» белки-регуляторы информации разнообразно представлены в ядре, цитоплазме, митохондриях для улучшения процессов

деацетилирования негистоновых белков и вызывают интерес как молекулы, участвующие в регуляции продолжительности жизни. Они являются НАДФН-зависимыми ферментами, которые играют роль в устойчивости к стрессу, поддержании стабильности генома и сбалансированного энергетического метаболизма [51]. Из семи сиртуинов, обнаруженных у млекопитающих, наибольшее внимание уделено SIRT1 и SIRT6, так как именно для них прослежена связь с возможным увеличением продолжительности жизни у млекопитающих. SIRT1 деацетирует многие ключевые регуляторные белки и факторы транскрипции, которые участвуют в репарации ДНК, воспалении, экспрессии антиоксидантных генов, клеточном старении и митофагии. SIRT6 представляет собой АДФ-рибозилазу и протеин-деацетилазу и играет ключевую роль в регулировании репарации ДНК, механизмах репликации теломер и поддержании метаболического гомеостаза, то есть также связан с увеличением продолжительности жизни [52]. Количество SIRT1 и SIRT6 снижается при атеросклерозе, сердечной недостаточности, сахарном диабете 2 типа, ожирении, нарушении толерантности к глюкозе и пр. [52, 53].

Точность знаний молекулярных механизмов клеточного и тканевого повреждения при заболеваниях, связанных с ускоренным старением, позволяет выявить общие пути развития коморбидной патологии. В современной терапевтической стратегии, направленной на увеличение продолжительности активного долголетия, необходим поиск одновременно наиболее точных и общих мишеней воздействия на продление естественных процессов старения. В связи с этим наиболее привлекательными представляются точки вмешательства, предотвращающие старение клетки во всем многообразии внутри- и межклеточных взаимодействий, центральное место в которых занимают митохондрии – уникальные симбиотические органеллы. Доказано, что регуляция процессов сосудистого старения является очевидным подходом в предотвращении неблагоприятных событий при различных вариантах мульти и коморбидности. Помимо оправданных и изучаемых терапевтических вмешательств особое место занимают вопросы регуляции метаболома при модификации образа жизни в виде коррекции пищевого рациона и оптимальных физических нагрузок [54].

Заключение.

Приведенный анализ собственных данных и исследований других авторов позволяет определить наиболее значимые и активно развивающиеся концепции формирования актуальных коморбидных состояний, вносящих наибольший вклад в сокращение продолжительности жизни современного человека. Значимыми паттернами ко- и мультиморбидности являются сердечно-сосудистые заболевания, СД 2 типа, и ХОБЛ, которые большинством исследователей рассматриваются в качестве моделей ускоренного

старения. Среди общих патогенетических механизмов полиморбидности ведущее место занимает системная сосудистая дисфункция с развитием цепи событий, неуклонно ведущих к утрате анатомических и функциональных возможностей тканевого и клеточного жизнеобеспечения. Перепрограммирование митохондриального биогенеза занимает центральную позицию в различных теориях развития ускоренного старения и служит одной из привлекательных мишеней возможных вмешательств в продлении активного долголетия.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – ВАН, ВМЧ

Сбор и обработка материала – ТАБ, ПАС

Написание текста – ВАН, ПАС, НВЗ

Редактирование, окончательное утверждение для публикации – ВАН, ВМЧ

Литература / References

1. Barnett K., Mercer S.W., Norbury M., Watt G., Wyke S., Guthrie B. Epidemiology of multimorbidity and implications for health care, research, and medical education: a cross-sectional study. *Lancet*. 2012; 380: 37–43. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60240-2
2. Harris R.E., ed. *Epidemiology of Chronic Disease Global Perspectives*. Massachusetts, Jones and Bartlett Learning. 2013.
3. Dodds C. Physiology of ageing. *Anaesth Intensive Care Med*. 2006; 7: 456–458. DOI: 10.1053/j.mpaic.2006.09.011
4. Nevzorova V., Brodskaya T., Gilifanov E. Smoking and COPD: Endothelium-Related and Neuro-mediated Emphysema Mechanisms. *Respiratory Diseases*. 2020. DOI: 10.5772/intechopen.85927
5. Черток В.М., Невзорова В.А., Савченко А.К., Мирошниченко О.В., Ларюшкина А.В. Возрастные особенности организации микроциркуляторного русла бульбарной конъюнктивы. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020; 3(81): 57–61. [Chertok V.M., Nevzorova V.A., Savchenko A.K., Miroshnichenko O.V., Laryushkina A.V. Age-related features of the organization of the microcirculatory bed of the bulbar conjunctiva. *Pacific Medical Journal*. 2020;3(81):57–61. (In Russ).]. DOI: 10.34215/1609-1175-2020-3-57-61
6. Kabalyk M.A., Nevzorova V.A. Molecular and Cellular Mechanisms of Osteoarthritis in Experimental Arterial Hypertension and Hyperlipidemia. *Gerontology*. 2021; 11(2): 145–151. DOI:10.1134/S2079057021020065
7. Seth R.B., Sun L., Ea C.K., Chen Z.J. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3. *Cell*. 2005; 122: 669–682. DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.012
8. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 2005; 120: 483–495. DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.001
9. Kirkwood T.B. Understanding the odd science of aging. *Cell*. 2005; 120: 437–447. DOI: 10.1016/j.cell.2005.01.027
10. Ruas J.S., Siqueira-Santos E.S., Rodrigues-Silva E. & Castilho R.F. High glycolytic activity of tumor cells leads to underestimation of electron transport system capacity when mitochondrial ATP synthase is inhibited. *Sci Rep*. 2018; 8: 17383. DOI: 10.1038/s41598-018-35679-8
11. Shadel G.S., Horvath T.L. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*. 2015; 163: 560–569. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.001

12. Kang M.J., Yoon C.M., Kim B.H., Lee C.M., Zhou Y., Sauler M., Rober H., Anish D., Daniel B., Andrew P. Suppression of NLRX1 in chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest.* 2015; 125: 2458–2462. DOI: 10.1172/JCI171747.
13. Bholá P.D., Letai A. Mitochondria-judges and executioners of cell death sentences. *Mol Cell.* 2016; 61: 695–704. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.02.019
14. Cloonan S.M., Choi A.M. Mitochondria in lung disease. *J Clin Invest.* 2016; 126: 809–820. DOI: 10.1172/JCI81113
15. Austin V., Crack Peter J., Bozinovski S., Miller Alyson A., Vlahos R. COPD and stroke: are systemic inflammation and oxidative stress the missing links? *Clinical Science.* 2016; 130(13) :1039. DOI: 10.1042/CS20160043
16. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. The hallmarks of ageing. *Cell.* 2013; 153:1194–1217. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. The hallmarks of ageing. *Cell.* 2013; 153:1194–1217. DOI: 10.1016/j.cell.2013.05.039
17. Andersson S.G., Zomorodipour A., Andersson J.O., Sicheritz-Pontén T., Alsmark U.C., Podowski R.M., Näslund A.K., Eriksson A.S., Winkler H.H., Kurland C.G. The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature.* 1998; 396(6707): 133–40. DOI: 10.1038/24094
18. Kurland C.G., Andersson S.G.E. Origin and Evolution of the Mitochondrial Proteome. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000; 64: 786–820. DOI: 10.1128/MMBR.64.4.786–820.2000
19. Fitzpatrick D.A., Creevey C.J., McInerney J.O. Genome phylogenies indicate a meaningful alpha-proteobacterial phylogeny and support a grouping of the mitochondria with the Rickettsiales. *Mol Biol Evol.* 2006; 23(1): 74–85. DOI: 10.1093/molbev/msj009
20. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1956; 11: 298–300. DOI: 10.1093/geronj/11.3.298
21. Schofield, C., Ratcliffe, P. Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004; 5: 343–354. DOI: 10.1038/nrm1366
22. Hoffmann R.F., Zarrintan S., Brandenburg S.M., Kol A., de Bruin H.G., Jafari S., Dijk F., Kalicharan D., Kelders M., Gosker H.R., Ten Hacken N.H., van der Want J.J., van Oosterhout A.J., Heijink I.H. Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in airway epithelial cells. *Respir Res.* 2013; 14(1): 97. DOI: 10.1186/1465-9921-14-97
23. Невзорова В.А., Захарчук Н.В., Агафонова И.Г., Сарафанова Н.С. Особенности развития дисфункции сосудов головного мозга при артериальной гипертензии и курении. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2013; 4: 9–16. [Невзорова В.А., Захарчук Н.В., Агафонова И.Г., Сарафанова Н.С. Features of arterial hypertension and smoking-related cerebrovascular dysfunction. *Pacific Medical Journal.* 2013; 4: 9–16 (In Russ).].
24. Захарчук Н.В., Невзорова В.А., Черток В.М., Сарафанова Н.С. Влияние хронического табакокурения на церебральную гемодинамику. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017;117(2):124–129. [Zakharchuk N.V., Nevzorova V.A., Chertok V.M., Sarafanova N.S. Effects of chronic tobacco smoking on the cerebral blood flow. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova.* 2017;117(2):124–9 (In Russ).]. DOI: 10.17116/jnevro201711721124-129
25. Захарчук Н.В., Невзорова В.А., Черток В.М., Рощенко Р.В. Влияние табачного дыма на содержание HIF-1 α -иммунопозитивных нейронов и капилляров в коре головного мозга крыс. *Морфология.* 2019; 155(2): 118. [Zakharchuk N.V., Nevzorova V.A., Chertok V.M., Roshchenko R.V. Effects of tobacco smoke on the number of HIF-1 α -immunopositive neurons and capillaries in the rat brain cortex. *Morphology.* 2019;155(2):118 (In Russ).].
26. Невзорова В.А., Черток В.М., Захарчук Н.В., Черток А.Г. Влияние гипоксии на содержание HIF-2 α -иммунопозитивных нейронов и капилляров в коре головного мозга крыс. *Морфология.* 2018;153(3):196–197. [Невзорова В.А., Черток В.М., Захарчук Н.В., Черток А.Г. Effects of hypoxia on the content of hif-2 α -immunopositive neurons and capillaries in rat cerebral cortex. *Morphology.* 2018;153(3):196–197 (In Russ).].
27. Захарчук Н.В., Черток В.М., Невзорова В.А., Черток А.Г. Иммуноцитохимическое исследование желатиназы и их тканевых ингибиторов в капиллярах головного мозга у нормо- и гипертензивных крыс. *Морфология.* 2018;154(5):31–38. [Zakharchuk N.V., Chertok V.M., Nevzorova V.A., Chertok A.G. Immunocytochemical study of gelatinases and their tissue inhibitors in brain capillaries in normo- and hypertensive rats. *Morphology.* 2018;154(5):31–38 (In Russ).].
28. Черток В.М., Черток А.Г., Захарчук Н.В., Невзорова В.А. Экспрессия матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сосудистом русле головного мозга при хронической интоксикации табачным дымом в эксперименте. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2018;118(6):65–71. [Chertok V.M., Chertok A.G., Zakharchuk N.V., Nevzorova V.A. The distribution of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the brain vascular bed exposed to chronic tobacco smoke. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova.* 2018;118(6):65–71 (In Russ).]. DOI: 10.17116/jnevro20181186165
29. Chertok V.M., Chertok A.G., Zakharchuk N.V., Nevzorova V.A. Dynamics of distribution of capillaries with matrix metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor in rat brain during development of experimental hypertension. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2018;164(3):397–401.
30. Larry H. Bernstein. The Role of Mitochondrial Imbalance in Pulmonary Diseases. *EC Pulmonology and Respiratory Medicine* 2019; 8.4: 336–344.
31. Parola M., Robino G., Hepa J. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol.* 2001; 35(2): 297–306. DOI: 10.1016/S0168-8278(01)00142-8
32. Giordano F.J., Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J. Clin. Invest.* 2005;115:500–508. DOI: 10.1172/JCI24408
33. Parekh A.K., Barton M.B. The challenge of multiple comorbidity for the US health care system. *The Journal of the American Medical Association.* 2010;303(13):1303–1304. DOI: 10.1001/jama.2010.381
34. Speakman J.R., Selman C. The free-radical damage theory: accumulating evidence against the simple link of oxidative stress to ageing and life span. *Bioessays.* 2011;33:255–259. DOI: 10.1002/bies.201000132
35. Liochev S.I. Reflections on the theories of aging, of oxidative stress, and of science in general. Is it time to abandon the free radical (oxidative stress) theory of aging? *Antioxid Redox Signal* 2014. [In press DOI: 10.1089/ars.2014.5928].
36. Toyama EQ, Herzig S, Courchet J, Lewis T.J., Jr., Losón O.C., Hellberg K., Young N.P., Chen H., Polleux F., Chan D.C., Reuben J. Shaw. Metabolism. AMP-activated protein kinase mediates mitochondrial fission in response to energy stress. *Science* 2016;351:275–28. DOI: 10.1126/science.aab4138
37. Mishra P, Chan DC. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:634–646. DOI: 10.1038/nrm3877
38. Mizumura K, Cloonan SM, Nakahira K, Bhashyam A.R., Cervo M., Kitada T, Glass K., Owen C.A., Mahmood A., Washko G.R., Hashimoto S., Ryter S.W., Choi A.M.K. Mitophagy-dependent necroptosis contributes to the pathogenesis of COPD. *J Clin Invest* 2014;124:3987–4003. DOI: 10.1172/JCI74985
39. Chertok V.M., Chertok A.G., Zakharchuk N.V., Nevzorova V.A. Dynamics of distribution of capillaries with matrix metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor in rat brain during development of experimental hypertension. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2018;164(3):397–401. DOI: 10.1007/s10517-018-3998-9
40. Jackson M.V., Morrison T.J., Doherty D.F., McAuley D.F., Matthay M.A., Kissenpfennig A., Krasnodembskaya A.D. Mitochondrial transfer via tunneling nanotubes is an important mechanism by which mesenchymal stem cells enhance macrophage

- phagocytosis in the in vitro and in vivo models of ARDS. *Stem Cells*. 2016;34:2210–2223. DOI: 10.1002/stem.2372
41. Finkel T., Deng C.X., Mostoslavsky R. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins. *Nature*. 2009;460:587–591. DOI: 10.1038/nature08197
42. Hoffmann R.F., Zarrintan S., Brandenburg S.M., Kol A., de Bruin H.G., Jafari S., Dijk F., Kalicharan D., Kelders M., Gosker H.R., Ten Hacken N.H., van der Want J.J., van Oosterhout A.J., Heijink I.H. Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in airway epithelial cells. *Respir Res*. 2013;14(1):97. DOI: 10.1186/1465-9921-14-97.
43. Wu G., Zhu Q., Zeng J., Gu X., Miao Y., Xu W., Lv T., Song. Extracellular mitochondrial DNA promote NLRP3 inflammasome activation and induce acute lung injury through TLR9 and NF- κ B. *J Thorac Dis* 2019;11:4816–4828. DOI: 10.21037/jtd.2019.10.26
44. Gurung P., Lukens J.R., Kanneganti T.D. Mitochondria: diversity in the regulation of the NLRP3 inflammasome *Trends Mol. Med.*, (2015;21(3):193-201. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.11.008
45. Guimaraes C.A., Linder R. Programmed cell death: apoptosis and alternative deathstyles. *Eur. J. Biochem*. 2004;217:1638–1650. DOI: 10.1111/j.1432-1033.2004.04084.x
46. Harman D. Free radical theory of aging: an update: increasing the functional life span. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1067:10–21. DOI: 10.1196/annals.1354.003
47. Kovarova M., Hesker P.R., Jania L., Nguyen M.T., Snouwaert J.N., Xiang Z., Lommatzsch S.E. NLRP1-dependent pyroptosis leads to acute lung injury and morbidity in mice. *J Immunol*. 2012;189:2006–2016. DOI: 10.4049/jimmunol.1201065
48. Mora A.L., Rojas M. Adult stem cells for chronic lung diseases. *Respirology*. 2013;18:1041-1046. DOI: 10.1111/resp.12112
49. Rashida Gnanaprakasam J.N., Wu R., Wang R. Metabolic reprogramming in modulating T cell reactive oxygen species generation and antioxidant capacity. *Front. Immunol*. 2018;9:1075. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01075
50. Kamiński M.M., Röth D., Krammer P.H., Gülow K. Mitochondria as oxidative signaling organelles in T-cell activation: physiological role and pathological implications. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2013;61(5):367-384. DOI: 10.1007/s00005-013-0235-0
51. Virmani R., Avolio A.P., Mergner W.J., Robinowitz M., Herderick E.E., Cornhill J.F. Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis: comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol*. 1991;139:1119–1129.
52. Robert L. Aging of the vascular wall and atherogenesis: role of the elastin-laminin receptor. *Atherosclerosis*. 1996;123:169–179. DOI: 10.1016/0021-9150(96)05804-2
53. Tennant D.A., Durán R.V., Gottlieb E. Targeting metabolic transformation for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2010;10:267–277. DOI: 10.1038/nrc2817
54. de Cabo R., Carmona-Gutierrez D., Bernier M., Hall M.N., Madeo F. The search for antiaging interventions: from elixirs to fasting regimens. *Cell*. 2014;157:1515–1526. DOI: 10.1016/j.cell.2014.05.031

УДК 616.24-007.271-036.12-092:616.745

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-17-25

Респираторно-мышечная дисфункция дыхательной мускулатуры и хроническая обструктивная болезнь легких: патофизиологические взаимосвязи и клиническое значение

Б.И. Гельцер¹, В.Н. Котельников^{1,2}, А.Г. Кожанов¹¹ Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины, г. Владивосток, Россия² Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия

В обзоре представлены данные литературы по проблеме дисфункции дыхательных мышц (ДМ) у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Рассмотрены основные аспекты их патофизиологических взаимосвязей и ценность для клинической практики. В развитии дисфункции ДМ имеют значение как локальные, так и системные факторы патогенеза ХОБЛ. Локальные факторы связаны с ремоделированием легких и необходимостью преодоления ДМ избыточного сопротивления дыханию, что увеличивает интенсивность их работы, способствует развитию гипертрофии и недостаточности. Хроническое системное воспаление, оксидативный стресс, избыточный протеолиз и другие системные проявления ХОБЛ изменяют метаболизм и структурно-функциональную организацию ДМ. Выраженность морфо-функциональных нарушений и метаболический статус ДМ зависит от тяжести ХОБЛ и проявляется на ранних стадиях заболевания гипертрофией миоцитов, их возрастающей капилляризацией и повышением плотности митохондрий, а на поздних – диффузным замещением мышечных волокон соединительной тканью. Низкий нутритивный статус, нарастающий белково-энергетический дефицит, электролитный дисбаланс, эндокринные нарушения на фоне прогрессирующей дыхательной недостаточности и тканевой гипоксии способствуют развитию слабости ДМ. Респираторная и сердечно-сосудистая коморбидность существенно ухудшает функцию ДМ и прогноз каждого из коморбидных заболеваний. Кроме того, дисфункция ДМ у больных ХОБЛ нарастает в старческом возрасте. В обзоре обсуждаются возможности фармакологической коррекции дисфункции ДМ и другие клинические аспекты этой проблемы.

Ключевые слова: дисфункция дыхательных мышц, хроническая обструктивная болезнь легких

Поступила в редакцию 15.02.2022. Получена после доработки 19.02.2022. Принята к печати 01.03.2022

Для цитирования: Гельцер Б.И., Котельников В.Н., Кожанов А.Г. Респираторно-мышечная дисфункция дыхательной мускулатуры и хроническая обструктивная болезнь легких: патофизиологические взаимосвязи и клиническое значение. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;1: 17–25. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-17-25

Для корреспонденции: Котельников Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой медицины катастроф и безопасности жизнедеятельности Тихоокеанского медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), профессор департамента клинической медицины, Школы медицины Дальневосточного федерального университета (690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10); ORCID: 0000-0001-5830-1322; e-mail: 671235@mail.ru

Respiratory and muscular dysfunction of the respiratory muscles and chronic obstructive pulmonary disease: pathophysiological relationships and clinical significance

B.I. Geltser¹, V.N. Kotelnikov^{1,2}, A.G. Kozhanov¹¹ Far Eastern Federal University, School of Biomedicine, Vladivostok, Russia;² Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Summary: The review presents literature data on the problem of respiratory muscle (RM) dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The main features of their pathophysiological interactions and clinical practice values were observed. Both local and systemic factors of the pathogenesis of COPD are important in the development of RM dysfunction. Local factors are associated with lung remodeling and the need of RM to overcome excessive breathing resistance, which increases the intensity of their work, and contributes to the development of hypertrophy and insufficiency. Chronic systemic inflammation, oxidative stress, excessive proteolysis and other systemic manifestations of COPD change the metabolism, structural and functional organization of RM. The severity of morpho-functional disorders and metabolic status of RM depends on the gravity of COPD and emerges on the early stages as myocytes' hypertrophy, their increasing capillarization and the increasing of mitochondrion density. At late stages it appears as diffuse replacement of muscle fibers by connective tissue. Low nutritional status, increasing protein-energy deficiency, electrolyte imbalance, endocrine disorders on the background of progressive respiratory insufficiency and tissue hypoxia contribute to the development of RM weakness. The combination of COPD, acute disorders of cerebral circulation and chronic heart failure sharply worsens the function of RM and the prognosis of comorbid diseases. Also, the dysfunction of RM in patients having COPD is significantly aggravated at the age of senility. The review discusses the possibilities of pharmacological correction of RM dysfunction and other clinical aspects of this problem.

Keywords: respiratory muscle dysfunction, chronic obstructive pulmonary disease

Received 15 February 2022; Revised 19 February 2022; Accepted 01 March 2022

For citation: Geltser B.I., Kotelnikov V.N., Kozhanov A.G. Respiratory and muscular dysfunction of the respiratory muscles and chronic obstructive pulmonary disease: pathophysiological relationships and clinical significance. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:17–25. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-17-25

Vladimir N. Kotelnikov, MD, PhD, professor. Head of the Chair of Disaster Medicine and Life Safety of the Pacific Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation), prof. of the Department of Clinical Medicine, School of Medicine of the Far Eastern Federal University (10, Ajax, Russian Island, Vladivostok, 690922, Russian Federation). ORCID: 0000-0001-5830-1322; e-mail: 671235@mail.ru

Дыхательные мышцы (ДМ) являются важнейшим элементом респираторной системы и обеспечивают в качестве «дыхательной помпы» альвеолярную вентиляцию в соответствии с текущими запросами организма. Масса ДМ здорового человека среднего возраста составляет 4-5 кг или 10-15% от общей мышечной массы, а работа только инспираторных мышц при физической нагрузке с максимальной интенсивностью требует для осуществления их деятельности около 16% доступного кислорода, что свидетельствует об энергетически затратном режиме их функционирования [1]. При возрастающих нагрузках на респираторную систему описан «метаболический рефлекс ДМ», связанный с перераспределением кровотока от мышц опорно-двигательного аппарата к ДМ, что указывает на их особую роль в обеспечении гомеостаза [2]. ДМ выполняют функцию эффекторного звена в сложной структуре регуляции дыхания и являются единственной группой скелетных мышц, которая работает без «отдыха» на протяжении всей жизни. Они обладают мощными резервными возможностями и адаптированы к выполнению продолжительной физической нагрузки. Однако, как и другие скелетные мышцы, ДМ подвержены развитию утомления в тех случаях, когда интенсивность и продолжительность их работы чрезмерна. В этих условиях для поддержания необходимых уровней легочной вентиляции рекрутируются различные группы вспомогательной ДМ, прежде всего инспираторной [3]. В соответствии с уровнем повреждения различных контуров регуляции ДМ выделяют три основных варианта их дисфункции: центральный, транзитный и эффекторный (мышечный). Нередко имеет место их комбинация. Так, дисфункцию ДМ диагностируют при повреждении передних мотонейронов шейного или грудного отделов спинного мозга, заболеваниях периферических нервных стволов, патологии нервно-мышечных синапсов или непосредственно мышечной ткани [4].

Дисфункция ДМ – одно из важнейших проявлений хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). В ее развитии имеют значение как локальные, так и системные факторы патогенеза данного заболевания. К локальным факторам можно отнести морфо-функциональные последствия процессов ремоделирования кондуктивного и респираторного отделов органов дыхания, приводящие к увеличению работы ДМ, их гиперфункции и недостаточности. Системные факторы ХОБЛ связаны с реализацией типовых патологических процессов: хронического системного воспаления (ХСВ), оксидативного стресса, тканевой гипоксии, избыточного протеолиза и других, продукты которых изменяют метаболизм и структурно-функциональную

организацию ДМ. Доказано, что ДМ при избыточных нагрузках могут трансформироваться в активный «метаболический плацдарм», продуцирующий спектр провоспалительных цитокинов и других физиологически активных веществ [5]. Последние оказывают влияние не только на функцию ДМ, но и на центральный контур регуляции дыхания. Это, в свою очередь, способствует изменению паттернов дыхания и является важным фактором в развитии респираторной мышечной дисфункции [6].

Традиционно выделяют два основных типа дисфункции ДМ: утомление и слабость [7]. Утомление ДМ развивается в результате снижения силы и скорости их сокращений вследствие чрезмерной работы по преодолению избыточного сопротивления дыхательных путей и эластического сопротивления легких [8]. Под слабостью ДМ понимают состояние, при котором мышечная сила стабильно низкая и практически не восстанавливается даже в условиях относительного покоя, например, при респираторной поддержке. В отличие от слабости утомление – процесс обратимый, и функция ДМ может восстанавливаться после «отдыха» [9]. Применительно к ХОБЛ данная классификация представляется весьма условной, так как степень утомления ДМ при прогрессировании заболевания неуклонно возрастает, и этот процесс становится необратимым [10]. Это в первую очередь относится к главной инспираторной мышце – диафрагме, снижение сократительной активности которой при нарастающей легочной гиперинфляции имеет особое значение в патогенезе ХОБЛ. Дисфункция ДМ при данном заболевании ассоциируется прежде всего с выраженностью бронхиальной обструкции и эмфиземы легких, а в качестве ее клинического эквивалента выступает одышка. Так, в ряде исследований у этой категории больных установлены прямые корреляционные связи между объемом форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1) и силой инспираторных мышц, в то время как сила экспираторных мышц не зависела от скоростных показателей дыхания [11]. У пациентов с ХОБЛ отмечены также тесные взаимосвязи между субъективным восприятием одышки, вербальной рейтинговой шкалой слабости и ухудшением функции ДМ. Показано, что максимальное инспираторное давление в ротовой полости более тесно коррелирует с выраженностью одышки, чем с легочными объемами [12].

Интерес клиницистов к проблеме дисфункции ДМ у больных ХОБЛ связан прежде всего с необходимостью ее ранней диагностики, особенно в случаях тяжелой коморбидности пациентов, оценки вклада данного фактора в развитие дыхательной недостаточности

(ДН) и определения методов ее коррекции. Анализ данных литературы свидетельствует о недостаточном объеме научной информации по различным клинко-патофизиологическим аспектам дисфункции ДМ при ХОБЛ, что служит основанием для более глубокого изучения этой проблемы.

Структурно-функциональная организация ДМ и ее изменение при ХОБЛ

ДМ относятся к поперечно-полосатой скелетной мускулатуре. По скорости сокращения их мышечные волокна подразделяют на медленно сокращающиеся (S) и быстро сокращающиеся (F). Последняя группа включает устойчивые к усталости (FR), умеренные устойчивые к усталости (Fint) и легко утомляющиеся (FF) [13]. В зависимости от активности фермента аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) мышечные волокна подразделяют на медленные окислительные (I тип) и быстрые гликолитические волокна (II тип). Волокна I типа характеризуются высокой объемной плотностью митохондрий и активностью окислительных ферментов, большим количеством липидных включений [14]. Волокна II типа хуже кровоснабжаются, характеризуются низкой объемной плотностью митохондрий и содержат меньше липидов и миоглобина. Благодаря высокой скорости сокращения и быстрой утомляемости такие волокна способны на кратковременную, но высокоинтенсивную работу. II тип миофибрилл классифицируют на быстрые окислительно-гликолитические (IIa типа), быстрые гликолитические волокна (IIb типа), а также волокна IIx и IIc типов с промежуточными характеристиками [15]. Источниками энергии для волокон IIa типа являются как окислительные, так анаэробные механизмы. Волокна IIb типа развивают наибольшую силу сокращений среди всех миофибрилл, однако активируются лишь при кратковременных нагрузках и получают энергию из гликогена исключительно через процессы анаэробного окисления [16]. Иннервация волокон I типа обеспечивается малыми, а волокон II типа – большими альфа-мотонейронами спинного мозга. Основным структурным элементом ДМ служит двигательная единица (ДЕ), состоящая из мотонейрона и мышечных волокон различных типов, которые он иннервирует. При этом наибольшей силой сокращения обладают ДЕ, в которых доминируют Fint- и FF-волокна, а наименьшей – S- и FR-волокна [14].

ДМ подразделяются на инспираторные и экспираторные. Главными инспираторными мышцами считаются диафрагма и наружные межреберные мышцы. В тех случаях, когда они не способны обеспечить потребности организма в кислороде, в акт дыхания рекрутируются вспомогательные ДМ: лестничные, грудно-ключично-сосцевидные, зубчатые и грудные, а также широчайшая мышца спины [7]. Среди вспомогательных ДМ наиболее значительной сократительной активностью обладают лестничные и грудно-ключично-сосцевидные мышцы [3]. В обычных

условиях выдох является пассивным процессом, так как расслабление инспираторных мышц вызывает повышение внутриальвеолярного давления, благодаря чему воздух покидает респираторную систему. Экспираторные мышцы способны форсировать этот процесс в тех случаях, когда имеет место избыточное сопротивление дыханию. К ним относятся мышцы передней брюшной стенки (наружные и внутренние косые, прямые и поперечные) и внутренние межреберные мышцы.

Диафрагма обеспечивает практически весь объем легочной вентиляции в условиях покоя. По уровню кровоснабжения и интенсивности обменных процессов она ближе к миокарду, чем к другим скелетным мышцам [17]. Важнейшая особенность диафрагмы заключается в непосредственной моносинаптической связи с инспираторными нейронами дыхательного центра [18]. Именно поэтому паттерн активации диафрагмальной мышцы довольно точно повторяет активность центрального контура регуляции дыхания [19]. Диафрагма почти лишена собственной афферентной системы из-за низкой плотности проприорецепторов, а функцию обратной связи, регулирующей ее сокращения, обеспечивают рецепторы растяжения легких. Стимуляция этих рецепторов тормозит инспираторную активность дыхательного центра, способствуя окончанию очередного вдоха (рефлекс Геринга-Брейера). Диафрагму характеризуют как узкоспециализированную дыхательную мышцу, чья активность в покое ограничена ее инспираторной функцией [20].

Установлено, что диафрагма более устойчива к утомлению, чем лестничные и грудно-ключично-сосцевидные мышцы. Так, при ХОБЛ I-II стадии снижение максимального инспираторного давления в ротовой полости связано прежде всего с утомлением именно этих вспомогательных мышц, тогда как нарушения сократительной способности диафрагмы развиваются на более поздних стадиях заболевания. Функциональная недостаточность вспомогательной ДМ наряду с добавочным сопротивлением дыханию увеличивает нагрузку на диафрагму, способствуя развитию ее слабости и снижению резервов дыхательной системы [3]. При ХОБЛ существенно возрастает потребность ДМ в энергообеспечении, и повышается «кислородная цена» дыхания. Однако низкий нутритивный статус больных ограничивает энергопотребление, что изменяет структуру, силу и выносливость ДМ [21].

В диафрагме пациентов с тяжелой степенью ХОБЛ возрастает содержание S-волокон, а количество F-волокон I и II типов снижается. Таким образом, происходит ремоделирование миофибрилл с изменением их фенотипа с быстрых на медленные. В связи с тем, что S-волокна более устойчивы к длительным физическим нагрузкам, чем F-волокна, данный процесс при ХОБЛ рассматривается в качестве компенсаторного, противостоящего мышечной слабости

за счет «оптимизации» энергообеспечения ДМ. При тяжелом течении ХОБЛ в ДМ отмечается четырехкратное снижение содержания тяжелых цепей миозина (МуНС) и трехкратное увеличение активности процессов их карбонилирования. На интенсивность потери мышцами МуНС влияют выраженность бронхиальной обструкции и тяжесть тканевой гипоксии [22]. Интенсификация процессов карбонилирования коррелирует с уровнем трансдиафрагмального давления и максимального инспираторного давления в ротовой полости.

При морфологическом исследовании ДМ у больных ХОБЛ наблюдали признаки их миолиза, склерозирования и атрофии. Кроме того, имели место пролиферация клеток перимизия и фибробластов, а также фрагментация и контрактуры миофибрилл. В ряде работ отмечено, что выраженность морфологических изменений соответствует тяжести клинического течения ХОБЛ. Так, при тяжелых формах заболевания повреждение ДМ проявляется перестройкой микроциркуляторного русла, дистрофией клеток эндотелия, лейкостазом и диффузным замещением мышечных волокон соединительной тканью, в то время как на ранних стадиях ХОБЛ в ДМ обнаруживают изменения в виде гипертрофии миоцитов, очагов мышечного отека, вакуолизации митохондрий и инфильтрации лейкоцитами стромы и стенок сосудов [23]. Степень поражения зависит также от функциональной принадлежности ДМ. Так, большинство авторов указывает на то, что инспираторные мышцы вовлекаются в патологический процесс раньше, а морфо-функциональные изменения в них более заметны, чем в экспираторных мышцах [24]. В других исследованиях представлены данные о том, что морфологические изменения наиболее выражены в экспираторных мышцах, в частности, во внутренних межреберных, а признаки альтерации диафрагмы незначительны. Кроме того, показано, что имеются различия в соотношении количества миофибрилл с признаками повреждения и адаптивных изменений не только в разных группах ДМ, но даже в пределах одной группы [25].

Ряд авторов отмечают, что в ДМ больных ХОБЛ замещение мышечных волокон оксидативного типа I на гликолитический тип II ухудшает качество их механической работы, увеличивает продукцию молочной кислоты и приводит к формированию метаболического ацидоза [16]. При этом снижается капилляризация ДМ, ограничиваются их кровоснабжение и площадь поперечного сечения мышечных волокон. В других работах показано, что при ХОБЛ в отдельных группах ДМ преобладает аэробный фенотип миофибрилл с высоким содержанием оксидативных волокон, возрастающей капилляризацией, повышением плотности митохондрий и активацией ферментов аэробного метаболизма [26]. Эти изменения расцениваются авторами как компенсаторные. В связи с этим можно предположить, что динамика изменений метаболического статуса ДМ зависит от тяжести ХОБЛ, и при

нарастании артериальной гипоксемии и тканевой гипоксии начинает доминировать анаэробный тип энергообеспечения. Кроме того, преобладание того или иного типа мышечных волокон может существенно отличаться в различных группах ДМ, что затрудняет однозначную трактовку динамики морфо-функциональных изменений [22].

Роль системных проявлений ХОБЛ в патогенезе дисфункции ДМ

У больных ХОБЛ взаимодействие локальных и системных факторов заболевания тем или иным образом изменяет фенотип и функционирование ДМ. ХСВ в настоящее время рассматривают как «классическое» проявление ХОБЛ, которое характеризуется тотальной воспалительной реактивностью клеточных и плазменных факторов крови, структурных элементов соединительной и мышечной ткани, расстройствами микроциркуляции [16]. К основным медиаторам ХСВ относят провоспалительные интерлейкины (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-22), ФНО- α , матриксные протеиназы, С-реактивный белок (СРБ), фибриноген и др. [27]. ХСВ формирует своеобразный метаболический фон, способствующий развитию коморбидности у больных ХОБЛ. Это в полной мере относится и к дисфункции ДМ. Кроме того, доказано, что в условиях резистивного дыхания усиленно сокращающиеся миоциты ДМ сами являются источником продукции цитокинов. Так, у больных ХОБЛ в миоцитах диафрагмы и межреберных мышц происходит выраженное усиление экспрессии ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α и γ -интерферона [28]. При этом наблюдалось повреждение сарколеммы, а дисфункция ДМ тесно коррелировала с интенсивностью экспрессии ФНО- α [30]. Установлено, что даже у здоровых испытуемых через 45 минут дыхания с добавочной инспираторной нагрузкой происходит достоверное увеличение концентрации в плазме крови ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α . Таким образом, резистивное дыхание рассматривается как «иммунный вызов» организму, который заключается в повышении локального и системного уровня цитокинов и их участия в механизмах повреждения ДМ [5].

Предполагается, что основной причиной гиперпродукции цитокинов в ДМ является оксидативный и нитрозативный стресс, что подтверждается увеличением внутримышечной концентрации свободных кислородных радикалов. Кроме того, прием антиоксидантов существенно снижал провоспалительный цитокиновый ответ на резистивную респираторную нагрузку [24]. Еще одним фактором, увеличивающим синтез провоспалительных цитокинов в ДМ, признают уменьшение содержания в них гликогена. Доказано, что при истощении его запасов в поперечнополосатых мышцах уровень ИЛ-6 повышается [30]. Высказано предположение, что усиление его экспрессии в диафрагме при ХОБЛ носит адаптивный характер, так как данный цитокин может обладать глюкорегуляторной ролью, сигнализируя о снижении запасов гликогена

в мышцах с последующим рекрутированием глюкозы из печени. ИЛ-6 увеличивает также активность процессов липолиза и окисления жиров, что обеспечивает мышцы необходимой энергией [16]. Сходный эффект данного цитокина наблюдается и при артериальной гипоксемии, не связанной с ХОБЛ. В ряде работ показано угнетающее действие ФНО- α на диафрагмальную сократимость [31]. Этот провоспалительный цитокин обладает выраженными катаболическими эффектами и реализует свое негативное воздействие на ДМ через активацию ядерного фактора каппа-В (NF- κ B) [32].

При ХОБЛ провоспалительные цитокины повреждают мышечные волокна и формируют в ДМ очаги локального воспаления, а это, несомненно, ухудшает их сократительную активность [5]. Воздействуя на афферентные волокна, они активируют центральный компонент утомления ДМ через повышение уровня β -эндорфинов в головном мозге, что ослабляет центральную инспираторную активность и приводит к снижению дыхательных объемов [24, 33]. ДМ продуцируют и противовоспалительные цитокины (ИЛ-4, ИЛ-10), которые противостоят локальному мышечному воспалению и участвуют в репаративных процессах [34].

У больных ХОБЛ значительно чаще, чем в общей популяции, наблюдаются нутритивные нарушения [35]. Более того, недостаточность питания у данных пациентов практически всегда ассоциирована с развитием мышечной слабости, что является результатом ускорения процессов катаболизма и нарушения баланса между синтезом и распадом белков. Нарушения нутритивного статуса у больных ХОБЛ сопровождается, как правило, развитием белково-энергетической недостаточности, биомаркером которой служит низкое содержание лептина [36]. В экспериментах показано, что низкое содержание лептина ухудшает центральную регуляцию дыхания и его биомеханику. В частности, в диафрагме мышцей с гиполептинемией снижалось содержание волокон II типа и увеличивалось – I типа, что приводило к росту резистентности миофибрилл диафрагмы к растяжению, ее слабости и тахипноэ [37]. Заместительная терапия лептином позволяла частично восстановить нарушенную биомеханику дыхания. Доказано, что орексигенный гормон грелин, содержание которого у больных ХОБЛ обычно повышено, также обладает центральной инспираторной активностью, провоцируя тахипноэ и ухудшение функции ДМ [38].

Регуляция синтеза мышечной массы – динамический процесс, в основе которого лежит тонкое равновесие между механизмами воспроизводства белка и его протеолитической деградации [22]. При ХОБЛ этот хрупкий баланс смещается в сторону преобладания процессов протеолиза. Механизмы, лежащие в основе этих нарушений, у данной категории пациентов все еще до конца не изучены, однако доказана роль некоторых цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α) в усилении протеолитической активности [16]. В

патогенезе мышечной дисфункции при ХОБЛ задействованы две основные протеолитические системы: убиквитин-протеасомная и аутофагально-лизосомальная. Причем ключевая роль отводится именно убиквитин-протеасомному пути распада мышечных белков. С его участием происходит деградация как цитоплазматических, так и ядерных белков, в том числе и в миофибриллах ДМ [39].

Другим механизмом потери мышечной массы при ХОБЛ считается повышение синтеза таких транскрипционных факторов, как миостатин и миогенин. Миостатин выступает в качестве «негативного» регулятора миогенеза, а его повышенный уровень в крови приводит к возрастанию активности E3 лигаз, в том числе атрогина-1. Последний является биомаркером протеосомной деградации белков [39]. Оксид азота (NO) тормозит экспрессию E3 лигаз и процессы деградации мышечных белков, а нейрональная NO-синтаза участвует в экспрессии мРНК MyHC [29]. Показано, что предшественник NO L-аргинин тормозит разрушение цитоскелетных белков и оптимизирует белковый метаболизм скелетных мышц в условиях экстремальных нагрузок [28]. Экспрессия миостатина значительно повышается в диафрагме больных при тяжелом течении ХОБЛ, а уровень миогенина снижается [40].

В патогенезе дисфункции ДМ у больных ХОБЛ важное значение принадлежит электролитным нарушениям: гипокалиемии, гипомагниемии и гипофосфатемии, развитие которых при тяжелой ДН значительно усугубляет мышечную слабость. Мультифокальная воспалительная активность, характерная для ХОБЛ, проявляется в привлечении клеток воспаления в различные органы и ткани. Важную роль в этих процессах отводят продукту липооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты лейкотриену B₄ – одному из биомаркеров ХОБЛ и активному хемоаттрактанту. Однако его роль в привлечении иммунных клеток непосредственно в ДМ и развитии их дисфункции пока не уточнена [40].

Одним из системных проявлений ХОБЛ является дисфункция эндокринной системы. По различным данным от 22% до 69% больных с тяжелым и крайне тяжелым течением ХОБЛ страдают от клинически значимого дефицита андрогенов, одно из проявлений которого – дистрофия скелетной мускулатуры [41]. Тестостерон в физиологических условиях увеличивает синтез структурных белков поперечнополосатых мышц, а также способствует развитию их гипертрофии. В ряде исследований было показано, что уровень этого гормона при ХОБЛ снижается, что приводит к уменьшению мышечной массы. Дефицит тестостерона у мужчин коррелирует с тяжестью ХОБЛ и служит предиктором прогрессирования данного заболевания. Установлено, что сывороточная концентрация свободного тестостерона положительно коррелирует с показателями ФЖЕЛ и ОФВ₁ и отрицательно – со стажем курения [41]. Определенную роль в потере мышечной массы у больных ХОБЛ играет также снижение

инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1). Доказано, что повышение плазменного уровня грелина при ХОБЛ может уменьшать выработку IGF-1, что способствует развитию у данных больных инсулинорезистентности [38]. Появлению слабости ДМ при ХОБЛ может способствовать изменение их тиреоидного статуса, обусловленного субклиническим гипотиреозом или эутиреоидным патологическим синдромом. Последний встречается у 20% больных ХОБЛ и проявляется снижением плазменных концентраций трийодтиронина и в меньшей степени тироксина [42]. Гипотиреоз понижает силу и выносливость инспираторных и экспираторных ДМ, а также увеличивает риск ночного обструктивного апноэ [43].

Клиническое значение дисфункции ДМ и методы ее коррекции

Основными клиническими симптомами утомления и слабости ДМ являются аномалии дыхательных движений, выраженные в формах парадоксального инспираторного втяжения передней брюшной стенки и респираторного чередования [9]. Торако-абдоминальный асинхронизм при дисфункции ДМ замещает физиологическую инспираторную экскурсию грудной клетки и живота снаружу на их разнонаправленные движения. Десинхронизация торако-абдоминального дыхания – один из ключевых симптомов нарастающей ДН. Респираторное чередование (альтернирующее дыхание) проявляется циклическим чередованием грудного и брюшного типов дыхания у одного и того же больного в различных сериях дыхательных движений. При этом в одной серии из нескольких дыхательных движений может преобладать абдоминальный тип, а в другой – грудной [8]. Симптом Гувера проявляется парадоксальным втяжением нижних латеральных ребер во время вдоха, что обусловлено уплощением диафрагмы. При ХОБЛ средней степени тяжести он выявляется у 36% больных, при тяжелой – у 43%, а при крайне тяжелой – у 76%. Клиническая картина дисфункции ДМ при тяжелых формах ХОБЛ может дополняться симптомом Мажанди, который иллюстрирует участие в акте дыхания грудино-ключично-сосцевидной мышцы [4].

В развитии дисфункции ДМ при ХОБЛ можно выделить два основных «порочных круга». Один из них связан с низким нутритивным статусом больных, нарастающим дефицитом мышечной массы, низкой физической активностью и резким снижением толерантности к физическим нагрузкам. Эти изменения способствуют детренированности ДМ и их быстрому утомлению, что, в свою очередь, ограничивает физическую активность и ухудшает метаболический статус больных. Главным элементом этого «патологического контура» является белково-энергетическая недостаточность и дисбаланс между потребностью ДМ в энергии и их энергообеспечением. Второй «порочный круг» сопряжен с необходимостью преодоления ДМ избыточных нагрузок при дыхании, связанных с ремоделированием легких, что приводит к их утомлению и слабости. Результатом этих изменений становится

нарастающее тахипноэ и артериальная гипоксемия, которые, в свою очередь, усугубляют дисфункцию ДМ и способствуют дальнейшему нарушению газообмена, прогрессированию гипоксемии и гиперкапнии [16].

Работоспособность ДМ в определенной мере зависит от качества их кровоснабжения. При интенсивной физической нагрузке они могут потреблять около 10 литров крови в минуту [4]. Однако при гиподинамии миокарда левого желудочка, развивающейся у 64% больных ХОБЛ средней и тяжелой степени, кровоснабжение ДМ существенно ухудшается, что, несомненно, оказывает влияние на их функцию [44].

Важная клиническая задача – своевременная оценка функционального состояния ДМ при коморбидном течении ХОБЛ. Особое значение при этом имеют некоторые варианты сердечно-сосудистой коморбидности. Прежде всего это относится к сочетанию ХОБЛ с различными формами острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) и с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [45]. В первом случае мышечная дисфункция резко нарастает в результате морфо-функциональных ограничений, вызванных ОНМК, что существенно ухудшает прогноз обоих заболеваний [46]. В этом варианте коморбидности усугубление дисфункции ДМ обусловлено поражением центрального, транзитного и эффекторного контуров их регуляции. Сочетание ХОБЛ и ХСН приводит к ухудшению функции прежде всего инспираторных мышц, что обусловлено усилением резистивных нагрузок на вдохе [12]. Проблема дисфункции ДМ у больных ХОБЛ значительно обостряется в старческом возрасте, что связано с инволютивными процессами в органах дыхания («сенильное легкое»), опорно-двигательном аппарате, грудной клетке, мышечной ткани и других морфо-функциональных системах [11]. В этих случаях значительно возрастает динамическая гиперинфляция легких и индекс «напряжение-время», что способствует декомпенсации ДМ.

Методы функциональной диагностики дисфункции ДМ и их значение для клинической практики представлены в ряде обзоров [4, 10]. Большинство из них (измерение трансдиафрагмального давления, электромиография, электрическая или магнитная стимуляция диафрагмальных нервов или шейного сплетения) редко используются в клинической практике. В настоящее время наибольшее распространение для оценки функции ДМ получили методы определения максимального экспираторного (MEP) и инспираторного (MIP) давления в ротовой полости, а также назального инспираторного давления (SNIP-тест) [10]. В ряде работ показана информативность этих методов в диагностике респираторной мышечной дисфункции при различных заболеваниях, в том числе при ХОБЛ [47]. Установлено, что динамика изменений данных показателей тесно коррелирует с тяжестью заболевания. У больных ХОБЛ с торако-абдоминальным асинхронизмом эти изменения выражены в максимальной степени [3]. Уровни MIP и MEP > 80 см. водн. ст. и SNIP >

70 см. водн. ст. позволяют исключить дисфункцию ДМ. Ультразвуковой метод достаточно информативен в оценке функциональной активности диафрагмы. К ультразвуковым критериям нарушения диафрагмальной функции при ХОБЛ относят гипертрофию ее мышечной части, ограничение подвижности купола, снижение амплитуды движений и скорости расслабления при спокойном и форсированном дыхании [48].

Методы физической легочной реабилитации могут улучшить функциональный статус больных за счет длительных тренирующих упражнений для периферических мышц и специальных упражнений для ДМ [10]. Для тренировки инспираторных и экспираторных ДМ применяют специальные тренажеры, использование которых позволяет изменить привычный для больных ХОБЛ паттерн дыхания, что приводит к улучшению вентиляционно-перфузионных отношений, повышению оксигенации крови и уменьшению одышки [49].

Стратегия фармакологической коррекции дисфункции ДМ при ХОБЛ до настоящего времени не разработана из-за отсутствия средств селективной поддержки мышечного сокращения. В повседневной клинической практике для улучшения функции ДМ у больных ХОБЛ используют препараты, освобождающие их от избыточной нагрузки (β -агонисты, антихолинергические препараты, теофиллин) и подавляющие местное воспаление (ингаляционные глюкокортикостероиды и ингибиторы фосфодиэстеразы-4). Кроме того, ингибиторы фосфодиэстеразы-4 способны снижать активность системного воспаления, что может улучшать функцию ДМ. Среди вновь разрабатываемых и апробируемых препаратов с потенциальной активностью в отношении ДМ могут обладать ингибиторы матриксной металлопротеиназы-9 и NF- κ B, антагонисты хемокинов и цитокинов, блокаторы кальпаинов, L-аргинин и др. [29]. У больных ХОБЛ препараты, содержащие янтарную кислоту, увеличивали силу периферических и дыхательных мышц, что связывают с коррекцией митохондриальной дисфункции [50]. Миопротективными эффектами, противостоящими слабости ДМ, обладают фосфокреатин (неотон) и мельдоний (милдронат), однако в литературе отсутствуют данные об их использовании при ХОБЛ. Коррекция нутритивного статуса является необходимым условием для энергетического обеспечения ДМ [21]. При тяжелых формах дисфункции необходима их разгрузка, что обеспечивается различными методами респираторной поддержки [49, 50].

Заключение

Проблема дисфункции ДМ, несмотря на длительную историю ее изучения, пока далека от разрешения. Поиск и реализация этих решений возможны только на основе кооперации фундаментальной науки и клинической практики. Попытка обобщить результаты этого взаимодействия была представлена в данном обзоре.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта 18-29-03131.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – БИГ, ВНК.

Сбор и обработка материала – АГК, ВНК.

Написание текста – АГК, БИГ, ВНК.

Редактирование – АГК.

Литература / References

- O'Donnell D.E., Laveneziana P., Webb K., Neder J.A. Chronic obstructive pulmonary disease: clinical integrative physiology. *Clin. chest med.* 2014; 35(1): 51–69.
- Диверт В.Э., Кривошеков С.Г. Кардиореспираторные реакции при нарастающей нормобарической ингаляционной гипоксии у здорового человека. *Физиол. человека.* 2013; 39(4): 82–92. [Divert V.E., Krivoshchekov S.G. Cardiorespiratory reactions with increasing normobaric inhalation hypoxia in a healthy person. *Physiol. a person.* 2013; 39(4): 82–92. (In Russ.)]
- Мотавкин П.А., Гельцер Б.И. *Клиническая и экспериментальная патофизиология легких.* – М.: Наука, 1998 – 365 с. [Motavkin P.A., Geltser B.I. *Clinical and experimental pathophysiology of the lungs.* – Moscow: Nauka, 1998 – 365 p. (In Russ.)]
- Lumb A.B. Nunn's applied respiratory physiology ebook. Elsevier Health Sci. 2016; 543.
- Александрова Н.П. Цитокины и резистивное дыхание. *Физиол. человека.* 2012; 38(2): 119–129. [Alexandrova N.P. Cytokines and resistive respiration. *Physiol. a person.* 2012; 38(2): 119–129 (In Russ.)]
- Курпатов И.Г., Гельцер Б.И., Котельников В.Н., Кинякин М.Ф. Функциональный статус дыхательных мышц у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Туберкулез и болезни легких.* 2021; 99 (6):15–21. [Kurpatov I.G., Geltser B.I., Kotelnikov V.N., Kinyakin M.F. Functional status of respiratory muscles in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Tuberculosis and lung diseases.* 2021; 99 (6):15–21. (In Russ.)]
- Чучалин А.Г., Айсанов З.Р. Нарушение функции дыхательных мышц при хронических обструктивных заболеваниях легких. *Терапевт. арх.* 1988; 60 (7): 126–131. [Chuchalin A.G., Aisanov Z.R. Respiratory muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary diseases. *Therapist. arch.* 1988; 60 (7): 126–131. (In Russ.)]
- Fernandes M., Cukier A., Ambrosino N., Leite J., Zanetti M. Respiratory pattern, thoracoabdominal motion and ventilation in chronic airway obstruction. *Monaldi Arch. Chest Disease.* 2016; 67(4): 7–21.
- Sieck G.C., Ferreira L.F., Reid M.B., Mantilla C.B. Mechanical properties of respiratory muscles. *Comprehensive Physiol.* 2013; 3: 1553–1567.
- Авдеев С.Н. Оценка силы дыхательных мышц в клинической практике. *Практическая пульмонология.* 2008; 4: 2–17. [Avdeev S.N. Assessment of the strength of the respiratory muscles in clinical practice. *Practical pulmonology.* 2008; 4: 2–17. (In Russ.)]
- Гельцер Б.И., Курпатов И.Г., Дей А.А., Кожанов А.Г. Дисфункция респираторных мышц и болезни органов дыхания. *Терапевтический архив.* 2019; 91 (3): 93–100. [Geltser B.I., Kurpatov I.G., Day A.A., Kozhanov A.G. Respiratory muscle dysfunction and respiratory diseases *Therapeutic Archive.* 2019; 91 (3): 93–100 (In Russ.)]
- Швайко С.Н. Клиническое значение диагностики дисфункции респираторной мускулатуры у больных хронической

- обструктивной болезнью легких и хронической сердечной недостаточностью. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2006; 4: 69–74. [Shvaiko S.N. The clinical significance of the diagnosis of respiratory muscle dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic heart failure. *Russian medical and biological bulletin them. I.P. Pavlova*. 2006; 4: 69–74. (in Russ.)]
13. Talbot J., Maves L. Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease. *Wiley Interdisciplinary Rev.: Dev. Biol.* 2016; 5(4): 518–534.
 14. Frontera W.R., Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcified tissue int.* 2015; 96(3): 183–195.
 15. Cicilioti S., Rossi A.C., Dyar K.A., Blaauw B., Schiaffino S.. Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2013; 45(10): 2191–2199.
 16. Gea J., Agustí A., Roca J. Pathophysiology of muscle dysfunction in COPD. *J. Appl. Physiol.* 2013; 114(9): 1222–1234.
 17. Hooijman P.E., Brusselle G.G., Wit Ch. et al. Diaphragm muscle fiber weakness and ubiquitin–proteasome activation in critically ill patients. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 191(10): 1126–1138. Beishuizen A., Witt Ch.C., Waard M.C., Girbes A.R.J., Spoelstra-de Man A.M.E., Niessen H.W.M., Manders E., Hees H.W.H., Brom Ch.E., Silderhuis V., Lawlor M.W., Labeit S., Stienen G.J.M., Hartemink K.J., Paul M.A., Heunks L.M.A., Ottenheijm C.A.C.
 18. Mantilla C.B., Sieck G.C. Impact of diaphragm muscle fiber atrophy on neuromotor control. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2013; 189(2): 411–418.
 19. Cancelliero-Gaiad K.M., Lke D., Pantoni C.B., Borghi-Silva A., Costa D. Respiratory pattern of diaphragmatic breathing and pilates breathing in COPD subjects. *Brazilian J. Phys. Ther.* 2014; 18(4): 291–299.
 20. Филиппова Л.В., Ноздрачев А.Д. Сенсорные структуры легких и воздухоносных путей. *Успехи физиол. наук*. 2013; 44(3): 93–112. [Filippova L.V., Nozdrachev A.D. An overview of the Pulmonary Sensory Receptors. *Adv. Physic. Sci.* 2013; 44(3): 93–112. (in Russ.)]
 21. Оценка нутритивного статуса и его коррекция при хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*. 2016; 26(1): 13–28. [Evaluation of nutritional status and nutritional therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Russ. Pulmonology*. 2016; 26(1): 13–28. (In Russ.)]
 22. Barreiro E., Gea J. Molecular and biological pathways of skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Chronic Respir. Disease*. 2016; 13(3): 297–311.
 23. Гельцер Б.И., Шахгельдян К.И., Курпатов И.Г., Котельников В.Н. Сравнительная оценка силы дыхательных мышц у больных бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких и с их сочетанием. *Туберкулез и болезни легких*. 2019; 97 (2): 12–19. [Geltser B.I., Shakhgelydyan K.I., Kurpatov I.G., Kotelnikov V.N. Comparative assessment of the strength of the respiratory muscles in patients with bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease and their combination. *Tuberculosis and lung diseases*. 2019; 97 (2): 12–29. (In Russ.)]
 24. Feroselle C., Rabinovich R., Ausin P, Puig-Vilanova E., Coronell C., Sanchez F., Roca J., Gea J., Barreiro E.. Does oxidative stress modulate limb muscle atrophy in severe COPD patients? *Eur. Respir. J.* 2012; 40(4): 851–862.
 25. Clanton T.L., Levine S. Respiratory muscle fiber remodeling in chronic hyperinflation: dysfunction or adaptation? *J. Appl. Physiol.* 2009; 107(1): 324–335.
 26. Mathur S., Brooks D., Carvalho C.R.. Structural alterations of skeletal muscle in copd. *Frontiers Physiol.* 2014; 5(104): 1–8.
 27. Верткин А.Л. *Коморбидный пациент. Руководство для практических врачей*. – М.:ЭКСМО. 2015; – 150. [Vertkin A.L. *A comorbid patient. Manual for Practitioners*. Moscow. EKSMO. 2017; 150. (in Russ.)]
 28. Калинина Е.П., Гельцер Б.И., Курпатов И.В., Горборукова Т.В., Гвозденко Т.А. Оценка роли цитокин-опосредованных механизмов в развитии дисфункции дыхательных мышц у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Медицинская иммунология*. 2019; 21 (3): 487–494. [Kalinina E.P., Geltser B.I., Kurbatov I.V., Gorborkova T.V., Gvozdenko T.A. Assessment of the role of cytokine-mediated mechanisms in the development of respiratory muscle dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Medical immunology*. 2019; 21 (3): 487–494. (in Russ.)]
 29. Remels A., Gosker H.D., Schols A.M. The mechanisms of cachexia underlying muscle dysfunction in COPD. *J. Appl. Physiol.* 2013; 114(9): 1253–1262.
 30. Haizlip K.M., Harrison B.C., Leinwand L.A. Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition. *Physiol.* 2015; 30(1): 30–39.
 31. Doyle A., Zhang G., Abdel Fattah E.A., Eissa N.T., Li Y.-P. Toll-like receptor 4 mediates lipopolysaccharide-induced muscle catabolism via coordinate activation of ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome pathways. *FASEB J.* 2011; 25(1): 99–110.
 32. Langen R.C., Haegens A., Vernooy J.H., Wouters E.F.M., Wintner M.P.J., Carlsen H., Steele Ch., Shoelson S.E., Schols A.M.W.J. NF- κ B activation is required for the transition of pulmonary inflammation to muscle atrophy. *Amer. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2012; 47(3): 288–297.
 33. Ghelardini C, Mannelli L.D., Bianchi E. The pharmacological basis of opioids. *Clin. Cases Mineral and Bone Metab.* 2015; 12(3): 219–221.
 34. Hussain S.N., Sandri M. Role of autophagy in COPD skeletal muscle dysfunction. *J. Appl. Physiol.* 2013; 114(9): 1273–1281.
 35. Jiang X.L., He Z.J., Xi H.H., Zhi Z. The relationship between nutritional status and oxidative stress markers, pulmonary function in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Chin. J. Tuberculosis Respir. Diseases*. 2017; 40(1): 40–45.
 36. Vernooy J.H., Ubags N.D., Brusselle G.G., Tavernier J., Surratt B.T., Joos G.F., Wouters E.F.M., Bracke K.R.. Leptin as regulator of pulmonary immune responses: involvement in respiratory diseases. *Pulm Pharmacol Ther.* 2013; 26(4): 464–472.
 37. Liang R., Zhang W., Song Y.M. Levels of leptin and IL-6 in lungs and blood are associated with the severity of chronic obstructive pulmonary disease in patients and rat models. *Mol Med Rep.* 2013; 7(5): 1470–1476.
 38. Miki K., Maekura R., Nagaya M., Miki M., Kitada S., Yoshimura K., Mori M., Kangawa K.. Effects of ghrelin treatment on exertional dyspnea in COPD: an exploratory analysis. *J. Physiol Sci.* 2015; 65(3): 277–284.
 39. Chikani V., Ho K.K.Y. Action of GH on skeletal muscle function: molecular and metabolic mechanisms. *J. Mol. Endocrinol.* 2014; 52(1): 107–123.
 40. Lütkecosmann S., Warsinke A., Tschöpe W., Eichler R., Hanack K. 3 et al. A novel monoclonal antibody suitable for the detection of leukotriene B4. *BBRC.* 2017; 482(4): 1054–1059.
 41. Cojocaru C., Turkanu A., Mihaescu T., Cojocaru E. A biological perspective for the management of chronic obstructive pulmonary disease by testosterone. *Arch. Biol. Sci.* 2015; 67(1): 257–259.
 42. Terzano C., Romani S., Paone G., Conti V., Oriolo F. COPD and thyroid dysfunctions. *Lung.* 2014; 192(1): 103–109.
 43. Takeuchi S., Kitamura T., Ohbuchi T., Koizumi H., Takahashi R., Hohchi N., Suzuki H. Relationship between sleep apnea and thyroid function. *Sleep and Breathing*. 2015; 19(1): 85–89.
 44. Суханова Г.И., Киняйкин М.Ф., Рассохина Н.Ю., Крамар А.В. Роль гипоксемии в развитии дисфункции мускулатуры верхних конечностей при хронической обструктивной болезни легких. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2012; 1(47): 90–92 [Sukhanova G.I., Kinyaikin M.F., Rassokhina N.Yu.,

- Kramar A.V. Role of hypoxemia in formation of upper limb muscle dysfunction in case of chronic obstructive lung disease. *Pacific Med. J.* 2012; 1(47): 90–92. (in Russ.)]
45. Курпатов И.Г., Гельцер Б.И., Киняйкин М.Ф. Результаты оценки силы дыхательных мышц у больных с различными вариантами коморбидности хронической обструктивной болезни легких. *Терапевтический архив.* 2020; 92(3): 7–12. [Kurpatov I.G., Geltser B.I., Kinyakin M.F. Results of assessment of respiratory muscle strength in patients with various comorbidity variants of chronic obstructive pulmonary disease. *Therapeutic Archive.* 2020; 92(3): 7–12 (in Russ.)]
46. Гельцер Б.И., Курпатов И.Г., Дей А.А., Кожанов А.Г. Оценка силы дыхательных мышц на различных стадиях ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019; 119 (2–3): 83–88. [Geltser B.I., Kurpatov I.G., Day A.A., Kozhanov A.G. Assessment of the strength of the respiratory muscles at various stages of ischemic stroke. *Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov.* 2019; 119 (2–3): 83–88 (in Russ.)]
47. Dimitriadis Z., Kapreli E., Konstantinidou I., Oldham J., Strimpakos N. Test/retest reliability of maximum mouth pressure measurements with the MicroRPM in healthy volunteers. *Resp. Care.* 2011; 56(6): 776–782.
48. Александров А.Л., Гичкин А.Ю., Перлей В.Е., Суркова Е.Г. Дискриминантные функции для оценки функционального состояния диафрагмы у больных хронической обструктивной болезнью легких с помощью ультразвукового исследования. *Наука и образование в современной конкурентной среде.* 2015; 1 (2): 13–16. [Aleksandrov A.L., Gichkin A.Yu., Perlej V.E., Surkova E.G. Discriminant functions to assess the functional state of the diaphragm in patients with chronic obstructive pulmonary disease using ultrasound. *Science and education in a modern competitive environment.* 2015; 1 (2): 13–16. (in Russ.)]
49. Barreiro E., Bustamante V., Cejudo P., Gáldiz J.B., Gea J., Lucas P., Martínez-Llorens J., Ortega F., Puente-Maestu L., Roca J., Moro J.M. R.-G. Guidelines for the evaluation and treatment of muscle dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Arch. Bronconeumol.* 2015; 51(8): 384–395.
50. Фисенко А.Ю., Черников А.В., Кузьменко Д.И., Санжаровская М.С., Черногорюк Г.Э. Коррекция дисфункции скелетных мышц стимулятором быстрого метаболического кластера митохондрий при лечении обострений тяжелой хронической обструктивной болезни легких. *Современные проблемы науки и образования.* 2012; 4: 46. [Fisenko A.Yu., Chernikov A.V., Kuz'menko D.I., Sanzharovskaya M.S., Chernogoryuk G.E'. Correction of skeletal muscle dysfunction with a fast metabolic mitochondrial cluster stimulator in the treatment of exacerbations of severe chronic obstructive pulmonary disease. *Modern problems of science and education.* 2012; 4: 46 (in Russ.)]

УДК 592:591.16:574.632

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-26-35

Репродуктивные адаптации морских ежей с планктотрофной личинкой

П.М. Жадан¹, М.А. Ващенко²¹ Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, г. Владивосток, Россия;² Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

В кратком обзоре обобщены оригинальные данные авторов о роли факторов среды в запуске и синхронизации нереста в естественных популяциях двух видов морских ежей с планктотрофной личинкой. Показано, что для обоих видов характерны сходные репродуктивные адаптации, направленные на повышение репродуктивного успеха. Высокая чувствительность морских ежей, в первую очередь самцов, к сигналу(ам) окружающей среды, скорее всего к фитопланктону, может рассматриваться как широкомасштабная адаптация, характерная для многих морских беспозвоночных с внешним оплодотворением и планктотрофной личинкой, и, видимо, является одной из предпосылок для развития массового нереста. Ночное время, а также фазы новолуния и полнолуния являются модулирующими факторами, увеличивающими вероятность массового нереста. Более длительную продолжительность нереста у самцов по сравнению с самками, большую продолжительность выделения спермы во время массового нереста по сравнению с таковым во время одиночного нереста, большую продолжительность нереста у самцов, обитающих в среде с более высоким уровнем фитопланктона, и сближение самцов и самок во время массового нереста можно рассматривать как мелкомасштабные адаптации, повышающие вероятность оплодотворения.

Ключевые слова: иглокожие, репродуктивный цикл, нерест, факторы среды, фитопланктон, температура

Поступила в редакцию 17.02.2022. Получена после доработки 24.02.2022. Принята к печати 28.02.2022.

Для цитирования: Жадан П.М., Ващенко М.А. Репродуктивные адаптации морских ежей с планктотрофной личинкой. Тихоокеанский медицинский журнал. 2022;1: 26–35. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-26-35

Для корреспонденции: Ващенко Марина Александровна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17); ORCID: 0000-0002-9098-2102; e-mail: mvaschenko@mail.ru

Reproductive adaptations of sea urchins with planktotrophic larvae

P.M. Zhadan¹, M.A. Vaschenko²¹ V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia; ² A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok, Russia

Summary: The brief review summarizes the authors' original data on the role of environmental factors in triggering and synchronization of spawning in natural populations of two species of sea urchins with planktotrophic larvae. It is shown that both species exhibit similar reproductive adaptations aimed at enhancing reproductive success. The high sensitivity of sea urchins, primarily males, to environmental signal(s), most likely to phytoplankton, can be considered as a large-scale adaptation characteristic of many marine invertebrates with external fertilization and planktotrophic larvae and promoting the development of mass spawning events. Night time, as well as the new moon and full moon phases, are modulating factors that increase the likelihood of mass spawning. Longer duration of spawning in males compared to females, longer duration of sperm release during mass spawning compared to that during solitary spawning, longer duration of spawning in males living in an environment with higher level of phytoplankton, and approach of males and females during mass spawning can be considered as small-scale adaptations that increase the likelihood of fertilization.

Keywords: echinoderms, reproductive cycle, spawning, environmental variables, phytoplankton, temperature

Received 17 February 2022; Revised 24 February 2022; Accepted 28 February 2022

For citation: Zhadan P.M., Vaschenko M.A. Reproductive adaptations of sea urchins with planktotrophic larvae. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:26–35. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-26-35

Corresponding author: Marina A. Vaschenko, PhD of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Physiology of the A.V. Zhirmunsky National Scientific Center for Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (17 Palchevsky St., Vladivostok, 690041, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-9098-2102; e-mail: mvaschenko@mail.ru

В ходе эволюции у морских беспозвоночных с наружным оплодотворением и питающимися (планктотрофными) личинками выработался ряд репродуктивных адаптаций, обеспечивающих успешность размножения. Для многих таких видов характерен годовой репродуктивный цикл с нерестом, приуроченным к сезону с оптимальными условиями для развития потомства – температурой и соленостью воды, наличием пищи для потомства [1]. Синхронизация нереста у особей разных полов в пределах

одного поселения чрезвычайно важна для успешности воспроизводства вида, что обусловлено малой продолжительностью жизни половых клеток во внешней среде и быстрым разбавлением гамет [2]. Следовательно, для успешного оплодотворения необходим внешний стимул, который бы обеспечивал одновременный выброс гамет в воду у достаточного количества особей обоих полов [3].

Морские биологи давно заметили, что появление планктотрофных личинок беспозвоночных совпадает

с цветением фитопланктона [4]. Биологический смысл этого явления очевиден – фитопланктон служит пищей для личинок. В лабораторных экспериментах было показано, что добавление микроводорослей или их экстрактов к морской воде стимулирует нерест морских ежей и двусторчатых моллюсков [5–7]. Большинство видов морских ежей – типичные представители морских беспозвоночных с внешним оплодотворением и планктотрофной личинкой, поэтому на протяжении десятков лет они служат объектами исследований, цель которых – выявление факторов, запускающих и синхронизирующих нерест в поселениях таких животных. Существует обширная литература, в которой обсуждается ряд факторов – предполагаемых синхронизаторов нереста в поселениях морских ежей. Наряду с повышением концентрации фитопланктона в воде [8–11] на роль таких факторов претендуют повышение или понижение температуры воды [12–15], фотопериод [16], фазы лунного цикла [9, 17–19], а также наличие половых клеток в окружающей среде [20]. В большинстве работ выводы были сделаны на основании исследований репродуктивного цикла морских ежей. Однако из-за низкой частоты отбора животных (обычно один раз в месяц) и недостаточного контроля параметров среды в местах их обитания однозначного ответа получено не было.

В Национальном научном центре морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (НИЦМБ ДВО РАН) исследования репродуктивных циклов массовых видов морских ежей, обитающих в зал. Петра Великого (Японское море), проходили в начале 1970-х гг. по инициативе д.м.н. профессора П.А. Мотавкина, который в то время возглавлял созданную им лабораторию гаметогенеза. Были получены первые данные о сезонных изменениях состояния гонад и сроках нереста у морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* и *Mesocentrotus nudus* (= *Strongylocentrotus nudus*) и об эндогенных регуляторных механизмах репродуктивного цикла с участием нейрогормонов [21]. В период с 1984 по 2003 гг. мы исследовали динамику состояния репродуктивной функции морских ежей *S. intermedius*, обитающих в загрязненных и относительно чистых районах зал. Петра Великого в сезон их размножения, и обнаружили сдвиг сроков нереста с осени на раннее лето в поселениях морского ежа из сильно загрязненных районов [22]. В дальнейшем были приняты многолетние (2003–2015 гг.) исследования репродуктивных циклов морских ежей *S. intermedius* в 23 природных поселениях, расположенных в северо-западной части Японского моря на протяжении 400 км побережья Приморского края, на различном расстоянии от г. Владивостока, крупнейшего морского порта на Дальнем Востоке с населением более 600 тыс. человек. Выявлены три типа поселений морского ежа, различающихся сроками нереста: первый – с ярко выраженным осенним нерестом, в сентябре – начале октября, второй – с ярко выраженным раннелетним нерестом, в конце мая – июне, и третий – с двумя

пиками нереста, раннелетним и осенним [22, 23]. Было показано, что поселения *S. intermedius* второго типа расположены в прибрежной зоне, прилегающей к г. Владивостоку. Поскольку антропогенное загрязнение сопряжено с эвтрофикацией прибрежных морских вод [24], мы выдвинули гипотезу о том, что различные сроки нереста в разных поселениях морских ежей *S. intermedius* могут быть обусловлены их адаптацией к условиям обитания в среде с высоким уровнем первичной продукции, то есть с высокой концентрацией фитопланктона – пищи для личинок морских ежей [23].

В настоящей работе кратко изложены результаты наших исследований, направленных на проверку гипотезы о том, что фитопланктон и/или другие факторы среды индуцируют либо не способны индуцировать нерест в природных поселениях морских ежей с планктотрофной личинкой.

Явление отсутствия нереста в поселениях *S. intermedius*

Чтобы выяснить, связаны ли сроки нереста в поселениях *S. intermedius* с уровнем антропогенной нагрузки, мы детально исследовали репродуктивный цикл этого вида в б. Киевка. Эта бухта расположена в малонаселенном районе, прилегающем к Лазовскому государственному заповеднику, одному из крупнейших лесных заповедников на российском Дальнем Востоке, что предполагает отсутствие значимого антропогенного влияния на морскую прибрежную экосистему. В ходе исследований мы столкнулись с неожиданным и ранее не описанным явлением – в 2008 г. более 90% морских ежей не закончили свой репродуктивный цикл нерестом [25]. Мы исследовали состояние гонад *S. intermedius* из б. Киевка методами определения гонадного индекса и гистологического анализа на протяжении трех репродуктивных циклов (с апреля 2008 г. по апрель 2011 г.) и обнаружили, что, несмотря на ежегодное созревание гонад в июле–августе, в некоторые годы нерест отсутствовал у почти всей (95% не отнерестившихся самок в 2008 г.) или большей части (53% неотнерестившихся самок в 2009 г.) популяции морского ежа [25]. В сентябре начиналась массовая деструкция невыметанных яйцеклеток, которые распадались на мелкие фрагменты (рис. 1). Самцы также не нерестились полностью. Резорбция невыметанных гамет (очистительные процессы) продолжалась в течение 7 мес., тогда как в случае нормального нереста морских ежей эти процессы занимают 2–3 мес. [26]. Только 1 из 3 исследованных репродуктивных циклов *S. intermedius* закончился полным нерестом (в 2010 г.) [25].

Мы провели оценку полноты нереста в поселениях *S. intermedius* в северо-западной части Японского моря, от б. Рудная на севере до зал. Восток на юге, с целью анализа пространственного (географического) распределения этого явления (рис. 1). Для того чтобы выявить региональные различия в температуре поверхностного слоя воды и уровне продукции фитопланктона (определенного как концентрация хлорофилла *a*), были проанализированы данные спутникового мониторинга за август–октябрь 2008–2009 гг. [25]. Сравнение

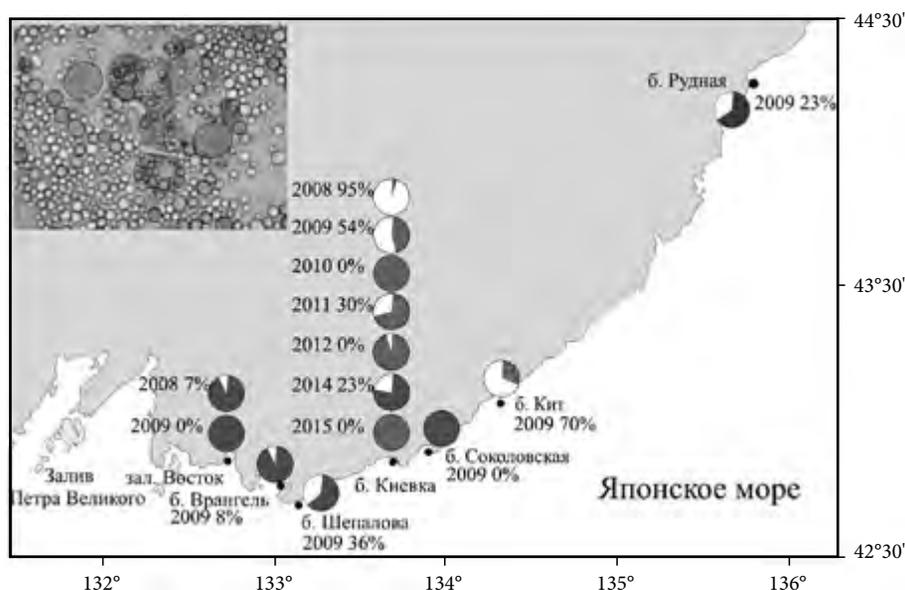


Рис. 1. Встречаемость явления отсутствия нереста в поселениях морского ежа *S. intermedius* в северо-западной части Японского моря.

Доля не отнерестившихся самок обозначена белым цветом. На врезке – деструкция невыметанных яйцеклеток (мазок гонады).

сезонной динамики температуры и концентрация хлорофилла *a* в б. Киевка и зал. Восток представляет наибольший интерес, поскольку разница в доле не отнерестившихся самок *S. intermedius* между этими районами была очень высока (рис. 1). В 2008 г. динамика температуры в б. Киевка и зал. Восток была сходной (коэффициент корреляции Пирсона $r = 0,81$, $p < 0,0001$), тогда как концентрация хлорофилла *a* сильно различалась: максимальная и средняя величины в зал. Восток были в 5,5 и 3,5 раза выше, соответственно, чем таковые в б. Киевка. В 2009 г. динамика температуры в б. Киевка и зал. Восток, а также на 5 других станциях (бухты Рудная, Врангеля, Шепалова, Соколовская и Кит) была сходной. Доля не отнерестившихся самок, тем не менее, была различной в разных бухтах и коррелировала со средней концентрацией хлорофилла *a* в этих районах [25]. Наибольшая концентрация хлорофилла *a* была обнаружена в зал. Восток, где в 2009 г. не было не отнерестившихся самок (рис. 1).

Результаты проведенного исследования показали наличие связи между успешностью нереста в поселениях морского ежа *S. intermedius* и уровнем фитопланктона в районах их обитания. Кроме того, эти результаты указывают на необходимость определенного фактора среды или комбинации факторов для стимуляции нереста в естественных популяциях морских ежей. Достаточно высокая концентрация фитопланктона, который служит пищей для личинок, и подходящая для развития личинок температура воды – основные факторы, обеспечивающие успешность выживания потомства морских ежей, поэтому оба этих фактора могут претендовать на роль стимулов окружающей среды, запускающих нерест в поселениях морского ежа *S. intermedius*. Результаты наших исследований не поддерживают гипотезу о том, что понижение

или повышение температуры может быть основным триггером нереста морских ежей [27]. В то же время, они поддерживают гипотезу о том, что повышение концентрации фитопланктона – наиболее вероятный кандидат на роль главного фактора, инициирующего нерест морских ежей.

Первичная продукция в прибрежных водах в значительной степени зависит от притока биогенных элементов из таких источников, как терригенный сток, апвеллинг и антропогенное загрязнение [28, 29]. Район наших исследований характеризуется значительными вариациями уровня антропогенного воздействия и межгодовыми колебаниями объема речного стока, а также сроков и выраженности апвеллинга [25, 30–32]. Мы предположили, что явление отсутствия нереста в поселениях *S. intermedius* может быть обусловлено таким сочетанием факторов окружающей среды, которое способствует низкому уровню первичной продукции в сезон размножения морских ежей. Результаты наших последующих исследований показали, что отсутствие нереста у части популяции *S. intermedius* в б. Киевка – обычное явление, так что нерестовый сезон может длиться более 2 мес. [32], а неполный нерест наблюдали в течение 4 сезонов в период с 2008 по 2015 гг. (рис. 1).

Влияние факторов среды на нерест морских ежей

С целью проверки гипотезы о том, что фитопланктон индуцирует нерест в поселениях *S. intermedius*, мы исследовали влияние различных факторов среды (фитопланктон, температура, соленость, содержание кислорода, уровень прилива, лунный цикл и время суток) на успешность нереста морских ежей. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1) исследовать с высоким временным разрешением динамику состояния гонад морского ежа, обитающего

в районах с различным уровнем первичной продукции, в течение репродуктивного сезона;

2) исследовать с высоким временным разрешением сезонную и суточную динамику факторов среды в местах обитания животных;

3) осуществить количественный анализ нерестовой активности морских ежей с использованием видеосъемки;

4) провести анализ зависимости между нерестовой активностью в поселениях морского ежа и факторами среды.

Исследования проходили в двух районах северо-западной части Японского моря: б. Киевка (относительно низкий уровень первичной продукции) и б. Алексеева о-ва Попова (высокий уровень первичной продукции, обусловленный влиянием загрязненных вод Амурского залива). Время проведения экспериментов совпадало с нерестовыми сезонами *S. intermedius* в этих районах. В б. Киевка это август–сентябрь, а в б. Алексеева – май–сентябрь [23, 33].

Исследования были проведены в 2 этапа. На первом этапе анализировали состояние гонад морских ежей с 4 станций в б. Киевка в течение 2 сезонов размножения (2011 и 2012 гг.) при частоте отбора животных в среднем каждые 4 сут. Параметры среды измеряли ежедневно с помощью океанографического зонда в местах обитания животных. Анализировали зависимость между событиями нереста, определенными как временной интервал («нерестовое окно») между двумя выборками морских ежей, в течение которого было зарегистрировано достоверное изменение одного или нескольких показателей состояния репродуктивной функции (гонадный индекс, доля готовых к нересту морских ежей, доля отнерестившихся самок), и факторами среды (концентрации хлорофилла *a* – показателя содержания фитопланктона в воде – и кислорода, температура, соленость, уровень моря, фазы лунного цикла). Детали методов и статистического анализа описаны в статье [32].

Суммарно, по 3 показателям (достоверное снижение ГИ и/или доли готовых к нересту морских ежей и увеличение доли отнерестившихся самок), за 2 сезона было выявлено 16 событий нереста – «нерестовых окон» продолжительностью от 4 до 12 суток [23, 32]. Сравнительный анализ взаимосвязи между динамикой факторов среды и нерестом морских ежей показал, что 14 из 16 событий нереста имели место в начале сезонного апвеллинга и после его окончания в условиях стабильной температуры (внутрисуточные колебания температуры < 1°C) или небольших межсуточных и внутрисуточных вариаций температуры (до 4°C). Два события нереста произошли в периоды, когда имели место сильные температурные флуктуации, с межсуточными колебаниями температуры до 6–14°C. Однако в обоих случаях эти «нерестовые окна» включали несколько дней с относительно стабильной температурой. В то же время очень сильные температурные флуктуации, зарегистрированные на

2 станциях во время апвеллинга/даунвеллинга (между и внутрисуточные вариации температуры более 14°C) не вызвали массового нереста в поселениях морских ежей, несмотря на высокую степень готовности животных к нересту (почти 100%) [32].

Сравнение сроков нереста морских ежей и динамики концентрации хлорофилла *a* в придонном слое воды показало, что все 16 событий нереста совпадали с увеличением содержания хлорофилла *a* [32]. Логистический регрессионный анализ выявил достоверную зависимость между вероятностью нереста морских ежей и всеми моделями, в которых были использованы различные факторы на основе концентрации хлорофилла *a* (значения *p* от < 0,05 до < 0,0001). Логистический регрессионный анализ не выявил достоверной зависимости между вероятностью нереста морских ежей и моделями, в которых были использованы различные факторы на основе солености и температуры. Не обнаружено также достоверных моделей с использованием различных парных комбинаций температуры, солености и концентрации хлорофилла *a*. Статистический анализ взаимосвязи между фазами лунного цикла и событиями нереста морских ежей (круговая статистика для циклической шкалы данных [34]) показал, что 13 из 16 дат регистрации нереста совпадали с фазами новой или полной луны. Различий в уровне прилива во время различных фаз луны не выявлено (ANOVA, *p* > 0,05) [32].

Таким образом, мы получили убедительное свидетельство в пользу гипотезы о том, что повышение концентрации фитопланктона может быть основным фактором, стимулирующим нерест в популяциях морских ежей [23,32]. Однако для того чтобы получить твердый ответ на этот вопрос, мы провели исследование с еще более высоким временным разрешением. На втором этапе была осуществлена круглосуточная сезонная видеорегистрация нерестового поведения морских ежей (с интервалом в 1 мин) в сочетании с регистрацией факторов среды (с интервалом в 10 мин) [33]. Исследования проведены в бухтах Киевка и Алексеева в 2014–2016 гг.

Покадровый анализ видеозаписей с помощью программы «Tracker» для видеоанализа (www.open-sourcephysics.org/items/detail.cfm?ID=7365) показал, что в б. Киевка нерест морских ежей наблюдали редко, перерывы между событиями нереста варьировались от 1 до 14 сут. Здесь в течение августа–сентября двух сезонов размножения нерест был зарегистрирован у 106 самцов и 5 самок. В б. Алексеева в течение мая–июня было зарегистрировано 388 событий нереста у самцов и 16 – у самок. Пик нереста совпал с новолунием (между 20 и 24 мая), во время которого было зарегистрировано 55 и 88% событий нереста у самцов и самок, соответственно. В период с 17 мая по 13 июня произошло 95% событий нереста; впоследствии случаи нереста отмечались лишь у единичных самцов.

Корреляционный анализ не выявил достоверной связи между долей нерестящихся морских ежей

в течение каждого часа наблюдений и температурой, соленостью воды и уровнем ее насыщения кислородом. В то же время обнаружена достоверная положительная корреляция между долей нерестящихся животных и концентрацией хлорофилла *a* при высоком уровне достоверности ($p < 0,001$).

Парный критерий *T* Вилкоксона показал, что величины медианной концентрации хлорофилла *a* за нерестовый сезон в б. Киевка достоверно различались в разные годы, а в б. Алексеева она была достоверно выше, чем в б. Киевка (во всех случаях $p < 0,001$). Эти данные указывают на наличие причинно-следственной связи между нерестом и концентрацией хлорофилла *a*: более высокая концентрация хлорофилла *a* в течение нерестового сезона соответствует более высокой среднесуточной доле нерестящихся особей (рис. 2) [33].

Эпизоды нереста морских ежей в течение суток были распределены неравномерно ($p < 0,005$ и $p < 0,002$ для бухт Киевка и Алексеева, соответственно, круговая статистика, тест Рэлея) [33]. В б. Киевка все эпизоды нереста были зарегистрированы в период между 16 и 2 часами. Середина этого интервала нерестовой активности приходилась на закат ($M \pm SD = 20$ ч 58 мин \pm 3 ч 20 мин). В б. Алексеева большая часть эпизодов нереста (74,8%) зарегистрирована в темное время суток, и середина интервала нерестовой активности соответствовала 23 ч 33 мин \pm 4 ч 35 мин.

Статистический анализ параметров среды не выявил существенных различий между периодами низкой и повышенной нерестовой активности на обеих станциях. Таким образом, неравномерное распределение эпизодов нереста в течение суток (циркадный ритм) свидетельствует об участии эндогенного фактора в регуляции нереста *S. intermedius*.

Мы не нашли в доступной литературе сведений о наличии связи между нерестом морских ежей и временем суток, хотя влияние циркадного ритма на миграционную и двигательную активность этих животных показано в ряде работ [35, 36]. Вместе с тем есть

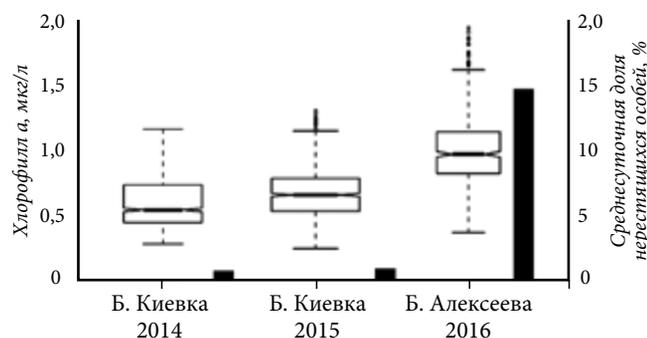


Рис. 2. Медианные значения (горизонтальные линии внутри прямоугольников) концентрации хлорофилла *a* за нерестовый сезон и среднесуточная доля нерестящихся морских ежей (черные столбики) в бухтах Киевка и Алексеева. Верхняя и нижняя границы прямоугольников – 75 и 25 процентиля, соответственно; вертикальные отрезки – минимальные и максимальные значения; кружочками обозначены статистические выбросы. Ширина прямоугольников пропорциональна величине выборки; размеры вырезок обозначают 95% доверительный интервал медианы.

интересное исследование [37], в котором аквалангисты в течение двух летних сезонов собрали данные о количестве нерестящихся представителей иглокожих (Holothuroidea, Asteroidea, Crinoidea и Ophiuroidea) и времени их нереста в центральном и северном районах Большого Барьерного рифа. Мы проанализировали данные этих исследований с помощью теста Рэлея. В результате оказалось, что эпизоды нереста представителей этих групп иглокожих также неравномерно распределены в течение суток: центр распределения их нерестовой активности соответствовал 19 ч 00 мин \pm 2 ч 00 мин. Таким образом, изменчивость уровня нерестовой активности в течение суток, вероятно, является общим свойством иглокожих. Молекулярной основой для этого могут быть гены, принадлежащие большому семейству фотолиаз–криптохромов (гены *Cpf*), продукты которых принимают участие в репарации ДНК, восприятию света и регуляции циркадных ритмов. Недавно эти гены обнаружены в геноме морских ежей [38]. Реализация нереста в сумерки и в темное время суток является полезным приобретением, повышающим вероятность выживания потомства.

Таким образом, исследования связи между событиями нереста *S. intermedius*, зарегистрированными методами анализа состояния гонад и методом видеорегистрации, и факторами среды не выявили зависимости нерестовой активности морских ежей от температуры, солености и концентрации растворенного кислорода. В то же время обнаружена достоверная положительная зависимость вероятности событий нереста от концентрации хлорофилла *a*. Более того, впервые получена достоверная положительная корреляция между долей нерестящихся морских ежей в течение каждого часа наблюдений и концентрацией хлорофилла *a*. Выходит, мы получили убедительное доказательство в пользу гипотезы о том, что увеличение концентрации фитопланктона в воде может служить первичным стимулом для запуска нереста морских ежей [8–10, 20].

Наше исследование выявило совпадение большинства событий нереста *S. intermedius* с фазами новой и полной луны. Тем не менее влияние лунного цикла на нерест морского ежа было различным в разные годы исследований. Это, так же как и феномен отсутствия нереста [25, 32], может быть объяснено с той точки зрения, что фазы лунного цикла, по всей видимости, не являются первичным стимулом, необходимым для запуска нерестовой активности *S. intermedius*. Наиболее вероятно, что лунный цикл может служить дополнительным фактором, усиливающим чувствительность морских ежей к другим факторам среды, как это было предположено ранее для морского ежа *Lytechinus variegatus* [20].

Количественный анализ нерестового поведения морских ежей во время массового нереста

Метод видеорегистрации позволил впервые осуществить количественный анализ преднерестового и нерестового поведения 2 видов морских ежей,

S. intermedius и *M. nudus* [39]. Были проанализированы натурные видеозаписи, полученные в течение 6 нерестовых сезонов (2014–2019 гг.) в 2 бухтах, Киевка и Алексеева. Целью исследования было получить ответы на следующие вопросы: 1) как и за какое время до нереста меняется поведение двух видов морских ежей и 2) меняются ли расстояния между самцами и самками в результате нерестового поведения? Кроме того, были определены временные характеристики выделения гамет и динамика численности нерестящихся особей во время массового нереста этих видов.

Для каждого вида было зарегистрировано 12 массовых нерестов, в которых участвовало 10 и более особей [39]. Нерест происходил в сумерках или ночью в 19 из 24 случаев массового нереста, зарегистрированных для обоих видов. Из 24 массовых нерестов, 12 произошли в интервале от 0 до 4 суток вблизи новолуния, 2 события зафиксированы за сутки до полнолуния, 3 события произошли в фазе прибывающей Луны (первая четверть) и 7 событий наблюдались, когда Луна находилась в фазе убывания (третья четверть). Несмотря на то, что нерестовые сезоны *S. intermedius* и *M. nudus* в изучаемых районах перекрываются, и иногда наблюдали одновременный нерест нескольких особей обоих видов, не было зарегистрировано ни одного случая синхронного массового нереста с участием 10 и более особей каждого вида.

Сравнительный анализ выявил сходное нерестовое поведение у обоих видов [39]. Установлено, что характер нереста прерывистый, гаметы у самцов и самок выделяются порциями. Количество порций и общая длительность нереста у самцов достоверно выше, чем у самок, за счет большей длительности интервалов между порциями спермы (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$ и $p < 0,01$ для *S. intermedius* и *M. nudus*, соответственно). К другим особенностям нереста самцов относится их способность начинать нерест раньше самок и заканчивать его позже, а также нереститься в отсутствие самок. Кроме того, длительность нереста самцов в б. Алексеева с более высоким уровнем первичной продукции была достоверно больше, чем в б. Киевка с относительно низким уровнем первичной продукции (тест Манна–Уитни, $p < 0,0001$). У обоих видов продолжительность выхода одной порции спермы и общая продолжительность выхода спермы была достоверно выше при массовом нересте, чем при одиночном нересте (тест Манна–Уитни, $p < 0,01$) [39].

В среднем самки *S. intermedius* и *M. nudus* начинали нерест через 26,5 мин и 24,0 мин, соответственно, после начала нереста первого самца, когда большое количество самцов уже отнерестились, и заканчивали нерест за 12,0 и 15,5 мин до последнего нереста самцов. Несмотря на то, что самцы начинали нереститься раньше и заканчивали нерест позже самок, динамика численности самцов и самок у обоих видов хорошо синхронизирована, так что максимальное количество одновременно нерестившихся полов совпадало

(коэффициент корреляции Спирмена $r = 0,722$ и $0,845$ для *S. intermedius* и *M. nudus*, соответственно, $p < 0,0001$) (рис. 3 а, б). В большинстве случаев продолжительность нереста обоих видов морских ежей составляла около 100 мин (рис. 3 а, б).

В целом, самцы *S. intermedius* и *M. nudus* проявляли гораздо более активное нерестовое поведение, чем самки. Во-первых, они начинали нерест раньше и заканчивали нерест позже самок. Более того, самцы обоих видов морских ежей были способны к нересту в отсутствие самок. Наши наблюдения подтверждают принятое в настоящее время мнение о том, что самцы иглокожих преимущественно нерестятся первыми [27, 40].

Во-вторых, численность самцов, участвующих в массовом нересте, была значительно выше, чем самок. Соотношение самок и самцов составляло 1:9 и 1:5 для *S. intermedius* и *M. nudus*, соответственно, что существенно отличается от соотношения полов в природных популяциях этих видов, близкого к 1:1 [33]. Близкое соотношение самок и самцов во время массового нереста в полевых условиях было обнаружено для других видов морских ежей, таких как *Strongylocentrotus purpuratus*

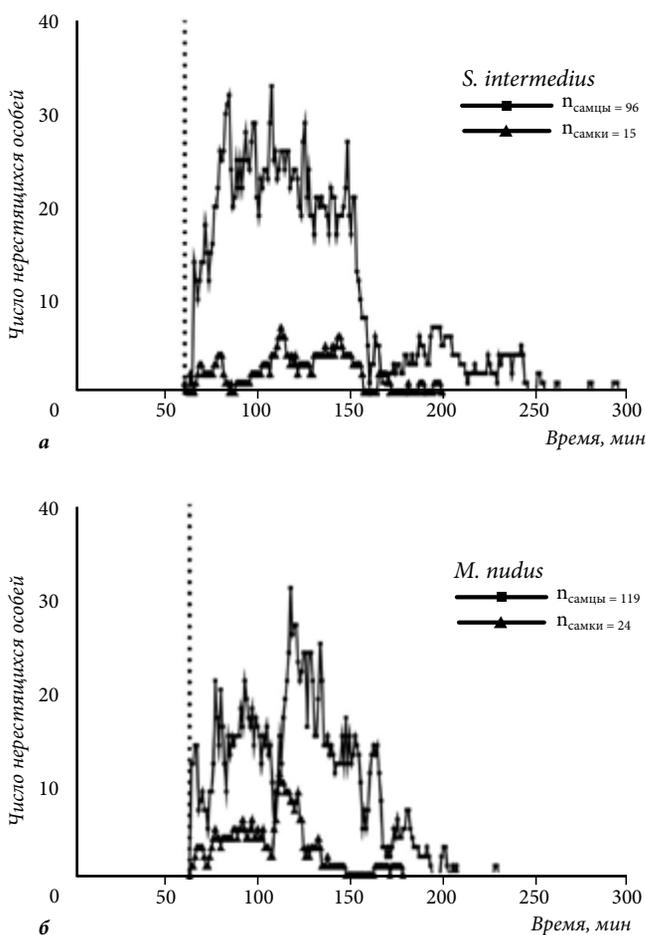


Рис. 3. Динамика численности одновременно нерестящихся самцов и самок морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* (а) и *Mesocentrotus nudus* (б) во время массового нереста. Все данные о численности самцов и самок, участвующих в массовом нересте, были совмещены на оси X в момент времени, совпадающий с началом нереста первой особи в каждом событии массового нереста (обозначено вертикальной пунктирной линией).

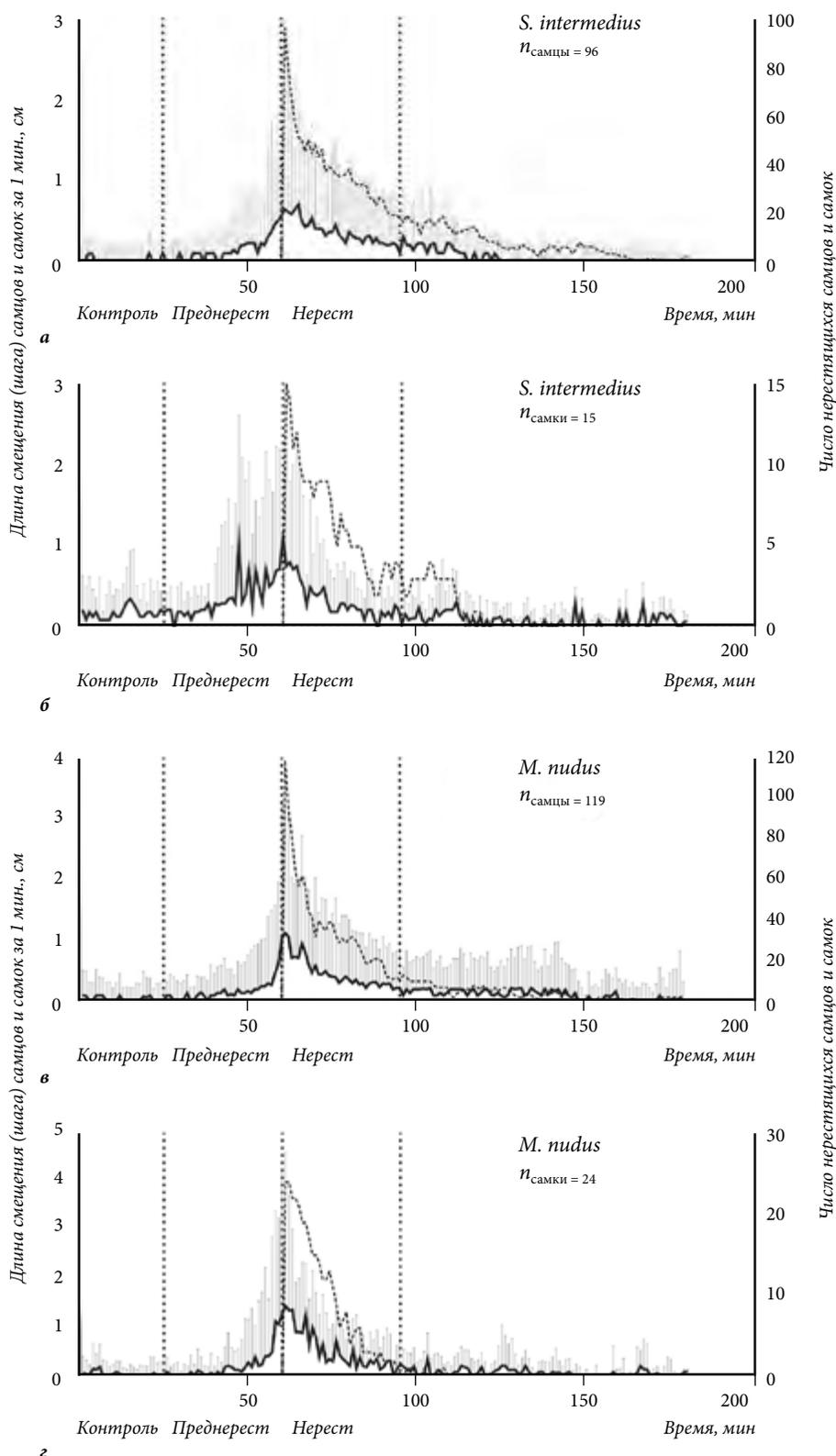


Рис. 4. Динамика двигательной активности самцов и самок морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* (а, б) и *Mesocentrotus nidus* (в, г) до и во время массового нереста.

Данные о длине шагов морских ежей и численности нерестящихся особей были совмещены на оси X в момент времени, совпадающий с началом нереста каждой особи. Вертикальными пунктирными линиями обозначены границы контрольного, преднерестового и нерестового интервалов. Черная сплошная линия обозначает среднюю длину шага морских ежей. Вертикальные линии соответствуют межквартильному диапазону (IQR). Штриховые линии показывают количество нерестящихся особей.

(1:4, [41]), *M. franciscanus* (1:8, [41]) и *S. droebachiensis* (1:4, [14]).

Наши исследования показали, что важнейшей чертой нерестового поведения морских ежей является повышение двигательной активности незадолго до нереста и во время нереста [39]. Достоверное увеличение длины смещения самцов и самок за 1 мин (длины шага) *S. intermedius* (рис. 4 а, б) и *M. nudus* (рис. 4 в, г) происходило за 30–35 мин до начала нереста (тест Крускалла–Уоллиса, $p < 0,0001$). В период нереста оба пола *M. nudus* и самцы *S. intermedius* ускорялись еще больше, а самки *S. intermedius* несколько замедлялись (тест Крускалла–Уоллиса, $p < 0,0001$). По мере приближения окончания массового нереста скорость движения самок обоих видов постепенно снижалась.

Очень важен тот факт, что самцы, которые начинали нерест первыми во время массового нереста, а также самцы, которые нерестились в одиночку, увеличивали скорость своего движения перед нерестом в отсутствие других нерестящихся особей. Это наблюдение указывает на то, что увеличение двигательной активности у *S. intermedius* и *M. nudus* перед нерестом обусловлено влиянием факторов окружающей среды. Мы полагаем, на основании результатов наших исследований [33, 39], что основным фактором, вызывающим увеличение двигательной активности морских ежей, является повышение концентрации фитопланктона в воде. В пользу этого вывода свидетельствует также тот факт, что в некоторых случаях, при повышении концентрации хлорофилла *a* до 5–10 мкг/л, не нерестящиеся (незрелые или уже отнерестившиеся) особи начинали активно двигаться раньше, чем их соседи собирались нереститься. Эти наблюдения позволяют предположить, что незрелые морские ежи обладают способностью воспринимать некоторые сигналы окружающей среды, в случае их высокой интенсивности, и проявлять нерестовое поведение.

Чтобы определить, сближаются ли самцы и самки во время массового нереста, было проведено 2 анализа [39]. Во-первых, определяли расстояния от самцов и самок до их общего центра масс. При расчете центра массы морского ежа условная масса самцов или самок принималась кратной времени выхода гамет. Во-вторых, измеряли расстояния от каждого из самцов и от каждой не нерестящейся особи до центра масс самок. Анализ пространственного распределения самцов и самок морских ежей во время массового нереста выявил значительное сближение морских ежей обоих видов на плоской поверхности (кормушки с ламинарией) в период нереста [39]. Расстояние от нерестящихся морских ежей до их общего центра масс и до центра масс самок во время массового нереста морских ежей достоверно уменьшалось, особенно существенно в первые 60 мин от начала нереста. Более того, не нерестящиеся особи также сближались с самками, хотя это сближение было менее выраженным, чем между самцами и самками.

Пространственное распределение морских ежей во время нереста на вертикальной поверхности существенно отличалось от такового на плоских кормовых субстратах. Самцы и самки обоих видов на вертикальной поверхности двигались строго вверх как до, так и во время нереста [39]. Нерестящиеся самцы, достигнув вершины большого камня, продолжали активно перемещаться по его поверхности в отсутствие самок. В случаях, когда рядом находилась нерестящаяся самка, самцы замедляли ход или останавливались. Напротив, самки обычно прекращали активное движение во время нереста, достигнув вершины камня. Самки *S. intermedius* также демонстрировали аналогичное поведение на пищевых субстратах, когда они взбирались на других особей. У *M. nudus* подобное поведение не зарегистрировано.

Таким образом, нам удалось получить ответ на один из наиболее интересных вопросов, касающихся репродуктивного поведения морских ежей – это вопрос о том, сближаются ли морские ежи друг с другом во время нереста. На сегодняшний день имеется лишь скудная информация о пространственном распределении морских ежей разных видов до и во время нереста, что обусловлено практически полным отсутствием прямых полевых наблюдений этих процессов. Насколько нам известно, исследование Левитана [41] является единственной работой, в которой определяли расстояние между нерестящимися и не нерестящимися морскими ежами *M. franciscanus* во время массового нереста в полевых условиях. На основании данных о распределении морских ежей, картируемых с 30-минутным интервалом в течение 2 ч, сделан вывод о том, что во время нереста нерестящиеся и не нерестящиеся особи не становились более агрегированными.

В нашем исследовании с интервалом в 1 мин в течение 3 ч прослеживали траектории морских ежей и определяли изменение расстояний от самцов и не нерестящихся особей до центра масс самок [39]. Такой подход позволил показать, что морские ежи *S. intermedius* и *M. nudus* не образовывали настоящих скоплений до и во время массового нереста, но, несомненно, сближались. Наиболее существенные изменения расстояний между нерестящимися и не нерестящимися морскими ежами *S. intermedius* и *M. nudus* происходили в первые 50–60 мин после начала массового нереста. Таким образом, временное разрешение в 30 мин [41] оказалось недостаточным для обнаружения изменения расстояний между морскими ежами во время нереста.

Поскольку успех оплодотворения у морских ежей зависит от расстояния между самцом и самкой [41, 42], их сближение во время массового нереста имеет важное значение для успешности воспроизводства. Смысл сближения не нерестящихся особей и самок не очень очевиден. В связи с этим возникает вопрос: проявляют ли нерестящиеся самцы и не нерестящиеся особи сходное поведение из-за их реакции на некоторые химические сигналы (феромоны), посылаемые вместе с гаметами, выделяемыми сородичами, скорее всего,

самками? Мы полагаем, что полученные в настоящей работе новые данные о закономерностях двигательной активности морских ежей при массовом нересте послужат физиологической основой для поиска биомолекул, которые могут играть роль феромонов у этой группы иглокожих.

Заключение

Анализ данных о состоянии гонад (степень зрелости и готовность к нересту) морского ежа *S. intermedius* и динамике факторов среды в сезон его размножения в районах северо-западной части Японского моря с различными уровнями антропогенной нагрузки и первичной продукции показал, что сроки нереста (нерестовые окна) в различных поселениях *S. intermedius* могут быть разными даже в пределах одной бухты. Кроме того, годовой репродуктивный цикл морского ежа в некоторых поселениях может не завершаться полноценным нерестом. Все это указывает на то, что нерест морских ежей зависит не только от степени зрелости гонад, но также и от локальных условий окружающей среды, то есть определенные внешние стимулы необходимы для запуска нереста. Исследования связи между событиями нереста, зарегистрированными методом видеорегистрации, и факторами среды (температура, соленость и концентрации растворенного кислорода и хлорофилла *a*) выявили достоверную положительную зависимость событий нереста только от концентрации хлорофилла *a*. Таким образом, мы получили убедительные доказательства в пользу того, что увеличение концентрации фитопланктона в воде может служить первичным стимулом для запуска нереста морских ежей.

Анализ временных и количественных закономерностей поведения морских ежей *S. intermedius* и *M. nidus* во время массового нереста показал, что для обоих видов характерны сходные репродуктивные адаптации, направленные на повышение репродуктивного успеха. Высокая чувствительность морских ежей, в первую очередь самцов, к фитопланктону представляет крупномасштабную (глобальную) адаптацию, характерную для многих беспозвоночных с внешним оплодотворением и планктотрофной личинкой, и, по-видимому, является одной из предпосылок для развития массового нереста. Ночное время суток, а также фазы новой и полной луны, видимо, являются модулирующими факторами, увеличивающими вероятность массового нереста. Такие поведенческие особенности, как ускорение движения и стремление взобраться на возвышенность, сближение самцов и самок во время нереста, более длительная продолжительность нереста у самцов по сравнению с самками, большая продолжительность выделения спермы самцами во время массового нереста, чем во время одиночного нереста, можно рассматривать как мелкомасштабные адаптации, повышающие вероятность оплодотворения.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование частично финансируется за счет государственных заданий Российской Федерации (темы 121082600038-3 и 121021500052-9).

Литература / References

- Himmelman JH. Spawning, marine invertebrates. In: Knobil E, Neill JD, editors. *Encyclopedia of Reproduction*. V. 4. New York: Academic Press; 1999. P. 524–33.
- Leviton DR, Petersen C. Sperm limitation in the sea. *Trends Ecol Evol*. 1995;10:228–31. doi: 10.1016/S0169-5347(00)89071-0.
- Petersen CW, Levitan DR. The Allee effect: a barrier to recovery by exploited species. In: Reynolds JD, Mace GM, Redford KH, Robinson JG, editors. *Conservation of exploited species*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001. P. 281–300.
- Thorson G. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol Rev Cambridge Phil Soc*. 1950;25:1–45. doi: 10.1111/j.1469-185X.1950.tb00585.x.
- Breese WP, Robinson A. Razor clams, *Siliqua patula* (Dixon): gonadal development, induced spawning and larval rearing. *Aquaculture*. 1981;22:27–33. doi: 10.1016/0044-8486(81)90130-7.
- Starr M, Himmelman JH, Theriault JC. Direct coupling of marine invertebrate spawning with phytoplankton blooms. *Science*. 1990;247:1071–74. doi: 10.1126/science.247.4946.1071.
- Starr M, Himmelman JH, Theriault JC. Isolation and properties of a substance from the diatom *Phaeodactylum tricornutum* which induces spawning in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Mar Ecol Prog Ser*. 1992;79:275–87. doi: 10.1139/f93-103.
- Starr M, Himmelman JH, Theriault JC. Environmental control of green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, spawning in St Lawrence estuary. *Can J Fish Aquat Sci*. 1993;50:894–901. doi: 10.1139/f93-103.
- Gaudette J, Wahle RA, Himmelman JH. Spawning events in small and large populations of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* as recorded using fertilization assays. *Limnol Oceanogr*. 2006;51:1485–96. doi: 10.4319/lo.2006.51.3.1485.
- González-Irusta JM, De Cerio FG, Canteras JC. Reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the Cantabrian Sea (northern Spain): environmental effects. *J Mar Biol Ass UK*. 2010;90:699–709. doi: 10.1017/S002531540999110X.
- Bronstein O, Kroh A, Loya Y. Reproduction of the long-spined sea urchin *Diadema setosum* in the Gulf of Aqaba – implications for the use of gonad-indexes. *Sci Rep*. 2016;6(1):29569. doi: 10.1038/srep29569.
- Byrne M. Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Mar Biol*. 1990;104(2):275–89. doi: 10.1007/BF01313269.
- Lamare MD, Stewart BG. Mass spawning by the sea urchin *Evechinus chloroticus* (Echinodermata: Echinoidea) in New Zealand fiord. *Mar Biol*. 1998;132(1):135–140. doi: 10.1007/s002270050379.
- Himmelman JH, Dumont CP, Gaymer CF, Vallières C, Drolet D. Spawning synchrony and aggregative behaviour of cold-water echinoderms during multi-species mass spawnings. *Mar Ecol Prog Ser*. 2008;361:161–168. doi: 10.3354/meps07415.
- Egea E, Merigot B, Mahe-Bezac C, Feral J-P, Chenuil A. Differential reproductive timing in *Echinocardium* spp.: the first Mediterranean survey allows interoceanic and interspecific comparisons. *Comptes Rendus Biologies*. 2011;334(1):13–23. doi: 10.1016/j.crv.2010.10.007.
- Byrne M, Andrew NL, Worthington DG, Brett PA. Reproduction in the diademoid sea urchin *Centrostephanus rodgersii* in contrasting habitats along the coast of New South

- Wales, Australia. *Mar Biol.* 1998;132(2):305–18. doi: 10.1007/s002270050396.
17. Lessios HA. Presence and absence of monthly reproductive rhythms among eight Caribbean echinoids off the coast of Panama. *J Exp Mar Biol Ecol.* 1991;153(1):27–47. doi: 10.1016/S0022-0981(05)80004-8.
 18. Coppard SE, Campbell AC. Lunar periodicities of diademid echinoids breeding in Fiji. *Coral Reefs.* 2005;24(2):324–332. doi:10.1007/s00338-005-0491-5.
 19. Mercier A, Hamel JF. Synchronized breeding events in sympatric marine invertebrates: role of behavior and fine temporal windows in maintaining reproductive isolation. *Behav Ecol Sociobiol.* 2010;64(11):1749–65. doi: 10.1007/s00265-010-0987-z.
 20. Reuter KE, Levitan DR. Influence of sperm and phytoplankton on spawning in the echinoid *Lytechinus variegatus*. *Biol Bull.* 2010;219(3):198–206. doi: 10.1086/BBLv219n3p198.
 21. Хотимченко Ю.С., Деридович И.И., Мотавкин П.А. *Биология размножения и регуляция гаметогенеза и нереста у иглокожих*. М.: Наука, 1993. [Khotimchenko YS, Deridovich II, Motavkin PA. *The reproductive biology and regulation of gametogenesis and spawning in echinoderms*. Moscow: Nauka; 1993. (In Russ.)]
 22. Ващенко М.А., Жадан П.М. Исследование влияния хронического загрязнения морской среды на состояние репродуктивной функции беспозвоночных животных. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2012;2:110–14. [Vaschenko MA, Zhadan PM. Studying effects from chronic marine environment pollution on the state of invertebrates reproductive function. *Pacific Medical Journal.* 2012;2:110–14. (In Russ.)]
 23. Zhadan PM, Vaschenko MA, Almyashova TN. Effects of environmental factors on reproduction of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. In: Agnello M, editor. *Sea urchin – from environment to aquaculture and biomedicine*. Reijeka: INTECH, 2017. P. 35–69. doi: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69511.
 24. Stonik IV, Orlova TY. Summer-autumn phytoplankton in Amurskii Bay, Sea of Japan. *Rus J Mar Biol.* 1998;24:207–13.
 25. Zhadan PM, Vaschenko MA, Almyashova TN. Spawning failure in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* in the northwestern Sea of Japan: potential environmental causes. *J Exp Mar Biol Ecol.* 2015;465:11–23. doi: 10.1016/j.jembe.2014.12.017.
 26. Walker CW, Unuma T, Lesser MP. Gametogenesis and reproduction of sea urchins. In: Lawrence JM, editor. *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. P. 11–33.
 27. Mercier A, Hamel J-F. Endogenous and exogenous control of gametogenesis and spawning in echinoderms. *Adv Mar Biol.* 2009;55:1–302. doi: 10.1016/S0065-2881(09)55001-8.
 28. Зуенко Ю.И. *Промысловая океанология Японского моря*. Владивосток: ТИПРО-Центр, 2008. [Zuenko YI. *Fisheries oceanography of the Japan Sea*. Vladivostok: TINRO-Center; 2008. (In Russ.)]
 29. Cloern JE, Foster SQ, Kleckner AE. Review: Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. *Biogeosci Discuss.* 2013;10:17725–83. doi: 10.5194/bg-11-2477-2014.
 30. Жабин И.А., Грамм-Осипова О.Л., Юрасов Г.И. Ветровой апвеллинг у северо-западного побережья Японского моря. *Метеорология и гидрология.* 1993;10:82–6. [Zhabin IA, Gramm-Osipova OL, Yurasov GI. Wind upwelling off the northwest coast of the Sea of Japan. *Russian Meteorology and Hydrology.* 1993;10:82–6 (In Russ.)]
 31. Zvalinskii VI, Lobanov VB, Zakharkov SP, Tishchenko PY. Chlorophyll, delayed fluorescence, and primary production in the northwestern part of the Sea of Japan. *Oceanology (Mosc).* 2006;46:23–32. doi: 10.1134/S0001437006010048.
 32. Zhadan PM, Vaschenko MA, Lobanov VB, Sergeev AF, Kotova SA. Fine-scale temporal study of the influence of hydrobiological conditions on the spawning of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Mar Ecol Prog Ser.* 2016;550:147–61. doi: 10.3354/meps11678.
 33. Zhadan PM, Vaschenko MA, Ryazanov SD. Assessing the effect of environmental factors on the spawning activity of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* through video recording observations. *Mar Ecol Prog Ser.* 2018;588:101–19. doi: 10.3354/meps12436.
 34. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 5th ed. NJ: Prentice-Hall, Englewood Cliffs; 2010.
 35. Crook AC, Long M, Barnes DKA. Quantifying daily migration in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *J Mar Biol Ass UK.* 2000;80:177–8. doi: 10.1017/S0025315499001721.
 36. Hasegawa K. Analysis of circadian rhythm in *Strongylocentrotus nudus* using a commercial digital camera with an interval function. *Rep Mar Ecol Res Inst.* 2014;18:63–5.
 37. Babcock R, Mundy C, Keesing J, Oliver J. Predictable and unpredictable spawning events: *in situ* behavioral data from free-spawning coral reef invertebrates. *Inv Repr Dev.* 1992;22(1–3):213–28. doi: 10.1080/07924259.1992.9672274.
 38. Oliveri P, Fortunato AE, Petrone L, Fujiwara TI, Kobayashi Y, Todo T, Antonova O, Zantke J, Arboleda E, Tessmar-Raible K, Falciatore A. The cryptochrome/photolyase family in aquatic organisms. *Mar Genomics.* 2014;14:23–37. doi: 10.1016/j.margen.2014.02.001.
 39. Zhadan PM, Vaschenko MA, Permyakov PA. Quantitative study of the behavior of two broadcast spawners, the sea urchins *Strongylocentrotus intermedius* and *Mesocentrotus nudus*, during mass spawning events *in situ*. *PeerJ.* 2021;9:e11058. doi: 10.7717/peerj.11058.
 40. Levitan DR. Sperm limitation, sperm competition and sexual selection in external fertilizers. In: Birkhead T, Moller A, editors. *Sperm competition and sexual selection*. San Diego: Academic Press; 1998. P. 173–215.
 41. Levitan DR. Density-dependent selection on gamete traits in three congeneric sea urchins. *Ecology.* 2002;83:464–79. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[0464:DDSOGT]2.0.CO;2.
 42. Levitan DR. Sex-specific spawning behavior and its consequences in an external fertilizer. *American Naturalist.* 2005;165(6):682–94. doi: 10.1086/429733.

УДК [612.017.2+612.014.464]:594.117
DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-36-45

Роль серотонина, ацетилхолина, оксида азота и FMRF-амида в адаптации морских гребешков к гипоксии

Е.П. Коцюба, В.А. Дячук

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН), г. Владивосток, Россия

Проблема адаптации к кислородной недостаточности, ее роль в развитии заболеваний многие десятилетия изучается на моделях животных с разной устойчивостью к гипоксии. В данном обзоре обсуждаются данные литературы и результаты собственных исследований гормональных и медиаторных систем ЦНС, а также выяснение их роли в адаптивных физиологических и поведенческих реакциях у двустворчатых моллюсков. Анализ материалов по топографии серотонина (5-HT), ацетилхолина (ACh), оксида азота (NO) и FMRF-амид-содержащих нейронов в висцеральном ганглии и динамике их активности свидетельствует об участии нейротрансмиттеров и ферментов их синтеза в устойчивости и пластичности нервной системы морских гребешков при гипоксии.

Ключевые слова: нейротрансмиттеры, двустворчатые моллюски, стресс, гипоксия

Поступила в редакцию 15.02.2022. Получена после доработки 21.02.2022. Принята к печати 28.02.2022.

Для цитирования: Коцюба Е.П., Дячук В.А. Роль серотонина, ацетилхолина, оксида азота и FMRF-амида в адаптации морских гребешков к гипоксии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;1: 36–45. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-36-45

Для корреспонденции: Коцюба Елена Пантелеймоновна – ст. научный сотрудник, Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН); (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17); ORCID: 0000-0003-0887-0257; e-mail: epkotsuba@mail.ru

The role of serotonin, acetylcholine, nitric oxide and FMRF-amide in the adaptation of scallops to hypoxia

E.P. Kotsyuba, V.A. Dyachuk

A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

Summary: The problem of adaptation to oxygen deficiency and its role in the development of diseases have been studied for many decades on animal models having different level of resistance to hypoxia. This review discusses the literature data and the results of our own studies of hormonal and mediator systems of the central nervous system, as well as the clarification of their role in adaptive physiological and behavioral reactions in bivalves. The analysis of data on serotonin topography (5-HT), acetylcholine (ACh), nitric oxide (NO) and FMRF-amide-containing neurons in the visceral ganglion and the dynamics of their activity provides evidence of the participation of neurotransmitters and enzymes of their synthesis in the stability and plasticity of the nervous system of scallops suffering hypoxia.

Keywords: neurotransmitters, bivalves, stress, hypoxia

Received 15 February 2022; Revised 21 February 2022; Accepted 28 February 2022

For citation: Kotsyuba E.P., Dyachuk V.A. The role of serotonin, acetylcholine, nitric oxide and FMRF-amide in the adaptation of scallops to hypoxia. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:36–45. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-36-45

Corresponding author: Elena P. Kotsyuba, A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences (17 Palchevsky str., Vladivostok, 690041, Russian Federation); ORCID: 0000-0003-0887-0257; e-mail: epkotsuba@mail.ru

Проблема адаптации к кислородной недостаточности, ее роль в развитии заболеваний многие десятилетия изучается на моделях животных с разной устойчивостью к гипоксии. Многие беспозвоночные, такие, как морские двустворчатые моллюски, в процессе эволюции приобрели способность адаптироваться к низкому содержанию кислорода [1] и могут выступать в качестве модельных объектов для изучения клеточных и молекулярных механизмов устойчивости ЦНС к гипоксии. Эффективным механизмом адаптации к стрессу, в том числе гипоксии у моллюсков, является нейроэндокринная стресс-реакция [2], которая вызывает перестройки физиологических функций и адаптивные изменения

поведения, обусловленные процессами, индуцированными стрессорами в нервных ганглиях.

Для решения проблемы устойчивости организма и его адаптации к гипоксии необходимы детальные исследования молекулярных и клеточных механизмов участия центральной нервной системы (ЦНС), в том числе ее гормональных и медиаторных систем, а также выяснение их роли в адаптивных физиологических и поведенческих реакциях у разных классов животных. Особое место в изучении нервной системы беспозвоночных занимают исследования, которые проводились под руководством профессора П.А. Мотавкина [3]. П.А. Мотавкиным и его учениками были получены

интересные результаты гистофизиологии нервной системы двусторчатых моллюсков и ее роли в регуляции размножения у промысловых видов моллюсков [4, 5, 6, 7, 8]. Были представлены данные об ультраструктуре нейронов, строении ганглиев и механизмах иннервации гонад. Особое внимание уделялось изучению NO-ергических структур в различных отделах центральной и периферической нервной системы и роли оксида азота у двусторчатых моллюсков [4, 5, 8, 9]. П.А. Мотавкин и его ученики исследовали взаимоотношения между нейронами, продуцирующими оксид азота и классические медиаторы в нервной системе позвоночных и беспозвоночных животных. Одновременно выяснялась роль NO в реакциях двусторчатых моллюсков на стрессовые факторы среды [10, 11, 12].

В настоящее время у беспозвоночных идентифицированы различные гормоны, нейротрансмиттеры, а также их рецепторы и ключевые ферменты их синтеза, которые имеют схожую молекулярную основу с позвоночными животными и участвуют в регуляции кислородного гомеостаза [13]. Молекулярные компоненты нейроэндокринной системы высоко консервативны у беспозвоночных и позвоночных животных [13]. Имеющиеся в литературе данные посвящены в основном исследованию механизмов устойчивости толерантных к гипоксии видов. Вместе с тем известно, что чувствительные к гипоксии виды по сравнению с толерантными, отличаются спецификой регуляции физиологических, метаболических процессов и поведенческих реакций [14, 15]. К таким видам относится гребешок *Azumapecten farreri* (Jones, Preston, 1904). Характерной особенностью этих моллюсков является способность при неблагоприятных условиях (аномальная температура, наличие хищников и, в том числе низкие концентрации кислорода в морской воде) к экстренной организации локомоторной реакции – «реакции избегания», которая обеспечивается сокращением аддукторного мускула. Иннервация аддукторного мускула у морских гребешков осуществляется нейритами висцерального ганглия. Его анатомическая организация у гребешка считается одной из самых сложных среди двусторчатых моллюсков и состоит из пяти основных долей: парных дорсо-центральных (передние), непарной вентроцентральной (задние) и парной латеральной доли, а также содержит два малых добавочных ганглия, которые располагаются между церебровисцеральной коннективой и жаберным нервом (аксесуарные ганглии) [16]. У двусторчатых моллюсков висцеральный ганглий является физиологическим центром [6], который участвует в регуляции дыхания и висцерокардиальных рефлексов, контролирует двигательное поведение и играет важную роль в метаболических процессах. Известно, что в регуляции всех этих процессов участвует несколько определенных нейротрансмиттеров и нейрогормонов. В настоящее время установлено, что при стрессовых воздействиях их уровень изменяется, однако до сих пор малоизвестно о наличии и распределении

синтезирующих их нейронов в нервных центрах двусторчатых моллюсков и их роли в стрессоустойчивости и пластичности. В данном обзоре представлены результаты собственных исследований и литературные данные по топографии серотонин (5-НТ), ацетилхолин (ACh), оксид азота (NO) и FMRF-амид-содержащих нейронов в висцеральном ганглии и динамике их синтеза в разных отделах ганглия при гипоксии. Освещены данные, и приведено обсуждение о возможном участии их в устойчивости морских гребешков к гипоксии.

Роль серотонина

В настоящее время наличие 5-НТ в ЦНС установлено у всех видов двусторчатых моллюсков с помощью фармакологических, биохимических и иммунохимических исследований [17, 18]. Методами иммуногистохимии и конфокальной микроскопии в физиологических условиях в висцеральном ганглии гребешков *A. farreri* 5-НТ выявляется в варикозных волокнах нейропиля, церебровисцеральных коннективах, в жаберных и мантийных нервах и в нейронах добавочных ганглиев (рис.1, а–в). Источником 5-НТ-позитивных волокон в нейропиле висцерального ганглия являются 5-НТ-позитивные нейроны церебральных ганглиев, волокна которых проходят через ганглий к жабрам, и заканчиваются там, по-видимому, на нескольких видах клеток [18]. В жаберных нервах 5-НТ идентифицирован у нескольких видов двусторчатых моллюсков, включая морских гребешков [17]. Имеются данные, что у моллюска *Mercenaria mercenaria* серотонинергические нейроны участвуют в иннервации жаберных мышц и ресничек [19], а также установлена роль серотонина в регуляции активности ресничек у нескольких видов двусторчатых моллюсков. Жаберные нервы моллюсков содержат 5-НТ и NO [19]. По нашим данным, 5-НТ- и uNOS-иммунопозитивные нервные волокна в нервах и нейропиле у *A. farreri* не соколизированы, но uNOS-lir нейроны в вентро-центральных долях находятся в непосредственной близости от 5-НТ-иммунопозитивных нервных волокон (рис. 1, в), что не исключает возможности взаимодействия 5-НТ- и NO-ергических медиаторных систем у моллюсков. В свете теории объемной нейротрансмиссии нейропиле является единым информационным пространством, интегративной системой, включающей гетерогенные волокна от разных нервных клеток. Известно, что нитроксидергическая сигнализация не ограничивается определенными синапсами. Поскольку фермент NO-синтаза присутствует во всем объеме тела и отростков нейрона, является регуляторным цитозольным ферментом [20], то NO может синтезироваться и выделяться из любого участка тела и отростков нейрона и оказывать влияние на соседние нервные элементы.

При экспериментальной гипоксии у *A. farreri* уровень 5-НТ иммунореактивности постепенно снижается в нейропиле по сравнению с интактными животными, оставаясь значимым только в нервах, отходящих от висцерального ганглия и в дополнительных ганглиях

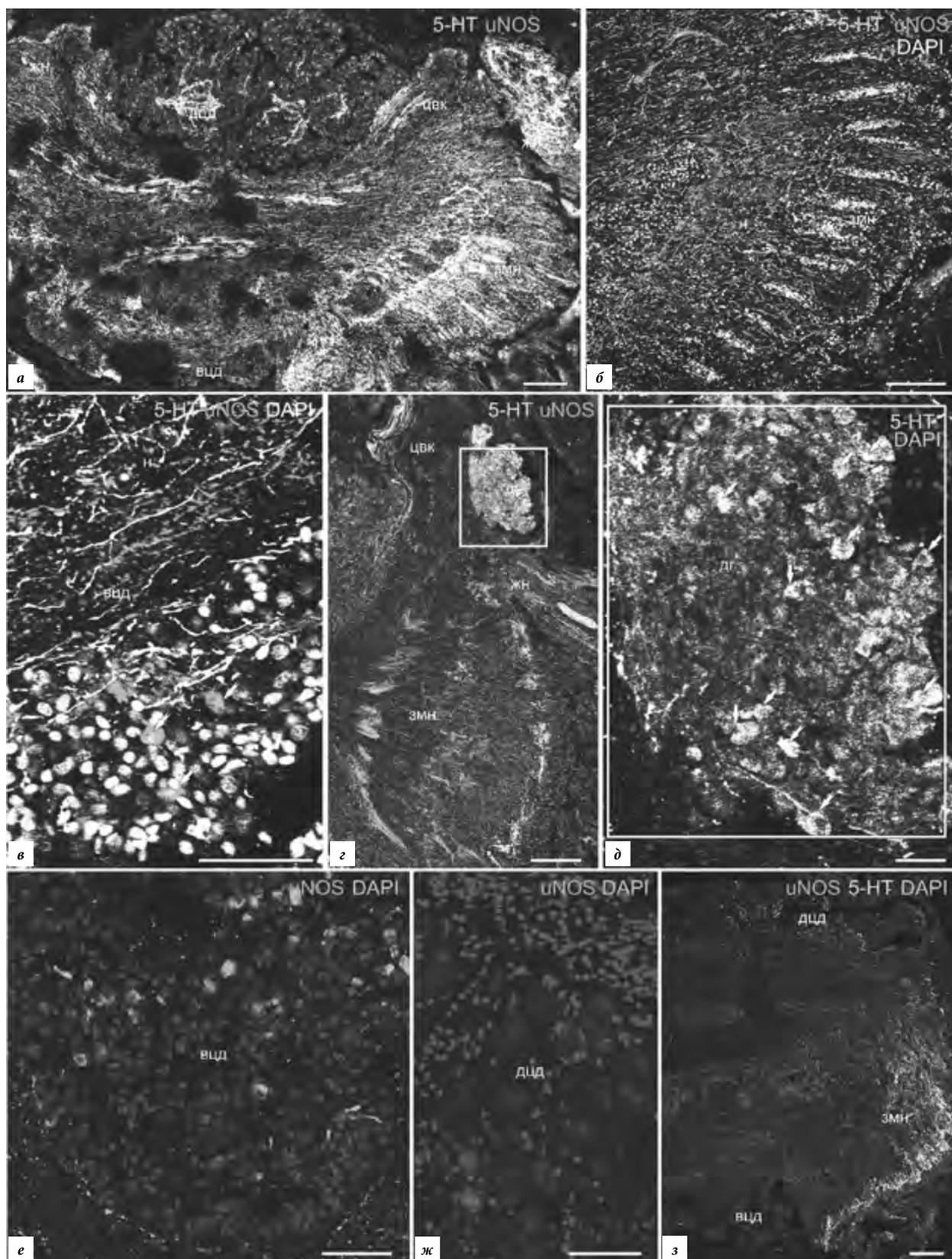


Рис. 1. Распределение 5-HT- и uNOS-иммунореактивности в висцеральном ганглии *A. fargesi* в контроле и при гипоксии: а, б, в – контроль, стрелками обозначены uNOS – иммунореактивные нейроны, г, д – гипоксия 1 ч, стрелками обозначены 5-HT- иммунореактивные нейроны, е, ж – гипоксия 6 ч, з – гипоксия 12 ч.

дцд – дорсо-центральная доля, вцд – вентроцентральная доля, лд – латеральная доля, н – нейропил, дг – добавочный ганглий, цвк – церебро-висцеральная коннектива, жн – жаберный нерв, змн – задние мантийные нервы. а – д, з – флуоресценция вторичных антител Alexa 488, е, ж – флуоресценция вторичных антител Alexa 555, в, д, е, ж, з – ядра клеток докрасены DAPI. Мультифотонная сканирующая лазерная микроскопия. Масштаб: 100 мкм.

(рис. 1, г, д). Количественный анализ флуоресцентной активности показал снижение концентрации серотонина после 6 ч гипоксии ($1185,04 \pm 88,69$) по сравнению с контрольным значением ($2644,83 \pm 254,60$), а после 12 ч гипоксии уровень 5-НТ-иммунореактивности в ганглии снижался ниже контрольного уровня ($317,97 \pm 43,43$).

Снижение 5-НТ иммунореактивности в нейропиле висцерального ганглия и повышении иммунореактивности серотонина в мантийных и жаберных нервах при гипоксии, возможно, связано с увеличением активности аксонального транспорта 5-НТ в периферические органы и гемолимфу моллюсков. Экспериментально доказано, что концентрация 5-НТ значительно увеличилась в гемолимфе и мантии устриц *Crassostrea gigas* при содержании их в течение 1 сут. на воздухе [21]. Кроме того, показано, что после введения *C. gigas* экзогенного серотонина, скорость апоптоза гемоцитов при гипоксии у них значительно снижалась, а активность супероксиддисмутазы в гемолимфе значительно повышалась [21]. При этом выживаемость устриц на 4–6-й день после инъекции серотонина была выше. Полученные данные указывают на то, что серотонин может модулировать апоптотический эффект и окислительно-восстановительное состояние моллюсков для защиты их от гипоксии. Существенное снижение 5-НТ иммунореактивности в висцеральном ганглии *A. farreri* после 12 ч гипоксии свидетельствует о снижении функциональной активности 5-НТ системы у гребешка.

Увеличение 5-НТ-иммунопозитивности в жаберных нервах *A. farreri* после 6-часовой гипоксии может быть связано с участием 5-НТ в регуляции активности ресничек в жабрах двустворчатых моллюсков [19]. Увеличение частоты биения ресничек и сокращений сердца в сочетании с расширением сосудов, вызванных сокращением жаберных мышц, являются центральными механизмами, с помощью которых моллюски могут стабилизировать частоту дыхания при недостатке кислорода [22]. Данные нескольких экспериментальных исследований указывают на участие серотонина в механизмах адаптации к гипоксии у беспозвоночных животных [23]. Показано, что у инкапсулированных эмбрионов брюхоногого моллюска *Helisoma* определенные серотонинергические нейроны опосредуют индуцированное гипоксией увеличение двигательной активности ресничек, что вызывает быстрое вращение эмбрионов и более эффективную диффузию кислорода из-за усиленного перемешивания. У млекопитающих и человека серотонин также является важным медиатором гипоксических реакций в чувствительных к кислороду легочных нейроэпителиальных телах и в клетках I типа каротидных тел [24].

Повышение 5-НТ-иммунопозитивности в нейронах добавочных ганглиев при аноксии согласуется с результатами исследований, в которых установлено, что под действием факторов среды сенсорные клетки осфрадиев индуцируют активность нейросекреторных

клеток и аксональный транспорт серотонин-содержащего нейросекрета в гонады [25]. Известно, что у моллюсков серотонин участвует в регуляции репродуктивной функции [17] и служит индуктором нереста у двустворчатых моллюсков, в том числе у морских гребешков.

Роль оксида азота

Оксид азота (NO) является важной внутри- и внеклеточной сигнальной молекулой, и его роль в качестве физиологического посредника установлена во многих группах беспозвоночных и у млекопитающих [26]. Оксид азота синтезируется с помощью фермента NO-синтазы (NOS). У моллюсков NOS имеет большее сходство с nNOS (нейрональная форма) позвоночных по структуре, с nNOS и iNOS (индуцибельная форма) по биохимическим характеристикам и iNOS по иммунологическим особенностям [27], наиболее точным топомеханическим маркером считается универсальная NO-синтаза (uNOS).

В настоящее время оксид азота (NO) идентифицирован у брюхоногих, головоногих и двустворчатых моллюсков, включая и гребешков [26, 27]. Сравнительный морфологический анализ показал, что в висцеральном ганглии морских гребешков NO-позитивных нейронов значительно меньше, чем у изученных ранее гипоксия-толерантных видов митилид *Crenomytilus grayanus* и *Modiolus kurilensis* [5, 12].

В физиологических условиях у *A. farreri* uNOS иммунореактивность выявляется только в небольшой популяции нейронов в вентроцентральных долях, в волокнах нейропиля висцерального ганглия, в церебровисцеральных коннективах и у выхода жаберных, мантийных и осфрадиальных нервов (рис. 1, а, в, г).

Наши результаты показали, что экспрессия uNOS увеличивается в ответ на 1 ч гипоксии в нейронах вентро- и дорсо-центральной долей и нервных волокнах, особенно у выхода мантийных и жаберных нервов (рис. 1, г, е, ж), но после 3 ч гипоксии количество uNOS-иммунопозитивных клеток и волокон в вентро- и дорсо-центральных долях и в нервных волокнах уменьшалось. Количественный анализ показал, что пик числа uNOS-позитивных клеток приходится на 1 ч гипоксии ($46,66 \pm 2,20$ клеток), а через 6 ч гипоксии падает ($2,11 \pm 0,63$ клетки) в сравнении с контролем ($11,88 \pm 0,84$ клеток). Таким образом, экспериментальная гипоксия у морского гребешка вызывает увеличение количества uNOS-иммунопозитивных клеток, которое достигает своего максимума в течение часа, тогда как дальнейшее воздействие приводит к уменьшению количества и полному отсутствию uNOS-иммунопозитивных клеток в висцеральном ганглии после 12 ч гипоксии (рис. 1, з).

В последние десятилетия все большее число сообщений свидетельствует о том, что оксид азота участвует в реакциях на стресс как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных [28]. Активация NO-ергической системы представляет собой универсальное следствие воздействия на организм

разнообразных экстремальных агентов и лежит в основе устойчивости и адаптационных возможностей организмов к различным факторам среды [28, 12]. Вместе с тем недавние исследования на моллюсках выдвигают на первый план основную функцию NO – улучшение перфузии тканей при гипоксии [22, 29], что является механизмом толерантности к дефициту кислорода в окружающей среде.

Как известно в настоящее время, увеличение продукции оксида азота может быть связано либо с развитием компенсаторных механизмов, направленных на поддержание аэробных процессов, либо с переключением на анаэробные пути метаболизма [14]. Согласно последним исследованиям, NO играет ключевую роль в процессе снижения скорости метаболизма у некоторых видов беспозвоночных и переходе их в состояние анабиоза (например, гибернацию) или при воздействии гипоксических или аноксических условий окружающей среды (например, в приливных и сублиторальных местообитаниях) [22]. Известно, что гипоксия индуцирует экспрессию оксида азота в NO-ергических нейронах устойчивых к гипоксии митилид, где NO участвует в торможении митохондриальной дыхательной цепи и переключении нейронов с аэробного дыхания на гликолиз при снижении концентрации внутриклеточного кислорода, что сводит к минимуму производство активных форм кислорода в клетке [29, 30]. Эти данные подтверждены экспериментальными исследованиями молекулярных механизмов устойчивости к гипоксии у митилид [14, 30] и *Arctica islandica* [29]. По нашим данным, у *A. farreri*, в отличие от митилид, uNOS в висцеральном ганглии незначительно увеличивается при гипоксии. Этот факт контрастирует с высокой NO-ергической активностью в ганглиях [12], мышечных клетках и гемолимфатических сосудах жаберных лепестков митилид как в контрольных условиях, так и при воздействии гипоксии [22]. Значительные различия в экспрессии NO между этими видами двустворчатых моллюсков могут быть связаны с их разными стратегиями экологической адаптации и образом жизни. В приливной зоне мидии подвергаются гипоксии и аноксии во время отлива, что требует быстрой метаболической адаптации при закрытии раковины [29]. У *M. edulis* зависимость от pO_2 генерация NO является ключевым механизмом, позволяющим противостоять быстрым колебаниям O_2 в окружающей среде [22]. Активные гребешки, в отличие от малоподвижных видов моллюсков, менее приспособлены к гипоксии. Тем не менее они способны к «реакции избегания». Сравнительные исследования дыхательного метаболизма и активности окислительных ферментов у двустворчатых моллюсков свидетельствуют, что, в отличие от *Mytilus sp.*, которые характеризуются постепенным снижением метаболизма и переходом на анаэробные пути, у *P. maximus* в начальный период гипоксии отмечено ускорение процессов вентиляции мантийной полости, увеличение частоты дыхания и сердечных сокращений, что приводит к усилению

циркуляции гемолимфы для поддержания аэробного метаболизма [31].

По сравнению с *P. maximus* гребешок *A. farreri* проявляет меньшую способность регуляции дыхания [32]. Даже в случае наиболее сильного воздействия гипоксии частота сердечных сокращений у морских гребешков *A. farreri* была лишь незначительно снижена. По данным Ли и соавторов [32], у морских гребешков сильно активируется лактатдегидрогеназа при уменьшении содержания кислорода, что может привести к избыточному накоплению лактата и, возможно, к гибели этих моллюсков в условиях гипоксии. Таким образом, индуцированное гипоксией у *A. farreri* незначительное увеличение uNOS-ергической активности в некоторых нейронах висцерального ганглия, жаберных, осфрадиальных и мантийных нервах, вероятно, отражает их роль в регуляции газообмена, осморегуляции и активации компенсаторных реакций при кратковременной гипоксии.

Роль ацетилхолина

Ацетилхолин (ACh) – один из наиболее важных нейротрансмиттеров у моллюсков. Несмотря на то, что иммуногистохимическая локализация ацетилхолин-синтезирующих нейронов мало изучена у двустворчатых моллюсков, многие показатели нейротрансмиссии ACh, характерные для позвоночных, были также обнаружены у моллюсков. Биохимические и гистохимические исследования продемонстрировали наличие фермента, синтезирующего ацетилхолин – холинацетилтрансферазу (ChAT) и разлагающего его фермента – ацетилхолинэстеразу (AChE) у разных таксономических групп моллюсков [33]. В физиологических условиях в висцеральном ганглии гребешков *A. farreri* идентифицированы немногочисленные крупные ChAT-иммунопозитивные нейроны в центральной части дорсо-центральных долей (рис. 2, а), где располагаются тела мотонейронов, иннервирующие аддуктор [34]. В вентро-центральных долях ChAT-иммунопозитивные нейроны образуют небольшие группы (рис. 2, а, б, в). Участие ацетилхолина в регуляции мышечных сокращений установлено у брюхоногих моллюсков [35]. А также холинергические мотонейроны идентифицированы у крылоногих моллюсков и осьминога [36]. Мотонейроны брюхоногих моллюсков могут быть вовлечены в центральные звенья сразу нескольких рефлексов и выполнять несколько функций.

Хотя ферменты, участвующие в метаболизме ACh, ChAT и AChE, не зависят от кислорода, известно, что у млекопитающих ишемия и гипоксия могут ухудшить холинергические функции либо за счет уменьшения доступности ацетил-коэнзима а либо путем ингибирования энергозависимого поглощения холина (Ch) [37].

При экспериментальной гипоксии наблюдается зависимость уровня ChAT-иммунореактивности в различных отделах висцерального ганглия от времени воздействия гипоксии. Количественная оценка ChAT-иммунопозитивных нейронов свидетельствовала об

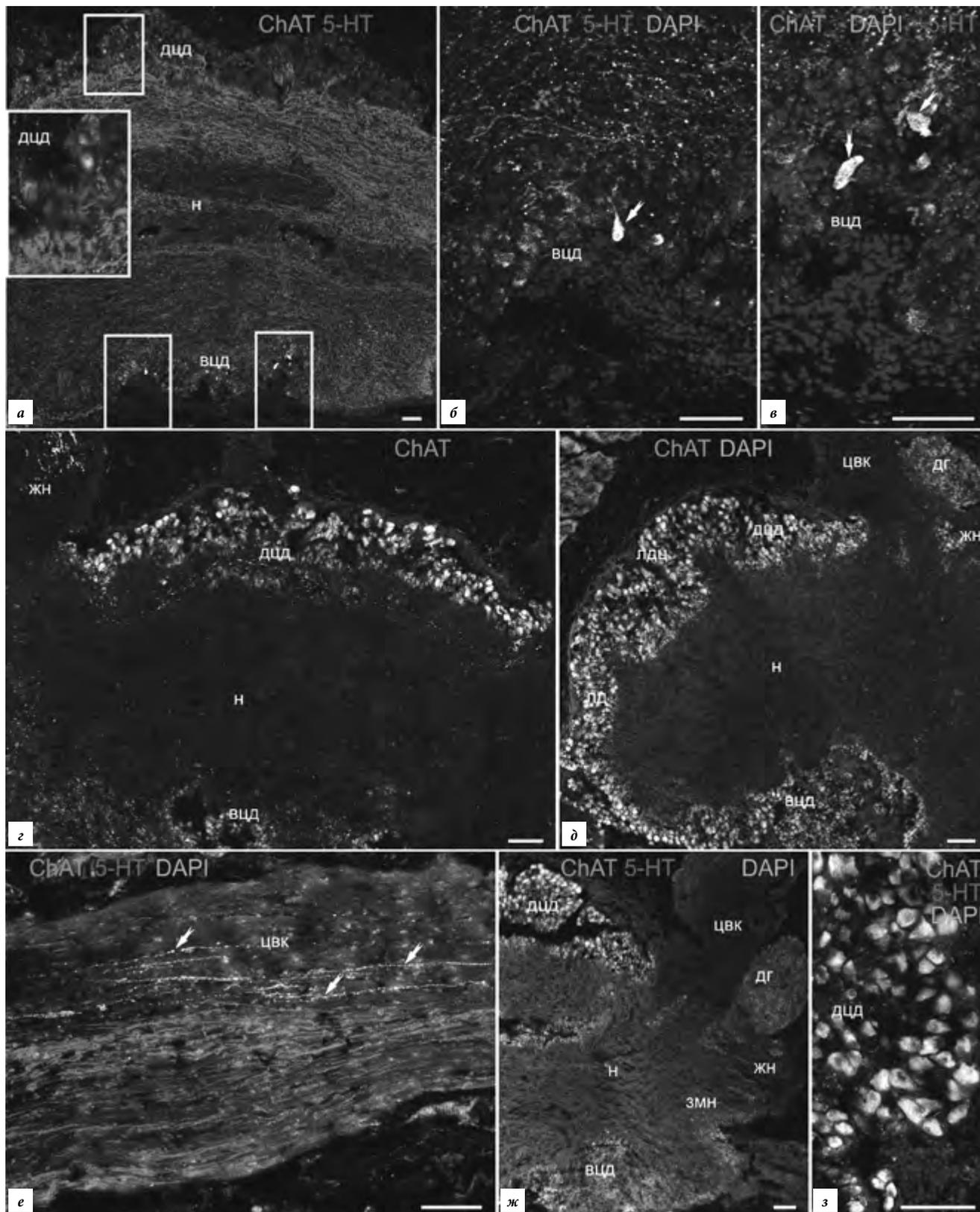


Рис. 2. Распределение 5-НТ- и ChAT-иммунореактивности в висцеральном ганглии *A. fargesi* в контроле и при гипоксии: а, б, в – контроль, стрелками обозначены ChAT-иммунореактивные нейроны, г – гипоксия 1 ч, д – з – гипоксия 6 ч, стрелками обозначены 5-НТ – иммунореактивные волокна, и – гипоксия 6 ч. дцд – дорсо-центральная доля, ицдд – центральная часть дорсо-центральной доли, лдд – латеральная часть дорсо-центральной доли, вцд – вентроцентральная доля, лд – латеральная доля, н – нейропил, дг – добавочный ганглий, цвк – церебро-висцеральная коннектива, жн – жаберный нерв, змн – задние мантийные нервы. а – з – флуоресценция вторичных антител Alexa 488; а – в, е – з – флуоресценция вторичных антител Alexa 555; б, в, е, ж, з – ядра клеток докрашены DAPI. Мультифотонная сканирующая лазерная микроскопия. Масштаб 100 мкм.

увеличении доли нейронов во всех отделах висцерального ганглия через 1 ч воздействия гипоксии ($11,66 \pm 0,56\%$) и еще большем возрастании через 12 ч ($50,30 \pm 2,21\%$) по сравнению с небольшим количеством нейронов в контроле ($2,52 \pm 0,22\%$). При 1 ч гипоксии ChAT-иммунореактивность значительно увеличивается в центральной части дорсо-центральных долей (рис. 2, г), что предполагает участие ACh в регуляции сокращений аддуктора у *A. farreri*. После 6 ч гипоксии экспрессия ChAT обнаружена в латеральной части дорсо-центральной доли висцерального ганглия (рис. 2, д), где расположены мотонейроны, контролирующие координированные движения края мантии [34]. Кроме того, маркировались многочисленные нейроны в вентро-центральных и латеральных долях и добавочных ганглиях и нервные волокна (рис. 2, д–з). Функция ChAT-позитивных нейронов вентро-центральных долей у *A. farreri* остается неизвестной. Латеральные доли традиционно считаются функционально оптическими долями. Ранее сообщалось, что они участвуют в обработке сенсорной информации от глаз, расположенных по краю мантии [38]. При исследовании оптических долей раков самые высокие концентрации ACh были обнаружены в зрительных интернейронах [39]. Двойное иммуномечение показало, что в висцеральном ганглии гребешка экспериментальная гипоксия приводила к увеличению ChAT-иммунореактивных нейронов и уменьшению 5-НТ-иммунореактивности в нервных волокнах, кроме периферических (рис. 2, а–д, ж, з). В церебровисцеральных коннективах ChAT- и 5-НТ-иммунопозитивные волокна не сококализованы, а располагаются параллельно друг другу (рис. 2, е).

При гипоксии ChAT экспрессируется в добавочных ганглиях, эти ганглии участвуют в иннервации половых желез у моллюсков. Ранее рецепторы к ацетилхолину были идентифицированы в половых железах гребешка *Pecten maximus*, и было установлено, что ACh может участвовать в развитии гонад у гребешка [33]. Исследования рецепторов к ACh в жабрах гребешка показали, что ацетилхолин принимает участие в регуляции моторной активности ресничек в жаберных пластинках [33]. Имеются материалы, которые свидетельствуют, что ацетилхолин может быть как положительным, так и отрицательным модулятором активности ресничек в жабрах, причем этот эффект зависит от его концентрации. ChAT также был идентифицирован в осфрадальных нервах, иннервирующих осфрадии, которые участвуют в контроле качества воды и реагируют на изменение солёности, осмотического давления, гипоксию и различные химические вещества. Механизмы активации ChAT и ее функциональная роль в ганглиях моллюсков изучены недостаточно. Активность ацетилхолинэстеразы (AChE) в периферических органах и тканях двусторчатых моллюсков давно используется в качестве чувствительного биомаркера для мониторинга морской среды при антропогенном загрязнении [40]. В частности,

у двусторчатых моллюсков, подвергшихся воздействию пестицидов, тяжелых металлов и других поллютантов, было обнаружено значительное снижение активности и экспрессии AChE в таких органах, как аддукторная мышца, мантия, жабры, гепатопанкреас, почки и гонады [40]. При таких воздействиях ингибирование активности AChE вызывает накопление ацетилхолина в синапсах, что приводит к значительным физиологическим нарушениям, связанным с питанием и фильтрацией [41]. Не исключено, что повышение ChAT-иммунореактивности в висцеральном ганглии *A. farreri* при 12 ч гипоксии связано с кратковременным повышением холина (Ch).

Известно, что у позвоночных животных 10-минутная полная ишемия (двусторонняя окклюзия сонной артерии) может вызывать накопление холина в нервных клетках [42]. В холинергических нейронах фосфолипиды, содержащие холин, представляют собой крупный источник Ch, который потенциально может быть использован для синтеза ацетилхолина. Сравнительно недавно установлено, что холин защищает мозг млекопитающих от ишемического инсульта [43]. Кроме того, в экспериментах показано, что у трансгенных мышей с высоким уровнем ChAT в кардиомиоцитах уровень экспрессии ацетилхолина при ишемии выше, чем у мышей дикого типа. Также было установлено, что высокий уровень ACh влияет на энергетический обмен в кардиомиоцитах и является ключевым механизмом защиты от ишемии [44].

Роль FMRF-амида

FMRF-амид-подобные пептиды (FMRF-амид) идентифицированы у всех основных типов животных, от кишечнополостных до млекопитающих [45]. К настоящему времени установлено, что они участвуют у моллюсков в регуляции сердечно-сосудистой системы, модуляции мышечного сокращения, контроле двигательной активности и в регуляции водного баланса [46]. У морских гребешков распределение FMRF-амида в нейронах во всех долях висцерального ганглия, в добавочных ганглиях и нервах (рис. 3, а, б, в) отражает их роль в регуляции физиологических функций. Присутствие FMRF-амида в мотонейронах дорсо-центральных долей свидетельствует об участии FMRF-амида в регуляции мышечных сокращений. В ряде исследований показано присутствие FMRF-амида в нервно-мышечных соединениях и аддукторных мышцах моллюсков [47]. Кроме того, известно, что FMRF-амид играет также кардиорегуляторную роль у двусторчатых моллюсков [47]. В физиологических условиях у гребешка *A. farreri* FMRF-амид-иммунореактивность зарегистрирована в латеральных долях висцерального ганглия (рис. 3, б, в), которые, как сообщалось ранее, участвуют в обработке зрительной информации от глаз, расположенных по краю мантии [38]. Было установлено, что FMRF-амид присутствует в оптической доле кальмара *Loligo pealei*, а также в нескольких центрах ЦНС у *Octopus vulgaris*, где он вносит

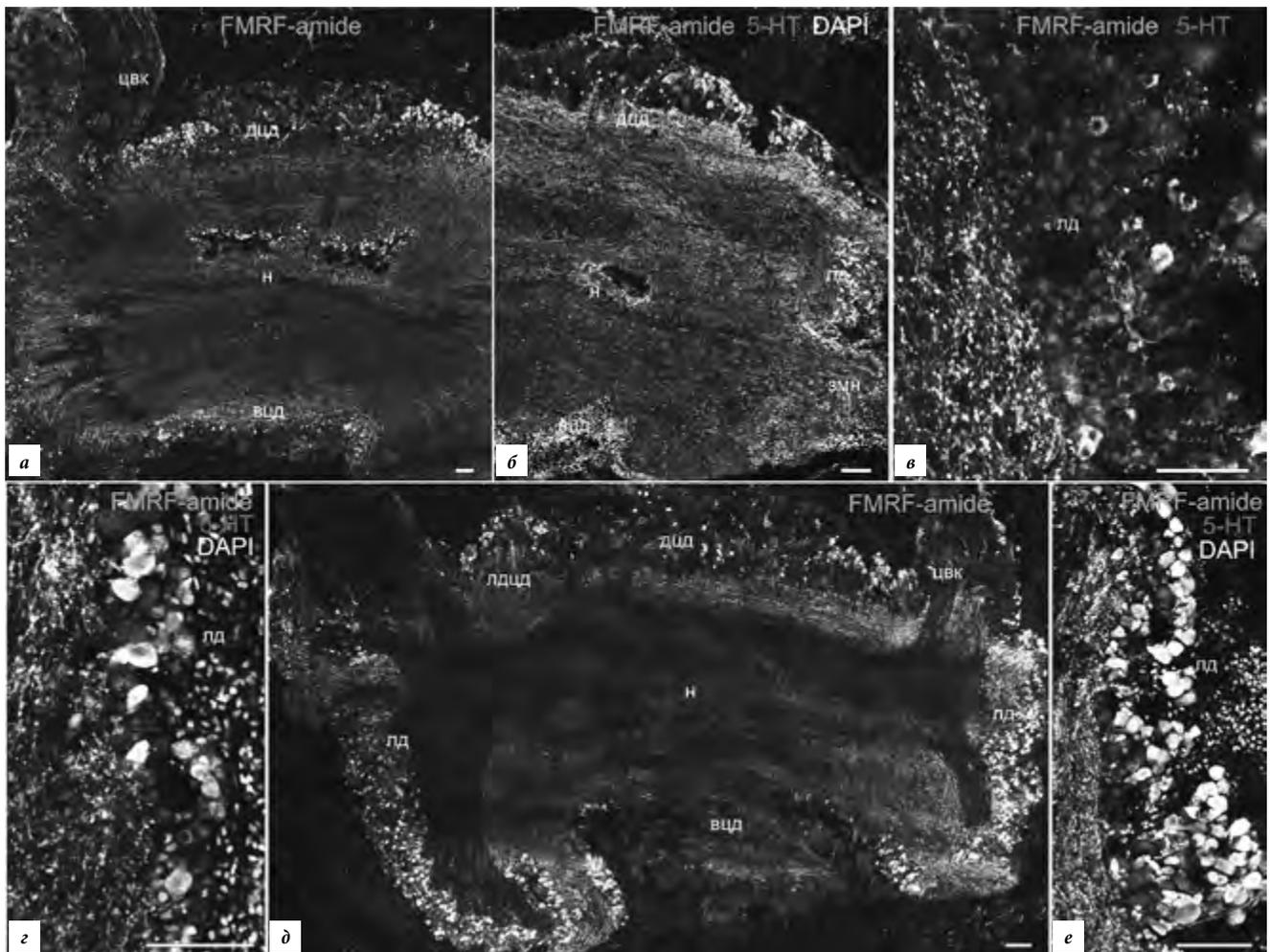


Рис. 3. Распределение 5-HT- и FMRFамид-иммунореактивности в висцеральном ганглии *A. farreri* в контроле и при гипоксии: а, б – контроль, в – гипоксия 1 ч, д, е – гипоксия 12 ч.

дцд – дорсо-центральная доля, лд – латеральная доля, н – нейротиль, дг – добавочный ганглий, цвк – церебро-висцеральная коннектива, жн – жаберный нерв, змн – задние мантийные нервы. а – е – флуоресценция вторичных антител Alexa 488; б, в, г, д, е – флуоресценция вторичных антител Alexa 555, б, г, е – ядра клеток докрашены DAPI. Мультифотонная сканирующая лазерная микроскопия. Масштаб 100 мкм.

свой вклад в обработку обонятельных, химических и зрительных сигналов. Стимуляция изолированной сетчатки глаз *O. vulgaris* показала, что FMRF-амид в сочетании с дофамином индуцирует экстремальную световую адаптацию сетчатки при освещении [48]. В зрительном нерве морского брюхоногого моллюска *Bulla goldiana* некоторые эфферентные волокна также содержат FMRF-амид.

FMRF-амид-иммунореактивные волокна идентифицированы в жаберных нервах и жабрах у нескольких видов моллюсков, как взрослых, так и личинок. В этих органах FMRF-амид оказывает стимулирующее и ингибирующее действие на частоту биений ресничек [23], что указывает на участие FMRF-амида в регуляции дыхания. Высокая активность FMRF-амида регистрировалась в осфрадиальных нервах, иннервирующих осфрадии. Имеются свидетельства того, что FMRF-амид, оказывает антидиуретическое действие и участвует в осморегуляции [49]. В экспериментах показано, что в различных осмотических

условиях уровень FMRF-амида в ЦНС, гемолимфе и почках у моллюска *Melampus bidentatus* варьировал: в гиперосмотических условиях он был выше, чем в гипоосмотических [49]. Также установлено, что уровень FMRF-амида возрастал в ЦНС, гемолимфе и почках при увеличении потери воды.

При экспериментальной гипоксии у *A. farreri* количество FMRF-амид-положительных клеток оценить сложно, так как пептид экспрессируется в большом количестве нейронов во всех отделах висцерального ганглия как при 1 ч, так и при 12 ч гипоксии (рис. 3, г-е). Количественная оценка (процента иммуно-положительных клеток по отношению к общему числу клеток в ганглии) показала, что число FMRF-амид-положительных нейронов увеличилось в дорсо-центральных долях при 1 ч гипоксии, а в латеральных и центральных отделах при 12 ч аноксии (контроль $32,94 \pm 1,97\%$; 1 ч аноксии $45,99 \pm 1,87\%$; 12 ч воздействия аноксии, $42,62 \pm 1,97\%$). Известно, что при стрессовых воздействиях уровень FMRF-амида увеличивается

у беспозвоночных [49]. Однако в настоящее время нам известна одна работа об участии FMRF-амида в адаптации к гипоксии у ракообразных [50], где показаны динамические изменения содержания этих нейропептидов у краба *Callinectes sapidus*, при различной степени тяжести гипоксии.

Приведенные материалы свидетельствуют, что гипоксия у морских гребешков *A. farreri* вызывает изменения экспрессии нейротрансмиттеров (пептида FMRF-амида и моноамина 5-НТ) и ферментов (ChAT и uNOS), участвующих в синтезе ацетилхолина и NO в висцеральном ганглии. По нашим данным, локализация и уровень синтеза тестируемых нейромолекул, а также количество экспрессирующих эти молекулы клеток в ЦНС морского гребешка в условиях аноксии меняются, что указывает на их возможное участие в механизмах устойчивости к гипоксии. Обнаруженные эффекты снижения уровня 5-НТ и uNOS иммунореактивности и увеличения числа ChAT-позитивных клеток после 12 ч гипоксии могут быть связаны с высвобождением, деградацией и/или накоплением этих ферментов, что позволяет предположить различные физиологические роли, которые они играют у моллюсков в стрессовых условиях. Таким образом, увеличение количества ChAT-позитивных нейронов в висцеральном ганглии можно объяснить кратковременным повышением в них холина, что свидетельствует о важной роли холинергической системы ЦНС в ответе на гипоксию. Особого внимания заслуживают вариации количества 5-НТ, ChAT, uNOS и FMRF-амида в некоторых нейронах висцерального ганглия, брахиальных, осфрадиальных и мантийных нервах, что, вероятно, отражает их ключевую роль в регуляции газообмена, кардиорегуляции, осморегуляции и активации компенсаторных реакций у морских гребешков при кратковременной гипоксии.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: работа выполнена за счет средств Российского научного фонда (Грант № 21-74-30004).

Литература / References

- Spicer J.I. What can an ecophysiological approach tell us about the physiological responses of marine invertebrates to hypoxia? *J. Exp. Biol.* 2014;217:46–56.
- Lacoste A., Jalabert F., Malham S. K., Cuffe A., Poulet, S.A. Stress and stress-induced neuroendocrine changes increase the susceptibility of juvenile oysters (*Crassostrea gigas*) to *Vibrio splendidus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67:2304–2309.
- Черток В.М., Реутов В.П., Охотин В.Е. Павел Александрович Мотавкин – человек, педагог, ученый. *Тихоокеанский мед. журнал.* 2012;3:7–8. [Chertok V.M., Reutov V.P., Okhotin V.E. Pavel Alexandrovich Motavkin - a person, pedagogue, researcher. *Pacific Medical Journal.* 2012;(2):7–8. (In Russ).]
- Анникова Л.В., Пименова Е.А., Дюйзен И.В., Вараксин А.А. Локализация NO-ергических элементов в центральной нервной системе двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*// *Ж. эвол. биохим. физиол.* 2000; 36(5):452–457. [Annikova L.V., Pimenova E.A., Dyuzhen I.V., Varaksin A.A. Localization of NO-ergic elements in the central nervous system of the bivalve mollusk *Crenomytilus grayanus*. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2000;36(5):452–457. (in Russ).]
- Дюйзен И.В., Анникова Л.В., Мотавкин П.А. Локализация NO-синтазы в центральной нервной системе двустворчатых моллюсков *Mizuhopecten yessoensis* и *Modiolus kurilensis*. *Биол. моря.* 1999;25(3):243–245. [Dyuzhen, I.V.; Annikova, L.V.; Motavkin, P.A. NO-synthase localization in the central nervous system of the bivalve mollusks *Mizuhopecten yessoensis* and *Modiolus kurilensis*. *Russ. J. Mar. Biol.* 1999;25:277–279. (in Russ).]
- Мотавкин П.А., Вараксин А.А. *Гистофизиология нервной системы и регуляция размножения у двустворчатых моллюсков.* М.: Наука. 1983. 208 с. [Motavkin P.A., Varaksin A.A. *Histophysiology of the nervous system and regulation of reproduction in bivalves.* М.: Nauka. 1983. 208 p. (in Russ).]
- Мотавкин П.А., Хотимченко Ю.С., Деридович И.И. *Регуляция размножения и биотехнология получения половых клеток у двустворчатых моллюсков.* М.: Наука, 1990. 217 с. [Motavkin P.A., Khotimchenko Yu.S., Deridovich I.I. *Regulation of reproduction and biotechnology for obtaining germ cells in bivalve molluscs.* М.: Nauka. 1990. 217 p. (in Russ).]
- Annikova L.V., Dyuzhen I.V., Paltseva Y.N. Putative nitric oxide synthase containing nervous elements in male and female gonads of some marine bivalve mollusks revealed by NADPH-diaphorase histochemistry. *Invertebr. Reprod. Dev.* 2001;40:69–77.
- Пименова Е.А., Вараксин А.А. Локализация NO-ергических элементов в ротовых лопастях, губах и пищеводе двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*. *Ж. эвол. биохим. физиол.* 2003;39(5):476–481. [Pimenova E.A., Varaksin A.A. Localization of NO-ergic elements in the oral lobes, lips and esophagus of the bivalve mollusk *Crenomytilus grayanus* // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2003;39(5):476–481. (in Russ).]
- Коцюба Е.П. Влияние повышенной температуры и гипоксии на активность NO в центральной нервной системе двустворчатых моллюсков. *Ж. эвол. биохим. физиол.* 2008; 44(2):200–208. [Kotsyuba E.P. Effect of elevated temperature and of hypoxia on NO activity in the central nervous system of bivalve molluscs. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2008;44:237–246. (in Russ).]
- Коцюба Е.П. Влияние температурного стресса на активность NO-синтазы и тирозингидроксилазы в центральной нервной системе двустворчатых моллюсков. *Ж. эвол. биохим. физиол.* 2009;45(1):122–129. [Kotsyuba E.P. Influence of temperature stress on the activity of NO-synthase and tyrosine hydroxylase in the central nervous system of bivalves. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2009;45(1):122–129. (in Russ).]
- Vaschenko M.A., Kotsyuba E.P. NADPH-diaphorase activity in the central nervous system of the Gray mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker) under stress conditions: a histochemical study. *Mar. Environ. Res.* 2008;66:249–258.
- Wang L., Song X., Song L. The oyster immunity. *Dev. Comp. Immunol.* 2018; 80:99–118.
- Larade K., Storey K.B. A profile of the metabolic responses to anoxia in marine invertebrates. Cell and molecular response to stress 3: sensing, signaling and cell adaptation. Elsevier. Amsterdam, 2002. pp 27–46.
- Wu R.S.S. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses *Mar. Pollut. Bull.* 2002;45:35–45.
- Dakin W.G. The visceral ganglion of *Pecten*, with some notes on the physiology of the nervous system, and an inquiry into the innervation of the osphradium in Lamellibranchia. *Mitt.Zool. Stn.Neapel.* 1910;20:1–40.
- Alavi S.M.H., Nagasawa K., Takahashi K.G., Osada M. 'Structure-Function of Serotonin in Bivalve Molluscs. In Serotonin - A Chemical Messenger Between All Types of Living Cells. InTech: London, UK, 2017; doi:10.5772/intechopen.69165.
- Stefano G.B., Aiello E. Histochemical localization of serotonin and dopamine in the nervous system and gill of *Mytilus edulis* (Bivalvia). *Biol. Bull.* 1975; 148:141–156.

19. Gainey L.F.J., Walton J.C., Greenberg M.J. Branchial musculature of a venerid clam: pharmacology, distribution, and innervations. *Biol. Bull.* 2003; 204:81–95.
20. Bredt D.S. Molecular characterization of nitric oxide synthase. In: Nitric oxide in the nervous system. London: Acad. Press, 1995; p.1–19.
21. Dong W., Liu Z., Qiu L., Wang W., Song X., Wang X., Li Y., Xin L., Wang L., Song L. The modulation role of serotonin in Pacific oyster *Crassostrea gigas* in response to air exposure. *Fish Shell. fish Immunol.* 2017; 62:341–348.
22. Gonzarlez P.M., Rocchetta I., Abele D., Rivera-Ingraham G.A. Hypoxically induced nitric oxide: potential role as a vasodilator in *Mytilus edulis* gills. *Front. Physiol.* 2019; 10:1–17.
23. Goldberg J.I., Rich D.R., Muruganathan S.P., Liu M.B., Pon J.R., Tam R., Diefenbach T.J., Kuang S. Identification and evolutionary implications of neurotransmitter–ciliary interactions underlying the behavioral response to hypoxia in *Lymnaea stagnalis* embryos. *J. Exp. Biol.* 2011; 214:2660–2670.
24. Fu X. W., Nurse C. A., Wong V., Cutz E. Hypoxia-induced secretion of serotonin from intact pulmonary neuroepithelial bodies in neonatal rabbit. *J. Physiol.* 2002; 539:503–510.
25. Beninger P.G., Donval A., Le Pennec M. The osphradium in *Placopecten magellanicus* and *Pecten maximus* (Bivalvia, Pectinidae): histology, ultrastructure, and implications for spawning synchronization. *Mar. Biol.* 1995; 123:121–129.
26. Palumbo A. Nitric oxide in marine invertebrates: a comparative perspective. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2005; 142:241–248.
27. Jiang, Q., Zhou, Z., Wang, L. Yue F, Wang J, Song L. A scallop nitric oxide synthase (NOS) with structure similar to neuronal NOS and its involvement in the immune defense // *PLoS One.* 2013; 8: e 869158.
28. Smith K.L., Galloway T.S., Depledge M.H. Neuro-endocrine biomarkers of population-induced stress in marine invertebrates. *Sci. Total Environ.* 2000; 262:185–190.
29. Strahl J., Abele D. Nitric oxide mediates metabolic functions in the bivalve *Arctica islandica* under hypoxia. *PLoS One.* 2020; 15: e0232360.
30. Letendre J., Le Boulenger F., Durand F. Oxidative challenge and redox sensing in mollusks: effects of natural and anthropic stressors. Oxidative stress in vertebrates and invertebrates: molecular aspects of cell signaling. Chpt. 26. New York: Wiley-Blackwell, 2012. p.361–376.
31. Artigaud S., Lacroix C., Pichereau V., Flye-Sainte-Marie J. Respiratory response to combined heat and hypoxia in the marine bivalves *Pecten maximus* and *Mytilus* spp. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2014; 175:135–140.
32. Li Q., Zhang F., Wang M., Li M., Sun S. Effects of hypoxia on survival, behavior, and metabolism of Zhikong scallop *Chlamys farreri* Jones et Preston 1904. *J. Ocean. Limnol.* 2020; 38: 351–363.
33. Shi X., Zhou Z., Wang L., Yue F, Wang M., Yang C., Song L. The immunomodulation of acetylcholinesterase in zhikong scallop *Chlamys farreri*. *PLoS One.* 2012; 7: e30828.
34. P.J. The sensitivity and control of the scallop mantle edge. *J. Exp. Biol.* 1978; 75:205–221.
35. Kiss T., Krajcs N., Pirger Z., Hernádi L. Nicotinic acetylcholine receptors containing the $\alpha 7$ -like subunit mediate contractions of muscles responsible for space positioning of the snail, *Helix pomatia* L. tentacle. *PLoS One.* 2014; 9:e109538.
36. Sakaue Y., Bellier J.P., Kimura S., D'Este L., Takeuchi Y., Kimura H. Immunohistochemical localization of two types of choline acetyltransferase in neurons and sensory cells of the octopus arm. *Brain Struct. Funct.* 2014; 219:323–341.
37. Simon J.R., Kuhar M.J. High-affinity choline uptake: ionic and energy requirements. *J. Neurochem.* 1976; 27:1355–1374.
38. Kingston A.C.N., Chappell D.R., Miller H.V., Lee S.J., Speiser D.I. Expression of G proteins in the eyes and parietovisceral ganglion of the bay scallop *Argopecten irradians*. *Biol Bull.* 2017; 233:83–95.
39. Wang-Bennett L.T., Glantz R.M. Immunocytochemical visualization of acetylcholine and glutamate in the brain and eyestalk of crayfish. *Sot. Neurosci. Abstr.* 1986; 12:243.
40. Lionetto M.G., Caricato R., Giordano M.E., Pascariello M.F., Marinosci L., Schettino T. Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Mar. Pollut. Bull.* 2003; 46:324–330.
41. Ravaschiere A., Cutler C., Edleson K., Halem Z., Magun H., Meckler F, Cox R. Quantification of heat shock protein 70 and acetylcholinesterase over a time course suggests environmental adaptation in a foundational molluscan species. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2017; 142:222–229.
42. Beley A., Bertrand N., Beley P. Cerebral ischemia: Changes in brain choline, acetylcholine, and other monoamines as related to energy metabolism. *Neurochem. Res.* 1991; 16:555–561.
43. Jin X., Wang R.H., Wang H., Long C.L., Wang H. Brain protection against ischemic stroke using choline as a new molecular bypass treatment. *Acta Pharmacol. Sin.* 2015; 36:1416–1425.
44. Kakinuma Y., Tsuda M., Okazaki K., Akiyama T., Arikawa M., Noguchi T., Sato T. Heart-specific over expression of choline acetyltransferase gene protects murine heart against ischemia through hypoxia-inducible factor-1 α -related defense mechanisms. *J. Am. Heart. Assoc.* 2013; 2: e004887.
45. Krajniak K.G. Invertebrate FMRFamide related peptides. *Protein Pept. Lett.* 2013; 20: 647–670.
46. Zatylny-Gaudin C, Favrel P. Diversity of the RFamide peptide family in mollusks. *Front. Endocrinol.* 2014; 5:178. doi:10.3389/fendo.2014.00178.
47. Lopez-Vera E., Aguilar M.B., Cotera E.P.H. FMRFamide and related peptides in the phylum *Mollusca*. *Peptides.* 2008; 29: 310–317.
48. Di Cosmo A., Di Cristo C. Neuropeptidergic control of the optic gland of *Octopus vulgaris*: FMRF-amide and GnRH immunoreactivity. *J. Comp. Neurol.* 1998; 398:1–12.
49. Khan H.R., Price D.A., Doble K.E., Greenberg M.J., Saleuddin A.S.M. Osmoregulation and FMRFamide-related peptides in the salt marsh snail *Melampus bidentatus* (Say) (Mollusca: Pulmonata). *Biol. Bull.* 1999; 196:153–162.
50. Buchberger A.R., DeLaney K., Liu Y., Vu N.Q., Helfenbein K., Li L. Mass spectrometric profiling of neuropeptides in *Calinectes sapidus* during hypoxia stress // *ACS Chem. Neurosci.* 2020; 11:3097–3106.

УДК [616.988:602.6]:616.83

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-46-55

Вирусные векторы в трансгенных исследованиях: перспективы использования для лечения болезней ЦНС и генной терапии

Е.В. Пущина, И.А. Капустянов, А.А. Вараксин

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток, Россия

Вирусные переносчики представляют большой клинический интерес из-за их высокой эффективности, позволяющей находить практическое применение в генной терапии. В обзоре приводятся современные данные исследований на различных видах рыб в качестве потенциальных моделей для использования вирусных векторов. В ходе изучения высокопроизводительных аденовирусных векторов получены данные об устойчивой экспрессии трансгенов в организме *Danio rerio* и других видов рыб. Рассмотрены особенности применения аденоассоциированных векторов в исследовании транснейронального переноса белка глюкокоронидазы в проекционных нейронах вентральной тегментальной области и стриатума для лечения метаболической недостаточности при мукополисахаридозе VII. Принимая во внимание широкий репертуар генетически модифицированных линий *Danio rerio*, этические аспекты и допустимость этой модели в нейрогенных исследованиях, очевидно, что *Danio rerio*, как и другие виды рыб, могут быть альтернативой для ранней стадии доклинической оценки эффективности вирусных векторов.

Ключевые слова: аденовирус, генный таргетинг, *Danio rerio*, генная терапия, вентральная тегментальная область, глюкокоронидаза

Поступила в редакцию 08.02.2022. Получена после доработки 21.02.2022. Принята к печати 25.02.2022.

Для цитирования: Пущина Е.В., Капустянов И.А., Вараксин А.А. Вирусные векторы в трансгенных исследованиях: перспективы использования для лечения болезней ЦНС и генной терапии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;1:46–55. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-46-55

Для корреспонденции: Пущина Евгения Владиславовна – д-р биол. наук, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории Клеточной дифференциации Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17); ORCID: 0000-0003-0388-3147; e-mail: puschina@mail.ru

Viral Vectors in Transgenic Research: Prospects for the Treatment of CNS Diseases and Gene Therapy

E. V. Pushchina, I. A. Kapustyanov, A. A. Varaksin

A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

Summary: Viral vectors are of great clinical interest due to their high efficiency, which allows them to find practical applications in gene therapy. The review presents current research data on various fish species as potential models for the use of viral vectors. During the study of high-performance adenoviral vectors data on the stable expression of transgenes in the body of *Danio rerio* and other fish species was obtained. The features of the use of adeno-associated vectors in the study of transneuronal transfer of the glucuronidase protein in the projection neurons of the ventral tegmental area and striatum to treat metabolic insufficiency in case of mucopolysaccharidosis VII are considered. Taking into consideration the wide set of genetically modified *Danio rerio* strains, ethical aspects, and the acceptability of applying this model in neurogenic studies, it is clear that *Danio rerio*, as well as other fish species, can be used as an alternative for early preclinical evaluation of the efficiency of viral vectors.

Keywords: adenovirus, gene targeting, *Danio rerio*, gene therapy, ventral tegmental area, glucuronidase

Received 08 February 2022; Revised 21 February 2022; Accepted 25 February 2022

For citation: Pushchina E.V., Kapustyanov I.A., Varaksin A.A. Viral Vectors in Transgenic Research: Prospects for the Treatment of CNS Diseases and Gene Therapy. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:46–55. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-46-55

Corresponding author: Evgeniya V. Pushchina, PhD of Biological Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Cellular Differentiation A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences (17 Palchevsky St., Vladivostok, 690041, Russian Federation); ORCID: 0000-0003-0388-3147; e-mail: puschina@mail.ru

Вирусные векторы обеспечивают универсальную систему переноса генов млекопитающих и широко используются не только в клинических исследованиях генной терапии [1], но и в фундаментальных [2]. Недавние изыскания показали, что они могут быть эффективными инструментами для внедрения чужеродных генов через гомологичные рекомбинации [3].

Аденовирус (Ad) эффективно вводит двуцепочечную ДНК в клетки, экспрессирующие вирусный и аденовирусный рецептор Коксаки (CAR), но при этом не интегрируется в геном хозяина [4]. Хелпер-зависимые аденовирусные векторы с удаленным вирусным геномом обладают низкой цитотоксичностью и поэтому могут быть использованы при более высоких

инфекционных титрах. Расширенная способность клонирования вспомогательных аденовирусов облегчает высокоэффективную репарацию генов с помощью гомологичной рекомбинации в мышинных эмбриональных стволовых клетках и эмбриональных стволовых клетках приматов [5, 6].

Другой тип представляет аденоассоциированный вирус (AAV), который способен внедряться в одноцепочечную ДНК клеток с низкой частотой интеграции в геном хозяина [1, 2], также является перспективным вектором для генного таргетинга и используется для коррекции доминирующей мутации в мезенхимальных стволовых клетках у пациентов с несовершенным остеогенезом [7].

В недавних исследованиях установлена эффективность инфекции переносчиков вирусов млекопитающих, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов и лентивирусов к клеточной линии Сертоли и эмбриональной клеточной линии данио *Danio rerio* [8]. Среди протестированных вирусных векторов аденовирусы показали наиболее высокую эффективность инфекции в клетках данио *D. rerio* [9]. Аденовирусный переносчик был также инфицирован в соматической линии клеток семенника медаки *Oryzias latipes*, которая создавалась на основе p53-дефицитных мутантов [10]. В этих исследованиях было обнаружено, что Ads могут успешно инфицировать культивируемые эмбриональные клетки данио. Таким образом, из результатов исследований видно, что аденовирусный вектор может быть использован в качестве хромосомно-неинтегрируемой векторной системы в клетки *D. rerio* [11].

В последние несколько десятилетий для изучения развития позвоночных появились две удобные генетические системы на моделях телеостей: данио *D. rerio*, у которого успешно был осуществлен крупномасштабный химический мутагенез [11], и медаки *O. latipes* с долгой историей использования в генетических экспериментах, где было установлено множество спонтанных и индуцированных мутаций [12]. Значительные достижения были получены, в частности, при культивировании мужских зародышевых клеток, и трансплантации ядра, как в клетки данио [8,9], так и медаки [10, 13]. Результаты этих исследований показали, что некоторые из данных методов позволяют передавать генетические изменения зародышевой линии. Очевидно преимущество от использования подобной методологии в дальнейшем, однако с ограничениями систем, которые могли бы успешно и эффективно ввести чужую, способную рекомбинировать с эндогенными гомологичными последовательностями, ДНК в модельные организмы. Такие методы пока находятся в состоянии разработки, хотя некоторые из упомянутых выше вирусных векторов, вероятно, подойдут для подобных целей несмотря на то, что ранее они не были доступны для использования на моделях рыб.

Чтобы разработать неинтеграционную вирусную векторную систему для рыб, проводили оценку

эффективности инфекции Ad и AAV векторов в клетках данио на основе лентивирусных векторов. Результаты показали, что Ad вектор может быть использован для внедрения чужеродного гена в клетки данио с гораздо большей эффективностью, чем лентивирусные векторы [14]. Кроме того, Ad векторы эффективно заражают не только соматические клетки медаки, но и сперматозоиды, и сперматоциты данио *in vitro* с низкой эффективностью. Установлено, что Ad вектор млекопитающих может инфицировать клетки как данио, так и медаки [14]. Таким образом, была обоснована возможность применения данной векторной системы, по крайней мере на данио, хотя ее эффективность по-прежнему в 1000 раз ниже, чем в клеточной линии эмбриональных фибробластов мыши. С помощью GFP репортера была обнаружена вирусная инфекция, однако, вполне возможно, что ее эффективность недооценивается из-за низкой флуоресценции или отсутствия экспрессии GFP. По этой причине CMV промотор, широко используемый в клетках млекопитающих, не может эффективно применяться для клеток данио. В действительности, в подобных экспериментах наблюдались мозаичные узоры экспрессии CMV промотор-усиленного GFP трансгенных данио и низкие уровни экспрессии GFP в клетках, инфицированных небольшим количеством Ad векторов [15]. Использование более эффективного промотора и более чувствительного метода обнаружения, в частности мониторинга Cre-экспрессии Ad вектора или количественных ПЦР, скорее всего, позволит более точно оценивать эффективность вирусной трансдукции.

В отличие от инфицирования с помощью Ad, в популяции клеток данио было получено меньше, чем ожидалось GFP-положительных клеток, инфицированных вирусом везикулярного стоматита G (VSV-G) на основе лентивируса [16]. Было установлено, что ретровирус MoMLV-VSV-G, имеющий тот же белок оболочки, инфицирует значительно эффективнее и облегчает мутагенные вставки в клетки данио [17]. Следовательно, маловероятно, что низкая эффективность лентивируса является результатом связывания поверхности клетки [18]. Чтобы в будущем использовать интеграз-дефектный лентивирус, необходимо будет определить внутри- и межклеточные процессы, которые происходят после связывания в клетках данио или медаки. Результаты этих исследований показали, что эффективность Ad-инфекции сильно варьирует между клетками данио и медаки [14]. Ads инфицируют клетки данио в несколько сотен раз эффективнее, чем клетки медаки, тем не менее, эффективность инфицирования клеток медаки многократно усиливается при использовании магнитных частиц.

Важные данные были добыты при определении гомолога гена рецептора Коксаки (CAR) мыши в базе данных данио (73,1% идентичности), но высокая идентичность с генами мыши не характерна для генов медаки [14]. Известно, что линия клеток радужной

форели CHSE-214 имеет более высокий тропизм к Ad, чем другие линии клеток карпа, белого осетра, толстоголового пескаря, морского окуня и тилапии, и обладает высокой гомологией CAR, что необходимо для присоединения Ad [19]. Тропизм к Ad, вероятно, имеет видо-специфический характер. Хотя рецептор у медаки, связывающий Ad, неизвестен. Более низкая эффективность инфекции для Ad вируса у медаки может быть вызвана низким сродством к Ad млекопитающих и/или низким уровнем экспрессии рецептора. Таким образом, в будущем представляет интерес определить, повышает ли эффективность Ad инфекции у данио, и медаки введение гена CAR млекопитающих [14].

Есть несколько сообщений, в которых мужские зародышевые клетки мышей были признаны устойчивыми к инфекции Ad в отличие от клеток Сертоли, при введении Ad вирусов в семенные каналцы [20, 21]. Даже в условиях культуры клеток после прямого воздействия на зрелую сперму мыши *in vitro* Ad векторами наблюдались признаки инфекции [20]. Однако недавно получены сведения об успешной трансдукции сперматогенных стволовых клеток Ad векторами с помощью метода высокой чувствительности [21]. Расхождения могут быть обусловлены стадиями развития, на которых мужские половые клетки были инфицированы вирусами. Необходимо учитывать, что мужские половые клетки теряют способность к инфицированию Ad вирусом во время развития [20]. Согласно другим данным сперматогонии и сперматоциты данио могут быть инфицированы Ad переносчиками *in vitro*, но при этом инфицирована лишь небольшая часть сперматогоний и ни одного сперматозоида [22]. Впрочем, пока нет сведений о способностях сперматогоний к инфицированию вирусом у данио, тем не менее, вполне возможно, что мужские зародышевые клетки постепенно теряют эту компетенцию во время эмбриогенеза. В контексте эффективного получения трансгенной спермы следует определить стадии, на которых эти клетки восприимчивы к вирусным инфекциям. Таким образом, есть необходимость проведения соответствующих анализов методом высокой чувствительности [21].

Недавно появились данные, что насекомые, не интегрирующие вектор бакуловируса, могут использоваться для трансдукции чужеродного гена в клетки данио [23] и медаки [24]. Наличие неинтегрируемых вирусных векторов будет способствовать внедрению двойной ДНК в клетки организмов эффективно и мягко. Это перспективные методологии, применяемые при выполнении генетических манипуляций не только для гомологичной рекомбинации, но и для доставки специфических генов, в частности, нуклеазы цинковых пальцев или Сте-рекомбиназы.

Вирусные векторы широко востребованы в области генной терапии, при клинических испытаниях, проводимых каждый год для лечения различных патологий человека, с использованием все большего числа фармакологических средств, одобренных регулирующими

органами [1, 25]. Однако доклиническое тестирование достаточно длительное и дорогостоящее, особенно на этапе развития [26]. В настоящее время общепринятым модельным организмом является мышь *Mus musculus* [27], но существуют немногочисленные исследования, в которых задействованы альтернативные модели, в частности *Danio rerio* для тестирования аденовирусных векторов *in vivo* [11]. В результате этих исследований были получены данные об эффективной трансдукции аденовирусных векторов E1/E3 при внутрочерепном введении эмбрионам *Danio rerio* [11]. Необходимо подчеркнуть, что вспомогательные (высокопроизводительные) аденовирусные векторы позволяют устойчиво экспрессироваться трансгену в организме *D. rerio*. Принимая во внимание широкий репертуар генетически модифицированных линий *D. rerio*, этические аспекты и допустимость этой модели в нейрогенных исследованиях, очевидно, что *D. rerio*, как и другие виды рыб, может быть эффективной альтернативой для ранней стадии доклинических оценок аденовирусных векторов [11, 14, 19].

Генная терапия направлена на лечение или профилактику различных заболеваний человека с помощью генетических материалов и разнообразных подходов [28]. На сегодняшний день существует несколько механизмов для введения желаемого генетического материала в клетку-мишень, таких как физические методы (электропорация, микроинъекция и т.д.), химические методы (невирусные векторы) и вирусные векторы [29]. Вирусные переносчики представляют большой клинический интерес из-за их высокой эффективности, особенно когда генетический материал предназначен для достижения ядра [28]. Аденовирус был одним из первых для адаптации в качестве вектора генной терапии [26]. Эти вирусы, с капсидами размером 100 нм и линейными двуцепочечными геномами ДНК около 36 Кб, обеспечивают генетическую стабильность и высокую эффективность внедрения в различные типы клеток [29]. Оказавшись внутри клетки, вирусные капсиды деградируют запрограммированным образом и встраивают геномы в ядро клетки-мишени, где они остаются в эписомальном состоянии [30]. Ранние версии векторов E1/E3 первого поколения являются полезными инструментами для генетической передачи *in vitro*, но их использование *in vivo* ограничено стратегией вакцинации из-за короткой продолжительности экспрессии трансгена [11]. В основном это связано с тем, что остаточная экспрессия вирусных генов в трансдуцированных клетках вызывает цитотоксические иммунные реакции [31]. В отличие от этого аденовирусные векторы третьего поколения, также известные как векторы высокой емкости (HC-AdV), лишены всех вирусных кодирующих генов, только сохраняя две cis-действующие последовательности: инвертированный концевой повтор (ITRs) и упаковочные сигналы (ψ) [31]. Помимо расширенной способности к клонированию, эти векторы могут длительное время поддерживать экспрессию трансгена *in vivo* в органах

смедленным клеточным циклом, таких как печень [25] или мозг [32].

В области нейробиологии Ад векторы используются для маркировки различных популяций нейронов [31, 33], отслеживания клона нервных клеток [30, 33] и модуляции функции нейронов [34].

Введение аденоассоциированного вируса в ядра тегмента мыши приводят к его широкому распространению в мозге и потенциальной коррекции нейрогенетических заболеваний

Аденоассоциированный вирусный вектор-опосредованный перенос нормальной ДНК может исправить метаболические дефекты в месте инъекции, но лечение всего мозга требует широко распространенной доставки нормального гена и/или белка. Современные методы требуют нескольких инъекций для широкого распространения вектора. Впрочем, некоторые векторы AAV могут транспортироваться по нейрональным путям, связанным с областью инъекции. Таким образом, таргетинг широко рассредоточенных систем в ЦНС может обеспечиваться путем рассеивания генов с ограниченного числа участков. Эта гипотеза была протестирована в вентральной тегментальной области (VTA), являющейся областью мезенцефалона с многочисленными эфферентными и афферентными проекциями [35]. Одна инъекция приводила к переносу генома вектора к участкам проекции в дистальных частях мозга. По сравнению с инъекциями в стриатум, инъекция VTA создавала более высокие уровни ферментов во многих областях мозга. После инъекции VTA наиболее широко распространялся вектор серотипа AAV-9, тем не менее, наблюдалась транспортировка и других серотипов AAV-Rh.10 и AAV-1.

Существует несколько серотипов доступных аденоассоциированных вирусов (AAV), каждый включает различные вирусные белки капсида и служит связующим звеном разных характеристик трансдукции в мозге [35, 36]. Некоторые серотипы AAV транспортируются по нейрональным проекциям инъекционного ядра [35, 36]. Было выдвинуто предположение, что инъекция транспортируемого вектора в мультипроекторный регион мозга приведет к широкому распространению терапевтического гена, тем самым осуществляя эффекты терапевтической коррекции в большом объеме нервной ткани с помощью одной инъекции [37].

Чтобы проверить это, AAV вводили в вентральную тегментальную область (VTA), группу ядер с дивергентными эфферентными и афферентными проекциями. Инъекции AAV-1, AAV-9, или AAV-Rh.10, экспрессирующих ДНК для лизосомального фермента – глюкокоронидазы (GUSB), в результате переноса генома на дистальных проекционных участках VTA. Кроме того, некоторые лизосомальные ферменты сами по себе могут быть транспортированы по нейрональным путям, и это приводит к доставке ферментов даже на более дальние расстояния в мозге [38]. Таким образом, два транспортных механизма в состоянии работать

синергетически, что заметно повышает эффект потенциальной терапевтической коррекции с помощью одной инъекции [35, 39]. AAV-9 приводил к увеличению числа трансдуцированных клеток во многих проекционных участках VTA и более высоким уровням экспрессии ферментов в мозге. Проекции из стриатума были менее обширны, чем из VTA, и инъекции того же объема AAV-9 в стриатуме перенесли мРНК только к стриатальным проекциям; гораздо меньше экспрессии фермента было выявлено при инъекции в стриатум по сравнению с инъекцией в VTA [35].

Чтобы проверить, в какой степени инъекция AAV в VTA может влиять на коррекцию патологии болезни, использовали мышиную модель заболевания лизосомального хранения мукополисахаридоза VII (MPS VII), вызванного мутациями в гене GUSB. При однократной инъекции AAV-9 GUSB в VTA животных MPS VII в результате коррекции лизосомального хранения во всех регионах мозга животные были обследованы через 2 месяца после инъекции.

В настоящее время установлено, что лечение с использованием векторов AAV требует от 50 до 350 инъекционных участков, чтобы достичь широкого распространения лизосомального фермента в мозге младенцев [40]. Для применения векторов в лечении метаболических расстройств должны быть разработаны особые стратегии генной терапии, при которых терапевтические ген или белок могут достичь всего мозга путем более ограниченного количества инъекций.

Лизосомальные ферменты транспортируются в некоторых аксональных путях в результате коррекции патологии заболевания в дистальных участках инъекции [38,39]. Однако области между инъекционным участком и дистальным участком доставки фермента посредством внутриклеточного транспорта по-прежнему имеют значительные лизосомальные хранилища [38], предполагая, что только ограниченный объем мозга может быть исправлен исключительно с помощью фермента транспорта.

Некоторые векторные серотипы AAV являются посредниками при переносе генома в ретроградном направлении [35]. Векторный транспорт AAV-9 приводит к увеличению распределения ферментов GUSB [36] по сравнению с исследованиями, в которых вектор не был транспортирован [35].

В ранних исследованиях применяли транспортные возможности AAV для достижения более широкого распространения вирусных векторов и ферментов [37, 38]. В таком случае предполагалось, что инъекция транспортируемого вектора в область с несколькими разнонаправленными проекциями может организовать транспорт вдоль этих проекций для распределения терапевтического гена в большем объеме мозга [39, 40]. VTA был выбран потому, что имеет ретро- и антероградные проекции к большинству областей мозга. Данные о ретроградных [41] и антероградных [42, 43] мишенях VTA свидетельствуют, что большинство проекционных областей является реципрокным.

Отчасти по этой причине было невозможно окончательно определить, в каком направлении осуществлялся транспорт. Однако инъекция AAV-1 или AAV-9 привела к идентификации вектор-положительных клеток в антероградных мишенях VTA в большей степени, чем при инъекции AAV-Rh.10 [37]. К тому же паттерн экспрессии вектор-положительных клеток после инъекции AAV-9 или AAV-1, похоже, соответствует антероградным паттернам [43], предполагая, что антероградный транспорт может способствовать наблюдаемому распределению. Нахождение вектора мРНК в телах клеток в области стриатарной антероградной проекции интересно, поскольку в антероградном направлении вектор свободно транспортируется и принимается местными клетками в составе антероградной проекции [41, 43]. Необходимы дополнительные исследования для определения механизма, в результате которого это происходит.

Особенности транспортировки генома вектора в дистальные нейроны пока не ясны. Знание скорости, с которой происходит транспортировка, может обеспечить понимание потенциальных механизмов использующих вектор [42]. При вхождении вектора AAV в клетку первым этапом становится избавление от оболочки для раскрытия генома AAV, после чего происходит повторный синтез ДНК вируса. Обнаружение мРНК в транс-индуцированных клетках – процесс, занимающий от нескольких дней до недели – зависит от используемого серотипа [44]. Ковалентное маркирование цианином-3 (Cy3) AAV векторов обеспечивает надежный способ отслеживания местоположения вирионов AAV в ранние периоды времени после инъекции [45]. Маркированный вектор Cy3 переносился к мишеням проекционных областей между 1 и 24 ч после инъекции. Частицы, маркированные Cy3, идентифицировались вне ядра в дистальных телах клеток, что может быть связано с задержкой, необходимой для ввода генетического материала в ядро [46].

Результаты генетического таргетинга Cy3 показали, что в течение 1 месяца мРНК определялись в большинстве регионов, тем не менее, сигнал Cy3 был выявлен не во всех проекционных зонах VTA, в частности GUSB мРНК не идентифицировался в миндалине [37]. Отсутствие сигнала на некоторых проекционных участках может отражать порог обнаружения частиц. В качестве альтернативной гипотезы можно предположить: поскольку механизм транспорта для этого вектора неизвестен, транспортировка вектора может занять больше времени в одних регионах, чем в других.

Частицы, маркированные Cy3, были обнаружены в коре, где в течение 1 месяца после инъекции не были выявлены мРНК [45]. Присутствие маркированных частиц вектора Cy3 в дистальных сайтах поддерживает идею о том, что транспортируется сам вектор, а не GUSB мРНК [46]. Таким образом, распространение в течение 24 часов после инъекции, допускает, что действует быстрый аксональный транспорт, при участии микротрубочек и других компонентов цитоскелета.

Векторы AAV, включая AAV-Rh.10, как было показано, связываются с микротрубочками, опосредованно взаимодействуя с динеином, чтобы облегчить проникновение в ядро [47]. Возможно, что ретроградный и антероградный аксональный транспорт векторов AAV также микротрубочко-зависимые процессы, осуществляемые с помощью молекулярных двигателей кинезина, который движется в антероградном направлении, или MAP-1C (микротрубо-ассоциированный белок 1C), который движется в ретроградном направлении [48].

Вектор AAV-9 был транспортирован в проекционные участки VTA и стриатум в разных количествах [47]. Это, вероятно, связано с особенностями проецирования в различные регионы VTA или стриатума или может быть обусловлено другими ограничениями на транспортировку, в частности, инъекционным областям может потребоваться минимальное количество проекционных волокон для обнаружения векторного транспорта. Два региона, которые получили несколько клеток от инъекции VTA, включают лобную кору и глубокие мозжечковые ядра, и эти регионы, как было установлено, имеют меньше проекционных волокон, чем другие регионы, такие как хабенула или спинной шов [43].

Способность фермента GUSB транспортироваться по нейрональным проекциям увеличивает потенциальное расстояние ферментативной коррекции от места инъекции [37]. Тем не менее по-прежнему существуют ограничения в степени коррекции, потому что фермент GUSB, как полагают, переносит только прямые проекции синтеза ферментов клеткой. Пределы распространения ферментов в мозге очевидны после инъекции в стриатум, который не имеет обширных дистальных или контралатеральных проекций [41]. Инъекция вектора в этот регион вызывала перенос вирусного генома в проекционные области, но поскольку данные проекции не являются длинноаксонными, уровни ферментов, в результате, были высокими только вблизи места инъекции. Инъекция в область с широко распространенными проекциями, такими как VTA, позволяет транспортироваться AAV вектору в дистальные проекционные участки VTA, где клетки могли осуществлять синтез фермента, который дополнительно транспортировался к проекционным участкам этих клеток, что в конечном результате привело к распределению ферментов GUSB по всему мозгу после одной инъекции небольшого объема [40].

Таким образом, мышь с синдромом MPS VII представляет эффективную модельную систему, в которой тестируются векторы генной терапии. Фенотип мыши во многом соответствует таковому при болезни человека [49]. Анализ результатов инъекций в VTA с AAV-9 GUSB животным синдромом MPS VII через 2 месяца показал, что уровни лизосомальных ферментов не отличались от контрольных мышей во всех областях мозга. В этих экспериментах в мозг мыши (массой около 400 мг) вводили 1 мкл вектора; для сравнения,

мозг годовалого ребенка (массой 800 г) потребует инъекции 2 мл для пропорционального распределения вектора. Не исключено также, что инъекции менее 1 мкл было бы достаточно для транспортировки вектора и экспрессируемых им ферментов, которые были обнаружены в ходе эксперимента. Лечение генетических нарушений ЦНС все еще затруднено из-за инвазивного характера требуемых методов лечения. Ориентируясь на те отделы мозга, которые имеют обширные проекции, можно увеличить рассеивание транспортируемых векторов AAV от ограниченного числа инъекций.

Использование энхансерных аденовирусных векторов на модели *Danio rerio*

На протяжении многих лет для оценки векторов геной терапии был установлен широкий спектр модельных организмов. В этом смысле использование рыб в качестве модельного организма по сравнению с мышами имеет ряд преимуществ. В частности, рыбам небольших размеров во взрослом состоянии требуется меньше места для обслуживания, облегчаются манипуляции, и появляется возможность работы с большим числом животных по более низкой цене [11, 14]. Другим преимуществом является воспроизводство рыб. Каждая пара *Danio rerio* может производить сотни яиц в неделю, которые могут быть оплодотворены извне с последующим независимым от матери эмбриональным развитием. Это позволяет анализировать ранние этапы эмбрионального развития и последующие стадии онтогенеза на протяжении всего процесса. Эмбриональное и постэмбриональное развитие рыб происходит довольно быстро, предоставляя возможности обнаружения любой аномалии в течение нескольких дней [50]. При этом генетические аномалии, такие как нокауты и нокадауны *Danio rerio* легко получить, и около 70% генов кодирования белка человека, связанных с болезнями, имеют эквивалентный ген в *Danio rerio*, что позволяет ученым изучать болезни человека в больших масштабах [51].

Исследование трансдукции векторов первого поколения и HC-Ad репортерного гена люциферазы в эмбрионах *Danio rerio* показало, что векторы E1/E3 и HC-Ad (Ad-EGFP и HCA-EGFP, соответственно) разработаны с тем же промотором и капсидом, и таким образом, следует ожидать эквивалентные уровни экспрессии этих генов [11]. Несмотря на то, что генный тропизм был сходным, количество трансдуцированных особей статистически достоверно отличалось ($p < 0,05$). Подобная изменчивость была обусловлена различными концентрациями для каждого вектора. Микроинъектор, с помощью которого осуществляли подачу вектора, работал с фиксированным давлением, но не с фиксированным объемом. Кроме того, необходимо учитывать, что интенсивность экспрессии GFP в трансдуцированных клетках могла повлиять на геном вектора. Сильные вирусные энхансеры, присутствующие в векторах E1/E3, могут усиливать экспрессию

трансгена в отличие от векторов HC-Ad. Более сильная экспрессия в инфицированных клетках с Ad-EGFP может облегчить визуализацию в флуоресцентном микроскопе, способствуя восприятию более высокой скорости трансдукции [11].

Результаты исследования летальности не показали отличий между обработкой различными типами векторов, выживаемость рыб составила более 80%. В этих наблюдениях была исключена острая токсичность, наступающая в результате инфекции при введении вирусных генов. E1/E3-удаленные векторы сохранили большинство вирусных генов в составе генома, в отличие от HC-Ads. Хотя транскрипция этих генов была активирована E1A, остаточная экспрессия описана в отсутствие области E1 в клетках млекопитающих. Поэтому в рамках экспериментальных условий клетки, инфицированные Ad-EGFP, могут экспрессировать аденовирусные белки, а также большее количество зеленого флуоресцентного белка (GFP), по сравнению с HCA-EGFP. Оба элемента могут поставить под угрозу жизнеспособность трансдуцированных клеток. Хотя они не оказали заметного влияния на раннее развитие эмбрионов *Danio rerio*, сценарий был совершенно иным, когда выживание исследовалось в долгосрочной перспективе. Увеличение смертности при этом наблюдалось после 72 л.с. Это было связано с изменениями окружающей среды и тем, что *Danio rerio* обладают высоким репродуктивным уровнем, поэтому можно было бы ожидать, что индивидуальное выживание эмбрионов будет снижаться. Однако все особи, обработанные Ad-EGFP, погибали до 11 dpi и демонстрировали более апатичное поведение с медленными движениями, становясь легкодоступными для отлова. В отличие от этого, более 30% рыб с экспрессией HCA-EGFP, при наблюдении в течение 35 дней характеризовались нормальным поведением. Для таких отличий были установлены потенциальные причины. Вполне возможно, что высокий уровень экспрессии GFP в клетках, инфицированных Ad-EGFP, вызывал накопительную токсичность в клетках, что не было очевидно в течение первых 72 л.с. [52]. Теоретически, участие клеточной иммунной реакции против GFP или вирусных эпитопов, экспрессируемых клетками, маловероятны, учитывая, что инъекция была выполнена при 48 л.с., когда эмбрионы имеют незрелую иммунную систему [53]. Тем не менее не исключена возможность того, что иммунная толерантность не была полностью установлена в условиях анализа, и сохранение антигенной экспрессии вызвало поздние иммунные реакции [54]. В этом отношении основным отличием между клетками, инфицированными HCA-EGFP и Ad-EGFP, оказалось наличие аденовирусных антигенов в последнем, которые были описаны как отличная цель для цитотоксических реакций у млекопитающих [55]. Таким образом, накопительная клеточная токсичность, вызываемая вирусными белками, и/или высокая экспрессия GFP была наиболее вероятным объяснением снижения выживаемости

данио, инфицированных Ad-EGFP, хотя не исключены иммунные реакции против остаточной вирусной экспрессии генов.

Наконец, что касается поддержания экспрессии трансгена вектором HC-Ad, установлен флуоресцентный мониторинг до 32 дней. То есть для клинического применения повторные введения должны быть примерно в этот период времени, предполагая аналогичные показатели репликации клеток в области интереса [32]. Тем не менее другие исследования на грызунах и других млекопитающих показали долгосрочные экспрессии в течение одного года [25]. Вероятно, это связано с более высокой клеточной скоростью репликации у эмбрионов по сравнению со взрослым человеком, у которого наблюдается эффект «разбавления трансгенов». Установлено, что потеря экспрессии соответствует второй половине эмбрионального перехода от личинки в ювенильную стадию (которая прошла через три дня после оплодотворения, примерно до 30 дней после оплодотворения), период, когда они также значительно увеличились в размерах и морфологии, поддерживает это объяснение [11].

Аденорецепторы и их аналоги для доставки аденовирусных векторов в клетки рыб

Проводились исследования с оценкой эффективности аденовирусных векторов для доставки генов в клетки рыб как *in vitro*, так и *in vivo*. В этих работах использовались переносчики аденовируса человека серотипа 5 (Ad), которые применяются в клинических испытаниях на человеке, но не были оценены для доставки генов в клетки рыб [14], так как на сегодняшний день еще мало известно о вирусных рецепторах в клетках рыб, в частности аденорецепторах Ad (Ad5Luc1) и Ad (Ad5LucRGD) с природным тропизмом к рецептору аденовируса Коксаки (CAR). Экспрессия гена была обнаружена в клеточных линиях с помощью обоих векторов [56]. Предполагается, что эти клетки обладают гомологом CAR, который является связующим звеном прикрепления Ad, похожим на аналог этого рецептора в клетках млекопитающих. В этих исследованиях использовали несколько методов доставки гена *in vivo*, со значительной экспрессией, через внутримышечную инъекцию, хотя эффективность инфекции была сравнительно низкой. Таким образом, было установлено, что некоторые клеточные линии костистых рыб способны к трансдукции аденовирусного вектора, и одна клеточная линия экспрессировала человеческий серотип гомолога аденовирусного рецептора, способствующего AdV инфекции. Исследования *in vivo* показали, что мышцы радужной форели могут быть заражены Ad векторами, предлагая стратегию альтернативной доставки генов для этого животного [19].

Исследования в области генной терапии были ассоциированы с резким увеличением диапазона стратегий доставки генов, доступных для достижения трансдукции *in vivo* [28, 50, 51]. Среди используемых векторных стратегий рекомбинантные, репликационно

некомпетентные аденовирусы (Ad) в настоящее время являются преобладающими векторными агентами, оцениваемыми в клинических испытаниях [27]. Преобладание Ad в этой обстановке служит прямым следствием относительно более высоких уровней доставки генов, достижимых с этим агентом по сравнению с другими системами. Кроме того, векторы Ad могут быть легко произведены в высоком титре, имеют удобный трансген емкости упаковки и, как правило, оказываются безопасными в испытаниях.

Аденовирусы, как известно, заражают все классы позвоночных и, как установлено, считаются относительно непатогенными для низших позвоночных [9, 11-14, 19]. Таким образом, эти агенты могут очень хорошо подходить для передачи генов в клетки рыб при вакцинации или в других экспериментальных исследованиях, где есть интерес к экспрессии конкретных генов [57]. Кроме того, в последнее время было много технологических достижений в разработке векторов Ad, в частности в отношении генетически модифицированного тропизма, который может значительно улучшить инфекционность базового вектора [58].

Простое и эффективное средство доставки генетического материала в клетки и живые организмы является ценным активом для исследований, связанных с регулируемой экспрессией определенных генных продуктов, доставкой вакцин и генным таргетингом. В настоящее время клеточная трансдукция в клетки костистых рыб проводится, как правило, с помощью решений ионной проницаемости и электропорации в клеточной культуре и посредством прямого контакта с плазмидной ДНК животных [58]. Результаты проведенных исследований показали потенциальные преимущества применения вирусных векторов для переноса в клетки рыб как *in vitro*, так и *in vivo* с экспрессией интересующего гена. Тем не менее эффективность трансдукции *in vivo* оказалась гораздо меньше, чем для этих же переносчиков у лабораторных штаммов крыс и мышей [59].

Аденовирусные векторы в испытаниях на людях содержат природный рецептор-связывающий домен, который направляет прикрепление вируса к CAR на поверхности клетки [58]. После первичной привязки вирион далее опосредуется через взаимодействие между мотивами аргинилглициласпарагиновой кислоты (RGD-мотивами) в пентонном белке в основании волокна и клеточных интегрин [60]. В отсутствие CAR эти вирусы, как считают, могут использовать RGD-интегриновое взаимодействие в качестве средства первичного связывания, хотя и менее эффективно, чем с CAR [61]. В исследованиях с привлечением различных установленных линий клеток человека, первичных линий и опухолевого материала человека, было установлено, что определенные ткани являются рефрактерными для инфекции Ad из-за дефицита CAR [62]. Как более широко экспрессируемые интегрины, эффективность трансдукции многих из этих клеток была улучшена

с использованием тропизм-модифицированных векторов, в которых интегрин-связывание RGD мотива был генетически включен в высокодоступный HI-цикл области домена ручки [63]. Эти модифицированные векторы, как ожидается, будут востребованы в испытаниях на человеке очень скоро. В настоящее время ничего не известно об экспрессии CAR в клетках рыб, но предполагается, что, если CAR (или его гомолог) присутствовали на некоторых клеточных линиях, вполне вероятно, что интегрин-лиганды будут более широко экспрессироваться. Результаты исследований *in vitro* подтвердили эту гипотезу, потому что большинство линий было более легко инфицировано RGD-модифицированными векторами; однако *in vivo* не было выявлено значительного улучшения экспрессии с вектором RGD [61]. Причина этого отсутствия эффективности *in vivo* требует дальнейшего изучения. Учитывая вышесказанное и результаты анализов на основе обнаружения экспрессии генов, активность промотора CMV выглядит проблематично [64]. Тем не менее результаты *in vitro* свидетельствуют о том, что промотор был активен в клетках рыб, и ранее было показано, что основанные на CMV промоторе векторы достигли экспрессии генов *in vivo* у рыб при доставке в виде плазмид с использованием внутримышечных инъекций и/или генной пушки [65].

Еще одним фактором может быть температура. Хотя предпринимались попытки решить эту проблему, некоторые исследования дали отрицательные результаты из-за плохой жизнеспособности клеточных линий при температурах, необходимых для поддержания жизнеспособности живых рыб. Исследование вируса Семлики для доставки генов в клетки рыб в культуре показало гораздо меньшую эффективность при низких температурах [66]. Вполне возможно, что в недавно обнаруженный Ad белого осетра *Acipenser transmontanus* [26] может быть адаптирован как более эффективный вектор для решения этих задач.

Одним из самых интересных результатов было открытие функционального гомолога CAR в клетках рыб, в первую очередь на клеточной линии лосося CHSE-214. На сегодняшний день CAR человека и мыши (hCAR и mCAR, соответственно) были клонированы и охарактеризованы [67]. CAR относится к иммуноглобулину (Ig) суперсемейства рецепторов, и описанные версии обладают двумя внеклеточными Ig-подобными доменами. В настоящее время нормальная функция CAR неизвестна. Усилия по созданию CAR-нокаутных мышей до сих пор не увенчались успехом, предполагая, что CAR может регулировать некоторые критические функции в эмбриогенезе. Вызывают интерес некоторые данные, свидетельствующие о том, что потеря CAR у опухолевых клеток связана с формированием более злокачественного фенотипа [68]. Если существование CAR-подобных молекул у рыб (pCAR) будет подтверждено, это может стать еще одним доказательством того, что критически важные функции требуют эволюционного сохранения.

Несмотря на возможность использования рекомбинантных Ad векторов для трансдукции в клетки рыб в культуре, применение человеческого серотипа Ad для доставки генов в живых рыб в настоящее время не практично. Перенос Ad векторов может быть полезен для специфической экспрессии в мышцах, или если доставка по этому пути имеет некоторые преимущества экспрессии, например, для вакцин. Тем не менее эти результаты показывают, что гены могут быть доставлены и экспрессируются с помощью рекомбинантного Ad вектора, при 37 °C в клетки рыб, при условиях, необходимых для инфицирования человека. Показано, что виды Ad, недавно изолированные в клетках рыб, не вызывают какого-либо патогенеза у молоди белого осетра, что позволяет относительно просто отслеживать развитие Ad вектора человека в клетках рыб [26-28]. Это дает возможность для манипулирования вирусной привязкой или реинжинирингом естественных Ad рыбы стратегией массовой иммунизации. Таким образом, возможна разработка для трансдукции путем погружения или некоторыми аналогичными средствами.

Заключение

Результаты исследований последних лет показали, что использование новых модельных объектов на животных, и в частности рыбах, способствует развитию трансгенных технологий и способно обеспечить новые подходы для лечения некоторых заболеваний ЦНС, а также в генной и клеточной терапии. Вышеприведенные результаты говорят о возможности применения Ad векторов для заражения клеток костистых рыб в условиях культуры и с помощью прямых инъекций в мышцу рыб. Данный метод генетической трансдукции является функциональным, тем не менее, в дальнейшем необходимо разрешить несколько вопросов, касающихся модификации вируса для того, чтобы метод стал практическим средством доставки и экспрессии генов в живых рыб. Простое и эффективное средство доставки генетического материала в клетки и живые организмы станет ценным активом для исследований, связанных с регулируемой экспрессией определенных генных продуктов, доставкой вакцин и генным таргетингом. В настоящее время клеточная трансдукция в клетки костистых рыб проводится, как правило, посредством решений ионной проницаемости и электропорации в клеточной культуре и с использованием прямого контакта с плазмидной ДНК животных. Результаты проведенных исследований указывают на потенциальные преимущества вирусных векторов для переноса в клетки рыб как *in vitro*, так и *in vivo* с экспрессией интересующего гена, что дает возможность для манипулирования вирусной привязкой или реинжинирингом естественных стратегией массовой иммунизации. Таким образом, перспективна разработка для трансдукции путем погружения или другими аналогичными средствами.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90091.

Литература / References

- dos Santos Coura R., Beyer Nardi N. A role for adeno-associated viral vectors in gene therapy. *Gen. Mol. Biol.* 2008; 31: 1–11.
- Haery L., Deverman B.E., Matho K.S., Cetin A., Woodard K., Cepko C., Guerin K.I., Rego M.A., Ersing I., Bachle S.M., Kamens J., Fan M. Adeno-associated virus technologies and methods for targeted neuronal manipulation. *Front. Neuroanat.* 2019; 13: 93.
- Ricobaraza A., Gonzalez-Aparicio M., Mora-Jimenez L., Lumberras S., Hernandez-Alcoceba R. High-capacity adenoviral vectors: expanding the scope of gene therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21: 3643.
- Voepgamage S., Berakova K., Gomocak P., Baksova R., Galama J., Hyoty H., Tauriainen S. Primary Site of Coxsackievirus B Replication in the Small Intestines: No Proof of Peyer's Patches Involvement. *Microorganisms.* 2021; 9: 2600.
- Ohbayashi F., Balamotis M.A., Kishimoto A., Aizawa E., Diaz A., Hasty P. Correction of chromosomal mutation and random integration in embryonic stem cells with helper-dependent adenoviral vectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005; 102: 13628–13633.
- Suzuki K., Mitsui K., Aizawa E., Hasegawa K., Kawase E., Yamagishi T. Highly efficient transient gene expression and gene targeting in primate embryonic stem cells with helper-dependent adenoviral vectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105: 13781–13786.
- Chamberlain J.R., Schwarze U., Wang P.R., Hirata R.K., Hankenson K.D., Pace J.M. Gene targeting in stem cells from individuals with osteogenesis imperfect. *Science.* 2004; 303: 1198–1201.
- Kurita K., Burgess S.M., Sakai N. Transgenic zebrafish produced by retroviral infection of in vitro-cultured sperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101:1263–1267.
- Lee K-Y., Huang H., Ju B., Yang Z., Lin S. Cloned zebrafish by nuclear transfer from long-term-cultured cells. *Nat. Biotechnol.* 2002; 20:795–799.
- Hong Y., Liu T., Zhao H., Xu H., Wang W., Liu R. Establishment of a normal medaka fish spermatogonial cell line capable of sperm production *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101:8011–8016.
- Gulías P., Guerra-Varela J., Gonzalez-Aparicio M., Ricobaraza A., Vales A., Gonzalez-Aseguinolaza G., Hernandez-Alcoceba R., Sánchez L. *Danio rerio* as model organism for adenoviral vector evaluation. *Genes.* 2019; 10:1053.
- Furutani-Seiki M., Wittbrodt J. Medaka and zebrafish, an evolutionary twin study. *Mech. Dev.* 2004;121:629–637.
- Wakamatsu Y., Ju B., Pristayzhnyuk I., Niwa K., Ladygina T., Kinoshita M. Fertile and diploid nuclear transplants derived from embryonic cells of a small laboratory fish, medaka (*Oryzias latipes*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98:1071–1076.
- Kawasaki T., Saito K., Mitsui K., Ikawa M., Yamashita M., Taniguchi Y., Takeda S., Mitani K., Sakai N. Introduction of a foreign gene into zebrafish and medaka cells using adenoviral vectors. *Zebrafish.* 2009;6:553–558.
- Takehashi M., Kanatsu-Shinohara M., Inoue K., Ogonuki N., Miki H., Toyokuni S., Ogura A., Shinohara T. Adenovirus-mediated gene delivery into mouse spermatogonial stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104:2596–2601
- Mirow M., Schwarze LI, Fehse B, Riecken K. Efficient Pseudotyping of Different Retroviral Vectors Using a Novel, Codon-Optimized Gene for Chimeric GALV Envelope. *Viruses.* 2021;13(8):1471.
- Amsterdam A., Hopkins N. Mutagenesis strategies in zebrafish for identifying genes involved in development and disease. *Trend. Genet.* 2006;22:473–478.
- Harrold I., Carbonneau S., Moore, B.M., Nguyen, G., Anderson, N.M., Saini, A.S., Kanki, J.P., Jette, C.A., & Feng, H. Efficient transgenesis mediated by pigmentation rescue in zebrafish. *Bio-Techniques*, 2016; 60(1), 13–20.
- Overturf K., LaPatra S., Reynolds P.N. The effectiveness of adenoviral vectors to deliver and express genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish. Dis.* 2003;26:91–101.
- Watanabe S., Kanatsu-Shinohara M., Ogonuki N., Matoba S., Ogura A., Shinohara T. In Vivo Genetic Manipulation of Spermatogonial Stem Cells and Their Microenvironment by Adeno-Associated Viruses. *Stem Cell Reports.* 2018. Vol. 10 (5), 1551–1564.
- Kojima Y., Hayashi Y., Kurokawa S., Mizuno K., Sasaki S., Kohri K. No evidence of germ-line transmission by adenovirus-mediated gene transfer to mouse testes. *Fertil. Steril.* 2008;89:1448–1454.
- Kanatsu-Shinohara M., Ogura A., Ikegawa M., Inoue K., Ogonuki N., Tashiro K. et al. Adenovirus-mediated gene delivery and in vitro microinsemination produce offspring from infertile male mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002;99:1383–1388.
- Wagle M., Jesuthasan S. Baculovirus-mediated gene expression in zebrafish. *Mar. Biotechnol.* 2003;5:58–63.
- Yan Y., Du J., Chen T., Yi M., Li M., Wang, Li C.M., Hong Y. Establishment of medaka fish as a model for stem cell-based gene therapy: efficient gene delivery and potential chromosomal integration by baculoviral vectors. *Exp. Cell. Res.* 2009;315:2322–2331.
- Brunetti-Pierri N., Ng T., Iannitti D., Cioffi W., Stapleton G., Law M., Breinholt J. Transgene expression up to 7 years in non-human primates following hepatic transduction with helper-dependent adenoviral vectors. *Hum. Gene Ther.* 2013;24:761–765.
- Crustal R. Adenovirus: The first effective in vivo gene delivery vector. *Hum. Gene Ther.* 2014;25:3–11.
- Russell W.C. Update on adenovirus and its vectors. *J. Gen. Virol.* 2000;81:2573–2604.
- Lundstrom K. Viral vectors in gene therapy. *Diseases.* 2018;6:42.
- Wang L., Li F., Dang L., Liang C., He B., Liu J. *In vivo* delivery systems for therapeutic genome editing. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17:626.
- Hashimoto M., Mikoshiba K. Mediolateral compartmentalization of the cerebellum is determined on the «birth date» of Purkinje cells. *J. Neurosci.* 2003;23:11342–11351.
- Cwetsch A.W., Pinto B., Savardi A., Cancedda L. In vivo methods for acute modulation of gene expression in the central nervous system. *Prog Neurobiol.* 2018; 168: 69–85.
- Barcia C., Jimenez-Dalmaroni M., Kroeger K., Puntel M., Rapoport A., Larocque D., King G. One-year expression from high-capacity adenoviral vectors in the brains of animals with pre-existing anti-adenoviral immunity: Clinical implications. *Mol. Gene Ther.* 2007;15:2154–2163.
- Hashimoto M., Mikoshiba K. Neuronal birthdate-specific gene transfer with adenoviral vectors. *J. Neurosci.* 2004;24:286–296.
- Francia S, Lodovichi C. The role of the odorant receptors in the formation of the sensory map. *BMC Biol.* 2021; 19(1) :174.
- Cearley C.N., Wolfe J.H. Transduction characteristics of adeno-associated virus vectors expressing cap serotypes 7, 8, 9, and Rh10 in the mouse brain. *Mol. Ther.* 2006;13:528–537.
- Burger C., Gorbatyuk O.S., Velardo M.J., Peden C.S., Williams P., Zolotukhin S., Reier P.J., Mandel R.J., Muzyczka N. Recombinant AAV viral vectors pseudotyped with viral capsids from serotypes 1, 2, and 5 display differential efficiency and cell tropism after delivery to different regions of the central nervous system. *Mol. Ther.* 2004;10:302–317.
- Cearley C.N., Wolfe J.H. A single injection of an adeno-associated virus vector into nuclei with divergent connections results in widespread vector distribution in the brain and global correction of a neurogenetic disease // *J. Neurosci.* 2007;27:9928–9940.

38. Passini M.A., Lee E.B., Heuer G.G., Wolfe J.H. Distribution of a lysosomal enzyme in the adult brain by axonal transport and by cells of the rostral migratory stream. *J. Neurosci.* 2002;22:6437–6446.
39. Luca T., Givogri M.I., Perani L., Galbiati F., Follenzi A., Naldini L., Bongarzone E.R. Axons mediate the distribution of arylsulfatase A within the mouse hippocampus upon gene delivery. *Mol. Ther.* 2005;12:669–679.
40. Vite C.H., McGowan J.C., Niogi S.N., Passini M.A., Drobatz K.J., Haskins M.E., Wolfe J.H. Effective gene therapy for an inherited CNS disease in a large animal model. *Ann. Neurol.* 2005;57:355–364.
41. Geisler S., Zahm D.S. Afferents of the ventral tegmental area in the rat-anatomical substratum for integrative functions. *J. Comp. Neurol.* 2005;490:270–294.
42. Poisson C.L., Engel L., Saunders B.T. Dopamine Circuit Mechanisms of Addiction-Like Behaviors. *Front Neural Circuits.* 2021;15:752420.
43. Yetnikoff L., Lavezzi H.N., Reichard R.A., Zahm D.S. An update on the connections of the ventral mesencephalic dopaminergic complex. *Neuroscience.* 2014;282:23–48.
44. Hauck B., Zhao W., High K., Xiao W. Intracellular viral processing, not single-stranded DNA accumulation, is crucial for recombinant adeno-associated virus transduction. *J. Virol.* 2004;78:13678–13686.
45. Ding W., Zhang L.N., Yeaman C., Engelhardt J.F. rAAV2 traffics through both the late and the recycling endosomes in a dose-dependent fashion. *Mol. Ther.* 2006;13:671–682.
46. Zengel J., Carette J.E. Structural and cellular biology of adeno-associated virus attachment and entry. *Adv. Virus Res.* 2020;106:39–84.
47. Kelkar S., De B.P., Gao G., Wilson J.M., Crystal R.G., Leopold P.L. A common mechanism for cytoplasmic dynein-dependent microtubule binding shared among adeno-associated virus and adenovirus serotypes. *J. Virol.* 2006;80:7781–7785.
48. Canty J.T., Tan R., Kusacki E., Fernandes J., Yildiz A. Structure and Mechanics of Dynein Motors. *Annu. Rev. Biophys.* 2021 May 6;50:549–574.
49. Derrick-Roberts A.L., Pyragius C.E., Kaidonis X.M., Jackson M.R., Anson D.S., Byers S. Lentiviral-mediated gene therapy results in sustained expression of β -glucuronidase for up to 12 months in the *gus(mps/mps)* and up to 18 months in the *gus(tm(L175F)Sly)* mouse models of mucopolysaccharidosis type VII. *Hum. Gene Ther.* 2014;25(9):798–810.
50. Albain J., Zon L.I. Of fish and men: Using zebrafish to fight human diseases. *Trends Cell Biol.* 2013;23:584–586.
51. Howe K., Clark M., Torroja C., Torrance J., Berthelot C., Muffato M., Collins J., Humphray S., McLaren K., Matthews L. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature.* 2013;496:498–503.
52. Lam S.H., Chua H.L., Gong Z., Lam T.J., Sin Y.M. Development and maturation of the immune system in zebrafish, *Danio rerio*: A gene expression profiling, in situ hybridization and immunological study. *Dev. Comp. Immunol.* 2004;28:9–28.
53. Zhang B., Shimada Y., Hirota T., Ariyoshi M., Kuroyanagi J., Nishimura Y., Tanaka T. Novel immunologic tolerance of human cancer cell xenotransplants in zebrafish. *Transl. Res.* 2016;170:89–98.
54. Zirger J.M., Puntel M., Bergeron J., Wibowo M., Moridzadeh R., Bondale N., Barcia C., Kroeger K.M., Liu C., Castro M.G. Immune-mediated loss of transgene expression from virally transduced brain cells is irreversible, mediated by IFN γ , perforin, and TNF α , and due to the elimination of transduced cells. *Mol. Ther.* 2012;20:808–819.
55. Bonehill A., Heirman C., Thielemans K. Genetic approaches for the induction of a CD4+ T cell response in cancer immunotherapy. *J Gene Med.* 2005;7(6):686–95.
56. Kim S., Lee K., Kim M.D., Kang S., Joo C.W., Kim J.M., Kim S.H., Yu S.S., Kim S. Factors affecting the performance of different long terminal repeats in the retroviral vector. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006;343(4):1017–22.
57. Arnberg N. Adenovirus receptors: implications for tropism, treatment and targeting. *Rev. Med. Virol.* 2009;19(3):165–78.
58. Myhre S., Henning P., Friedman M., Ståhl S., Lindholm L., Magnusson M.K. Re-targeted adenovirus vectors with dual specificity; binding specificities conferred by two different Affibody molecules in the fiber. *Gene Ther.* 2009;16(2):252–61.
59. Kurachi S., Koizumi N., Sakurai F., Kawabata K., Sakurai H., Nakagawa S., Hayakawa T., Mizuguchi H. Characterization of capsid-modified adenovirus vectors containing heterologous peptides in the fiber knob, protein IX, or hexon. *Gene Ther.* 2007;14(3):266–74.
60. Meyer K.J., Pellack D., Hedberg-Buenz A., Pomernackas N., Soukup D., Wang K., Fingert J.H., Anderson M.G. Recombinant adenovirus causes prolonged mobilization of macrophages in the anterior chambers of mice. *Mol. Vis.* 2021; 27:741–756.
61. Einfeld D.A., Schroeder R., Roelvink P.W., Lizonova A., King C.R., Kovsdi I., Wickham T.J. Reducing the native tropism of adenovirus vectors requires removal of both CAR and integrin interactions. *J. Virol.* 2001;75:11284–11291.
62. Lewis T.B., Glasgow J.N., Glandon A.M., Curiel D.T., Standaert D.G. Transduction of brain dopamine neurons by adenoviral vectors is modulated by CAR expression: rationale for tropism modified vectors in PD gene therapy. *PLoS One.* 2010;5(9):e12672.
63. Stepanenko A.A., Chekhonin V.P. Tropism and transduction of oncolytic adenovirus 5 vectors in cancer therapy: Focus on fiber chimerism and mosaicism, hexon and pIX. *Virus Res.* 2018; 257:40–51.
64. Ballesteros N.A., Alonso M., Saint-Jean S.R., Perez-Prieto S.I. An oral DNA vaccine against infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) encapsulated in alginate microspheres induces dose-dependent immune responses and significant protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.* 2015;45(2):877–88.
65. Lee J.Y., Hirono I.I., Aoki T. Stable expression of a foreign gene, delivered by gene gun, in the muscle of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Mar. Biotechnol.* 2000;2:254–258.
66. Puglia A.L., Rezende A.G., Jorge S.A., Wagner R., Pereira C.A., Astray R.M. Quantitative RT-PCR for titration of replication-defective recombinant Semliki Forest virus. *J. Virol. Methods.* 2013;193(2):647–52.
67. Herrmann L., Schelletter L., Hoffrogge R., Niehaus K., Rudolph V., Farr M. Human Coxsackie- and adenovirus receptor is a putative target of neutrophil elastase-mediated shedding. *Mol Biol Rep.* 2022 Feb 5. doi: 10.1007/s11033-022-07153-2.
68. Chung J., Kim K.H., An S.H., Lee S., Lim B.K., Kang S.W., Kwon K. Coxsackievirus and adenovirus receptor mediates the responses of endothelial cells to fluid shear stress. *Exp Mol Med.* 2019;51(11):1–15.

УДК 616.98:578.834.1-084-085-06:616.12

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-56-64

Кардиоваскулярная составляющая постковидного синдрома

Ю.В. Вахненко¹, И.Е. Доровских¹, А.П. Домке¹*Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск, Россия*

Наблюдение за больными, перенесшими острый COVID-19, показывает, что у многих из них продолжительное время сохраняются различные симптомы, которые нередко значительно ухудшают качество жизни и объединены понятием «постковидный синдром». Изучение этого феномена активно продолжается, но уже известны его типы и проявления, создаются регистры больных, ведется мониторинг их состояния, а сам постковидный синдром внесен в Международную классификацию болезней. В обзоре рассматриваются предикторы, механизмы развития и основные признаки Long-Covid, системность поражения внутренних органов, которая объясняется, в том числе, повреждающим действием вируса на разные ткани, эндотелиальной дисфункцией, микротромбозами. Особое внимание уделено причинам и вариантам поражения кардиоваскулярной системы. Обозначены особенности функционирования мировой системы здравоохранения в период волн пандемии, повлиявшие на сердечно-сосудистую заболеваемость и смертность. Подчеркнуто, что постковидному синдрому подвержены как лица, перенесшие острую COVID в тяжелой форме, так и бессимптомные и малосимптомные пациенты. Все они в равной мере нуждаются во внимании медиков, обеспечить которое в условиях пандемии помогают электронные средства связи.

Ключевые слова: постковидный синдром, предикторы, патогенез, типы и симптомы, телемедицина, реабилитация

Поступила в редакцию 12.11.2021. Получена после доработки 23.12.2021. Принята к печати 14.02.2022.

Для цитирования: Вахненко Ю.В., Доровских И.Е., Домке А.П. Кардиоваскулярная составляющая постковидного синдрома. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;1: 56–64. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-56-64

Для корреспонденции: Вахненко Юлия Викторовна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра госпитальной терапии с курсом фармакологии Амурской государственной медицинской академии (675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 97); ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4287-1221>; e-mail: gen-45@rambler.ru

Cardiovascular component of post-COVID-19-syndrome

Y.V. Vakhnenko¹, I.E. Dorovskikh¹, A.P. Domke¹*Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk, Russia*

Summary: Observation of patients suffering from acute COVID-19 shows that many of them have a long persistence of various symptoms, which often significantly worsen the quality of life and are combined with the concept of "postvoid syndrome". The study of this phenomenon is actively continuing, but its types and manifestations are already known, registers of patients are created, their condition is monitored, and postcovid syndrome is included in the International Classification of Diseases. The review covers predictors, mechanisms of development and main signs of Long-Covid, systemic affection of internal organs, which is explained, among other things, by damaging effect of the virus on different tissues, endothelial dysfunction and micro thrombosis. Particular attention is paid to the causes and types of cardiovascular system disorders. The features of functioning of the world health care system during the pandemic waves which influenced the cardiovascular morbidity and mortality are outlined. It is emphasized that postvascular syndrome is susceptible both to persons who had acute form of COVID and to asymptomatic patients. They equally require medical attention. Electronic means of communication help to provide such care during pandemic period.

Keywords: postvoid syndrome, predictors, pathogenesis, types and symptoms, telemedicine, rehabilitation

Received 12 November 2021; Revised 23 December 2021; Accepted 14 February 2022

For citation: Vakhnenko Y.V., Dorovskikh I.E., Domke A.P. Cardiovascular component of post-COVID-19-syndrome. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:56–64. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-56-64

Corresponding author: Yulia V. Vakhnenko, M.D., Assistant, Department of Hospital Therapy with a Course of Pharmacology, Amur State Medical Academy (97 Gorky St., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation); ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4287-1221>; e-mail: gen-45@rambler.ru

Уже в первые месяцы пандемии новой коронавирусной инфекции стало очевидным негативное влияние SARS-CoV-2 на сердце и сосуды. Для обозначения кардиальных проявлений COVID-19 предложен новый термин «acute COVID-19 cardiovascular syndrome», обозначающий широкий спектр патологических состояний. У ряда больных кардиальные симптомы являются первичными признаками COVID-19. В этом случае определяют «сердечный фенотип» заболевания. У других пациентов патология сердца и сосудов вторична по отношению к поражению легких. Их отнесли

к смешанному, «легочно-сердечному фенотипу». Сердечно-сосудистые симптомы наблюдаются в любой период острой фазы инфекции, но их риск возрастает с 15-го дня от появления лихорадки или других признаков COVID-19, а нередко – и после стабилизации и/или улучшения респираторного статуса пациента [1]. В феврале 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) сообщила, что при легком течении процесса время от начала COVID-19 до клинического выздоровления составляет около 2 недель, а в тяжелых и критических случаях – от 3 до 6 недель [2]. Но уже

в июне этого же года стало ясно, что у определенной категории больных на протяжении длительного срока от дебюта инфекции сохраняются различные симптомы, ухудшающие качество жизни, которые тогда связывали с факторами риска – ожирением, артериальной гипертонией и сахарным диабетом, однако позже выяснилось, что таковые имеются не у всех. Наиболее часто в этой ситуации регистрируются усталость (98%), миалгии (88%), одышка (снижение толерантности к физической нагрузке) (87%), головные боли (83%), кардиореспираторные (92%) и желудочно-кишечные (73%) симптомы, выпадение волос (20-22%), тревога/депрессия (23%), нарушение сна (24-30,8%). Реже фиксируются признаки поражения почек (12%), поджелудочной железы (17%), печени (10%), селезенки (6%). У 9-10,9% больных регистрируют сердцебиение. Наблюдаются как патологические изменения отдельных органов (66%), так и полиорганные (25%) нарушения [3]. Эти процессы T. Greenhalgh и соавт. [4] объединили понятием «постковидный синдром» (постострый ковид-19, «хвост ковида», Long-Covid) и определили его как мультисистемное заболевание, связанное с COVID-19 и продолжающееся более трех недель после появления его первых симптомов. В этом случае процесс предложили именовать послеострым ковидом, а при сохранении симптомов более 12 недель – хроническим ковидом. Основным проявлением того и другого варианта назвали длительное недомогание, которое проходит самостоятельно после отдыха с поэтапным расширением физической активности или в процессе симптоматического лечения. В декабре 2020 года Национальный институт здоровья Великобритании предложил другую классификацию COVID-19: острая стадия (симптомы длятся до 4 недель от манифестации заболевания); продолжающаяся симптомная стадия (симптомы сохраняются от 4 до 12 недель от манифестации); постковидный синдром (симптомы развиваются во время или после острой инфекции, сохраняются более 12 недель и не объясняются альтернативным диагнозом) [5]. Распространенность и выраженность перечисленных симптомов, их влияние на качество жизни, трудоспособность и даже дееспособность населения, отсутствие данных о долгосрочных последствиях постковидного синдрома объясняет серьезность затронутой темы и необходимость ее глубокого изучения.

Общие сведения о постковидном синдроме

Американские исследователи по результатам online опроса пациентов 13-ти штатов на 14 и 21-й дни после первичного положительного тестирования на SARS-CoV-2 обнаружили, что жалобы сохраняются в среднем у 35% из них. О кашле, усталости и/или одышке сообщили, соответственно, 43%, 35% и 29% [6]. Позже проявления постковидного синдрома систематизировали и выделили в его составе 1) остаточные симптомы и 2) дисфункцию органов после острой COVID-19, а также 3) новые симптомы,

развивающиеся после первоначальной бессимптомной или легкой инфекции. При этом первые две категории могут сочетаться между собой [7]. В связи с распространенностью и клинической значимостью синдром получил официальный статус болезни и внесен в новую редакцию Международной классификации болезней 10-го пересмотра как «post-COVID-19 condition» с кодом U09.9.

Признаки постковидного синдрома разнообразны, вариабельны и цикличны. У одних пациентов после острой стадии сохраняются стойкие системные проявления, часть из которых постепенно сходит на нет; у других симптомы острой стадии практически исчезают, но рецидивируют (возможно, в более выраженной степени), спустя несколько дней или недель, и далее сохраняются длительно. В третьей группе пациентов синдром имеет циклическое течение с периодами улучшений и ухудшений каждые несколько дней [8]. В многопрофильной клинике Медицинского центра Университета Цинциннати (США) выделили 5 типов COVID-19. При типе 1 продолжительность выздоровления может быть разной и связана с тяжестью инфекции и поражения органов. При типе 2 симптомы сохраняются до 6 недель от начала заболевания. При типе 3А после острого периода инфекции следует период затишья или почти полного выздоровления, после которого симптомы рецидивируют и сохраняются не менее 3 месяцев или не менее 6 месяцев (тип 3В). При типе 4 у изначально бессимптомных пациентов с положительным тестом на SARS-CoV-2 жалобы появляются через 1-3 месяца (тип 4А) или не менее чем через 3 месяца (тип 4В), и сохраняются в течение разного времени. При типе 5 у ранее бессимптомных или малосимптомных сероположительных пациентов в течение последующих 12 месяцев наступает внезапная смерть [9]. 25 февраля 2021 года проблема постковида, как крайне актуальная в мировом масштабе, озвучена на брифинге Европейского регионального бюро ВОЗ, где подчеркнута потребность этих пациентов в лечении, реабилитации, психологической и экономической поддержке [10].

Возможные факторы риска и причины формирования long-covid

С.Н. Sudre и соавт. [11] среди важных предикторов затяжного COVID-19 у пациентов из трех разных стран (Великобритании, США, Швеции) выделяют коморбидность по хроническим заболеваниям сердца, сосудов и легких, зрелый возраст (29,3%), высокий индекс массы тела, женский пол (14,9% против 9,5% мужчин), принадлежность к группе BAME (Black, Asian and minority ethnic), тяжелое течение COVID-19, пребывание в отделениях интенсивной терапии и наличие 5 и более симптомов в первую неделю болезни (16,3%): усталости, головной боли, одышки, осиплости голоса и миалгии, а у лиц, старше 70 лет – лихорадки и потери обоняния. Среди причин затяжного течения новой коронавирусной инфекции называют стойкую вирусемию из-за недостаточного количества антител или их отсутствия у больного; сосредоточение вируса

в труднодоступных для иммунной системы (иммунопривилегированных) зонах; рецидив или повторное заражение; выраженный системный воспалительный процесс; психологический дистресс-синдром [12, 13].

Описан случай, в определенной степени подтверждающий роль вирусемии в постковидных изменениях. Медицинские работники (30-36 лет), перенесшие подтвержденный острый COVID со специфической рентгенологической картиной, после курса лечения были выписаны из больницы с улучшением после двух отрицательных тестов на SARS-CoV-2, но через 5-13 дней после выписки ПЦР вновь показала положительный результат, как и три последующих теста. Клинически все эти лица оставались бессимптомными. Отсутствовала отрицательная динамика на компьютерных томограммах. У наблюдаемых не было инфицированных членов семей и контактов с больными ОРВИ. Авторы заключают, что часть выписывающихся после острого COVID-19 могут оставаться носителями вируса, и предполагают необходимость пересмотра существующих критериев прекращения карантина и дальнейшего ведения пациентов [14]. Что касается роли в патогенезе постковида системной воспалительной реакции, интересны первичные сведения о лицах, получавших иммуносупрессивную терапию по поводу трансплантации сердца или лекарственные средства, модифицирующие хронические ревматические заболевания. Показано, что они реже представителей контрольной группы страдали от тяжелой COVID и реже имели ее неблагоприятные исходы. Но эти данные требуют дальнейшего тщательного подтверждения [15, 16]. Механизм поражения сердца и сосудов при новой коронавирусной инфекции включает и прямое повреждающее действие вируса на кардиомиоциты с формированием миоперикардита, высвобождение провоспалительных цитокинов и дестабилизацию атеросклеротических бляшек с развитием острого коронарного синдрома, снижение экспрессии ангиотензинпревращающего фермента 2 типа с изменением функций ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и прогрессированием артериальной гипертензии, сердечной и почечной недостаточности, дисфункцию эндотелиальных клеток с нарушением микроциркуляции и тромбообразованием, а также влияние «агрессивного» лечения коронавирусной инфекции (кардиотоксичность целого ряда применяемых при COVID-19 препаратов – азитромицина, хлорохина/гидрокси-хлорохина, лопинавира/ритонавира, тоцилизумаба и др.) [17]. Часть симптомов могут быть следствием постреанимационного синдрома или интенсивной терапии (изменение голоса, расстройство глотания, когнитивная дисфункция, слабость, утомляемость, одышка и навязчивые воспоминания о пребывании в больнице).

При исследовании биоптатов и аутопсийных препаратов Z. Varga и соавт. [18] обнаружили признаки прямого воздействия SARS-CoV-2 на эндотелиальные клетки, диффузное воспаление эндотелия

с признаками апоптоза в почках, сердце, мозге, поджелудочной железе, кишечнике. Очевидно, что такое системное поражение эндотелия является серьезным патогенетическим фактором ковидных и постковидных изменений в различных сосудистых руслах. В свою очередь, эндотелиит способствует микротромбообразованию. Это позволяет прогнозировать эффективность терапии, направленной на стабилизацию эндотелия при одновременной борьбе с репликацией вируса, что особенно актуально для пациентов с доковидной эндотелиальной дисфункцией, связанной с мужским полом, курением, гипертензией, диабетом, ожирением и хронической сердечно-сосудистой патологией.

Другой причиной постковидного синдрома считают стойкую дисфункцию ствола мозга, для которого характерна достаточно высокая экспрессия АПФ2, а SARS-CoV-2 характеризуется высоким тропизмом к этому ферменту [19].

Причину постковидных расстройств можно уточнить с помощью показателей крови, широко используемых в практической медицине. Клинический анализ помогает исключить анемию, лимфопению, лейкоцитоз. Биохимическими биомаркерами воспаления являются повышенные С-реактивный белок и ферритин. Последний считается и маркером протромботического состояния. Натрийуретические пептиды повышаются, в частности, при сердечной недостаточности, тропонин – при миокардите или остром коронарном синдроме, D-димер – при тромбозах. Отрицательный результат на тропонин и D-димер не гарантируют точного диагноза, но делают клиническую ситуацию более определенной. Наиболее значимыми лабораторными признаками тяжелой COVID являются лимфопения, высокий уровень ферритина и D-димера [20]. Учитывая известные на сегодняшний день иммунологические механизмы постковидного синдрома, для скрининга больных с 4 по 12 неделю с момента манифестации инфекции с целью определения прогноза и коррекции лечения предлагается изучать составляющие клеточного иммунитета (морфологию нейтрофильных экстраклеточных ловушек и показатели адаптивного иммунитета в периферической крови и культуре *in vitro* лимфоцитов, экспрессирующих поверхностные антигены CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD72, CD38, CD25, CD71, HLA-DR, CD95, CD54. P) [21]. Дальнейшие исследования в этой области призваны уточнить критерии интерпретации мониторинговых тестов при наблюдении за пациентами с COVID-19.

Клинические симптомы long-covid

Стойкая общая слабость и быстрая утомляемость наблюдались и после предыдущих коронавирусных инфекций, например, атипичной пневмонии 2003 года. Однако распространенность и выраженность симптомов постковида при нынешней пандемии гораздо больше. Так, 54,7% участников исследования ССР-УК

на момент выписки не считали себя полностью выздоровевшими после острой COVID. Среди них преобладали лица, подвергшиеся ИВЛ и другим методам интенсивной терапии, астматики, курильщики, лица, страдающие диабетом. Их симптомы объединили в два кластера: кластер усталости, миалгии, артралгии и нейросенсорных нарушений и кластер нарушения обоняния, аппетита и мочеиспускания (потеря обоняния, вкуса, веса, аппетита, затрудненное мочеиспускание). В постостром периоде у 24,2% лиц отмечен рост новой или прогрессирующей инвалидности, проявляющейся, прежде всего, затруднением ходьбы, нарушением памяти и концентрации внимания, снижением зрения, наличием различных болей или дискомфорта, тревоги и депрессии [22].

По данным национальной статистики Великобритании 196 000 из 1,1 миллиона респондентов, проживающих в частных домохозяйствах, в электронных самоотчетах, спустя четыре месяца после острой COVID, сообщали о существенном ограничении способности заниматься повседневной деятельностью [23]. Английские коллеги также отчитались о результатах 160-дневного наблюдения за 47 780 пациентами, выписанными из стационаров, 29% из которых были госпитализированы повторно, а 12% умерли после выписки. У большинства диагностирована полиорганная дисфункция с поражением легких (33%), сердца (32%) и почек (12%) [24]. В исследовании с использованием визуальной аналоговой шкалы EuroQol пациенты оценивали качество своей жизни от 0 (наихудшее мыслимое здоровье) до 100 (наилучшее мыслимое здоровье) до острой COVID-19 и после нее. Ухудшение фиксировалось при разнице в 10 баллов. Только 12,6% пациентов через 60 дней после выписки не имели никаких проблем. У 32% сохранялись 1-2 симптома, а у 55% – 3 и более. Все они во время наблюдения были ПЦР-отрицательными. У них регистрировалась усталость (53,1%), одышка (43,4%), артралгии (27,3%) и боли в груди (21,7%) [25]. По результатам отечественного опроса в состав постковидного синдрома, помимо уже перечисленных признаков, входят эпизоды повышения температуры (50,8%), ознобы (47,1%), ночные поты или потливость днем (44,9%), бессонница (50,8%), необычно яркие сны (18,4%), головные боли (43,6%), чувство заложенности в груди и нехватки воздуха (47,1%), боли в области сердца неангинозного характера (42%), приступы тахикардии (41,5%), повышение (30,4%) или понижение (14,9%) артериального давления, выпадение волос (35,1%), парестезии (32,9%), болезненность по ходу вен (18,2%), нарушение зрения (28,1%), слуха (1,6%) и походки (17,9%), диарея (25,4%), реже – панические атаки, судороги, полинейропатия, ощущение вибрации в голове и груди, гинекомастия, нарушения менструального цикла и других половых функций, головокружение, шум в ушах, носовые кровотечения, патофагия и патоосмия, зубная боль, аллергические реакции, кожные высыпания в виде папул, везикул, крапивницы и по типу обморожения («ковидный

палец»), отеки, лимфоаденопатия [26]. А. Pavli и соавт. [28] считают, что общая заболеваемость «Long-Covid» составляет 10-35%, а для ранее госпитализированных пациентов – 85%.

Первой, как «хвост» новой коронавирусной инфекции, описана астения (87% больных). К другим неврологическим последствиям относят менингоэнцефалит, острую некротическую энцефалопатию, демиелинизацию, инсульты, синдром Гийена-Барре и его варианты, например синдром Миллера-Фишера [29]. Большинство пациентов предъявляют жалобы на когнитивные (ухудшение памяти и внимания – «туман в голове») и/или эмоциональные (тревожность и депрессии) расстройства разной степени выраженности. Приступы тревоги, панический страх «сосудистой катастрофы» могут провоцировать подъемы АД и тахикардию, что ухудшает прогноз имеющих сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Кардиоваскулярная составляющая постковидного синдрома

Сердечно-легочные осложнения COVID включают миоперикардит, эндокардит, инфаркты миокарда, инсульт, аритмии, тромбоэмболические события, которые могут проявиться через несколько недель после острого процесса и чаще встречаются у пациентов с ССЗ в анамнезе, хотя неоднократно были диагностированы и у ранее интактных по этим заболеваниям пациентов [30, 31]. V.O. Puntmann и соавт. [32] в среднем через 71 день после верификации коронавирусной инфекции свидетельствовали об увеличении объема и массы миокарда со снижением фракции выброса левого желудочка по данным МРТ и об активном лимфоцитарном воспалении по итогам биопсии. Сообщают об отеке, фиброзе миокарда и систолической дисфункции правого желудочка [33]. Подтверждено, что SARS-Cov-2 может вызвать острый, подострый и хронический миокардит, клинические проявления которого развиваются от 1 до 4–6 месяцев после острой COVID-19. Процесс имеет две основные клинические формы – изолированную аритмическую и декомпенсированную, проявляющуюся систолической дисфункцией миокарда с дилатацией камер или без нее. Постковидный миокардит развивается по причине длительной персистенции SARS-Cov-2 в миокарде (кардиомиоцитах, эндотелии, макрофагах) 83,3% больных в сочетании с высокой иммунной активностью (высокими титрами антикардиальных антител) у 93,3% больных, многие из которых имеют стойко повышенные острофазовые показатели и маркеры иммунного воспаления. Нередко миокардит сочетается с перикардитом и коронариитом. Последнее объясняет наличие болей в сердце и признаков ишемии на ЭКГ. В связи с распространенностью этого проявления COVID-19 любая неясная дисфункция миокарда в условиях пандемии требует серодиагностики новой коронавирусной инфекции, которая также может индуцировать хронический небактериальный лимфоцитарный тромбоэндокардит и инфекционный эндокардит [34].

Через три месяца после диагностики COVID-19 изменения со стороны сердечно-сосудистой системы имеются у 71% пациентов легкой, 93% – средней степени тяжести и 95% больных с тяжелым течением инфекционного процесса. На боли в области сердца жалуются 13%, 33,3% и 57% пациентов, соответственно, на сердцебиение и перебои в работе сердца – 9,6%, 37% и 78%, на повышение артериального давления (АД) – 12,9%, 14,8% и 47%. По данным холтеровского мониторирования электрокардиограммы (ЭКГ) при легком и среднетяжелом течении COVID-19 преобладают экстрасистолия, пароксизмальная наджелудочковая тахикардия, фибрилляция предсердий и удлинение скорректированного интервала QT (7 и 15,1%, соответственно). Эхокардиография (ЭхоКГ) обнаруживает нарушение диастолической функции желудочков, степень которого коррелирует с тяжестью COVID-19; изменение глобального систолического стрейна ЛЖ; увеличение правых отделов сердца и повышение давления в легочной артерии (ЛА) при тяжелом течении инфекции; наличие свободной жидкости в перикарде, уплотнение его листков преимущественно за задней стенкой левого желудочка (ЛЖ) у 19,9-26,3% больных; снижение регионарной скорости движения базальных сегментов ЛЖ; внутрисердечные тромбозы; тромбоэмболии легочной артерии; инфекционный эндокардит или тромбоэндокардит [35, 36]. У врачей имеются опасения, что дисфункция ЛЖ может быть одним из признаков естественного продолжения COVID-19 и в совокупности с продолжающимся воспалением становится почвой для развития кардиомиопатии, аритмии и сердечной недостаточности [37]. Поэтому пациенты с сердечно-сосудистыми симптомами нуждаются в динамическом наблюдении для предупреждения тяжелых и долгосрочных осложнений. Мониторинг предусматривает стандартную ЭКГ и ЭхоКГ, холтеровское мониторирование через 2-6 месяцев после выздоровления, МРТ с гадолиниевым усилением при выявлении отклонений при первичном обследовании [38]. Обязательному наблюдению в послеострый период должны подвергаться и лица с признаками хронического легочного сердца (ХЛС), поскольку при COVID-19 имеются множественные предпосылки для его формирования и прогрессирования правожелудочковой недостаточности [39].

В период пандемии в рамках постковидного синдрома в разных странах, помимо частой синусовой тахикардии, описаны многочисленные случаи синдрома постуральной ортостатической тахикардии с соответствующими симптомами – головокружением, сердцебиением, дрожью в теле, кардиалгиями при переходе в вертикальное положение при отсутствии ортостатической артериальной гипотензии, а также признаками, независимыми от положения тела – нарушением сна, головной болью, хронической усталостью, непереносимостью физических нагрузок, когнитивными нарушениями, акроцианозом, тошнотой. В перечень лекарственных препаратов, эффективных при этой

патологии, наряду с другими, рекомендуют включать ингибитор If-каналов синусового узла ивабрадин [40].

Среди причин нарушений ритма при COVID-19 называют миокардит, кардиомиопатию и фиброз миокарда вследствие вирусной инфекции, повышенный катехоламинергический статус, увеличение содержания в крови провоспалительных цитокинов IL-6, IL-1 и TNF- α , способных модулировать экспрессию ионных каналов кардиомиоцитов [41].

Еще одним драматичным проявлением «постковидного» являются отсроченные тромботические события (4,4% больных с тяжелым ковидом). На момент выявления 95% из них бессимптомны. 39% тромбов локализируются в артериях конечностей, 24% – в церебральных, 9% – в коронарных, 8% – в верхней брыжеечной артериях, 19% – в крупных сосудах (аорте, общей подвздошной, общей сонной артериях и брахиоцефальном стволе). Смертность в этой группе составляет около 20% [42]. Во многих случаях поздние тромботические события у серопозитивных больных возникают без респираторных симптомов. Описано четыре случая катастрофических артериальных тромбозов у ранее бессимптомных по COVID-19 лиц южно-азиатской национальности с положительной ПЦР на SARS-CoV-19, средний возраст которых составлял 38,5 лет. Из факторов риска только у одного из них имелся сахарный диабет. Тромботические события произошли примерно через 78 дней после сероконверсии и проявились тяжелым ишемическим инсультом у двух пациентов, острой ишемией конечности в связи с эмболией из тромба аорты у третьего и инфарктом миокарда на фоне полной окклюзии левой передней нисходящей артерии у последнего пациента. При комплексном обследовании признаков атеросклеротической болезни и тромбофилии ни у одного из них не выявлено. В остром периоде тромбоза диагностирована гиперкоагуляция – выраженное повышение уровня D-димера, фибриногена, фактора VIII и антигена фактора Виллебранда. Увеличение трех последних показателей наблюдалось и через 2-3 месяца от начала острого тромбоза, что подтверждало сохраняющийся высокий риск тромбообразования [43]. Одной из основных причин подобных изменений исследователи считают «эндотелиальную болезнь», формирующуюся при заражении SARS-CoV-2 и сохраняющуюся продолжительное время. Авторы полагают, что данное наблюдение свидетельствует о необходимости тщательного контроля за бессимптомными и выздоровевшими пациентами на предмет возможных микро- и макрососудистых осложнений в сосудистых руслах абсолютного большинства органов. Особого внимания заслуживают лица с высоким риском ИБС, для которых врачи скорой помощи и кардиологи должны иметь низкий порог госпитализации и проводить скрининг даже при неспецифических кардиальных симптомах [44]. Увеличение числа периферических артериальных тромбозов при COVID-19 связывают и с приростом новых случаев фибрилляции предсердий при этом

заболевании, но аргументов для таких выводов пока недостаточно. Исходя из этого, профессиональные сообщества предлагают придерживаться стандартных подходов к лечению этой аритмии [45].

Интересно, что если в обычных, доковидных, условиях гиперкоагуляция ассоциировалась преимущественно с венозной тромбоземболией, то при COVID-19 поражаются и артериальная, и венозная системы. Нередки обширные тромбозы глубоких вен и массивная легочная эмболия. Тромбы макроскопически выглядят иначе, чем «нековидные», имеющие типичную желатиновую консистенцию. При обследовании отсутствует связь ковидной гиперкоагуляции с известными заболеваниями крови, поэтому полагают, что она провоцируется SARS-CoV-2. Имеются сведения о достаточно низком удельном весе успешных реваскуляризации у пациентов с COVID-19, что объясняют, во-первых, подтвержденными при контрольных ангиографиях расстройствами циркуляции (картина «пустынной стопы») вследствие процессов, описанных выше; во-вторых, вероятностью раннего рецидивирования тромбоза уже пролеченного сегмента. Это побуждает врачей использовать более агрессивный режим лечения с интраоперационным тромболизисом и непрерывной инфузией гепарина, который предотвращает проксимальное и дистальное распространение тромба и поддерживает проходимость коллатеральных сосудов. Однако официальный протокол таких операций пока отсутствует [46].

Некоторые проблемы организации медицинской помощи и сердечно-сосудистые события

Важным фактором роста ССЗ во время волн пандемии является уменьшение доступности медицинской помощи вследствие перепрофилирования многих стационаров для борьбы с COVID-19, а также страха ряда пациентов заразиться при посещении лечебных учреждений, из-за чего первичные обращения к врачам часто бывают отсроченными. В первый пик заболевания на более поздние сроки переносились и многие плановые кардиохирургические вмешательства, изменялся формат профосмотров и диспансеризации [47]. Такие тенденции характерны для всего мира. Так, в США, Италии, Франции, Австрии и Дании в период пандемии отмечено значительное снижение числа госпитализаций по поводу острого коронарного синдрома, инсульта, вновь возникшей фибрилляции предсердий и декомпенсированной сердечной недостаточности параллельно с ростом избыточных смертей, не связанных с COVID-19 [48]. В связи с этим соматические заболевания могли прогрессировать и осложняться. Поэтому есть мнение, что в недалеком будущем мир столкнется с эпидемиями 1) заболеваемости и смертности от острых заболеваний, несвязанных с COVID-19, из-за снижения поддержки хронических больных во время пандемии и 2) эпидемией психического нездоровья вследствие предтравматического и посттравматического стрессов из-за потери близких,

невольного ожидания болезни на фоне регулярных тревожных сообщений СМИ и непосредственного свидетельства страданий и смерти людей – членов семьи, друзей и коллег. Поэтому очевидно, что в условиях войны с COVID-19 нельзя пренебрегать мероприятиями по минимизации рисков, связанных с указанными теневыми эпидемиями [49].

Итак, на сегодняшний день сформировались и продолжают увеличиваться три группы населения: 1) здоровые люди, нуждающиеся в профилактических мероприятиях; 2) заболевшие люди, подлежащие лечению со всеми необходимыми расходами и 3) переболевшие люди, нуждающиеся в реабилитации и лечении постковидного синдрома [50]. Поэтому особенно актуальна разработка медицинских и социальных программ, методов лечения и реабилитации, экономической поддержки больных с Long-Covid, которые должны предусматривать как приоритетный очный контакт с пациентами, так и использование телемедицины, общения в социальных сетях, способных обеспечить нуждающимся постоянную доступную связь с медицинскими работниками. Например, в Великобритании имеется специальный сайт для перенесших COVID, на котором они беспрепятственно получают рекомендации о своих действиях в той или иной ситуации [51]. В Хабаровском крае еще в 2020 году на пике заболеваемости острым COVID-19 для помощи перегруженным врачам амбулаторного звена, а также в клинически сложных случаях эффективно практиковали ежедневные дистанционные консультации с участием компетентных региональных специалистов и клиницистов медицинского вуза в формате телемедицины. Для мониторинга состояния пациентов использовали телефонные звонки, общение в социальных сетях и на различных электронных платформах аудио-видео-связи. Эти методы доказали свою эффективность для получения новой научной информации и контроля за больными, требующими регулярного наблюдения и врачебных рекомендаций в условиях волн пандемии [52].

В отечественной и зарубежной литературе наиболее активно поднимаются вопросы легочной реабилитации после COVID-19, однако, все чаще появляются документы, регламентирующие восстановление лиц с постковидной патологией сердечно-сосудистой системы с использованием медикаментозного, физио-, бальнеолечения, лечебной физкультуры, кинезиотерапии, психотерапии, помощи логопеда и эрготерапевта. Цель этого комплексного подхода – сокращение продолжительности Long-Covid, а следовательно, скорейшее улучшение самочувствия и работоспособности пациентов. Вызывает беспокойство, что даже при быстром росте новых случаев коронавирусной инфекции основной причиной заболеваемости и смертности во всем мире остается сердечно-сосудистая патология (более 17,9 млн случаев смертей в год, по данным ВОЗ). Поэтому уместно будет завершить этот обзор мнением сингапурских коллег, заявивших о необходимости

сделать все возможное, чтобы «сохранить сердце» во время пандемии [53].

Заключение

Многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов доказали, что новая коронавирусная инфекция опасна не только в острый период, но и спустя продолжительное время после появления ее первых симптомов. Достаточная часть пациентов с постковидным синдромом имеет пять и более различных симптомов, что предполагает системность поражения и необходимость патогенетического лечения. Особое внимание должно быть уделено коррекции эндотелиальной дисфункции и профилактики тромбозов. При этом в пристальном наблюдении специалистов нуждаются не только переболевшие тяжелой COVID-19, но и бессимптомные и перенесшие острую стадию в легкой форме. Несомненно, никакие дистанционные методы не могут конкурировать с непосредственным общением врача и пациента. Однако в условиях пандемии дополнительные возможности мониторинга состояния пациентов и коррекции лечения предоставляют электронные средства связи, с помощью которых поддерживается постоянный и доступный контакт с врачами, а также обеспечивается определенная безопасность для здоровья последних. Кроме того, в режиме on-line имеется возможность получения информации для углубления знаний, а значит, и совершенствования умений специалистов в отношении «хвоста» COVID-19.

В мире насчитываются многие тысячи больных с постковидными расстройствами, количество которых будет возрастать по мере распространения пандемии. В связи с этим перед международным медицинским сообществом, наряду с вопросами профилактики и лечения острой COVID-19, сегодня стоит не менее важная проблема изучения предикторов и механизмов патогенеза долгого ковида, вариантов его течения, обратимости развития синдромов, тактики лечения пациентов и вопросов их реабилитации.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

- Hendren N.S., Drazner M.H., Bozkurt B., Cooper L.T. Description and Proposed Management of the Acute COVID-19 Cardiovascular Syndrome. *Circulation*. 2020; 141 (23): 1903-1914. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047349.
- Хасанова Д.Р., Житкова Ю.В., Васкаева Г.Р. Постковидный синдром: обзор знаний о патогенезе, нейропсихиатрических проявлениях и перспективах лечения. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2021; 13 (3): 93-98. [Khasanova D.R., Zhitkova Y.V., Vaskaeva G.R. Postvoid syndrome: a review of knowledge on pathogenesis, neuropsychiatric manifestations and treatment perspectives. *Nevrologiya, nejropsihiatriya, psihosomatika – Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*. 2021; 13 (3): 93-98 (in Russ).] DOI: 10.14412/2074-2711-2021-3-93-98.
- Dennis A., Wamil M., Kapur S., Alberts J., Badley A.D., Decker G.A., Rizza S.A., Banerjee R., Banerjee A. Multi-organ impairment in low-risk individuals with long COVID. *MedRxiv*. 2020; DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.10.14.20212555>.
- Greenhalgh T., Knight M., A'Court Ch., Buxton M., Husain L. Management of post-acute covid-19 in primary care. *BMJ*. 2020; 370: m3026. DOI: 10.1136/bmj.m3026.
- COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19 // NICE guideline. URL: www.nice.org.uk/guidance/ng188 (Published: 18 December 2020)
- Tenforde M.W., Kim S.S., Lindsell Ch.J., Rose E.B., Shapiro N.I., Files D.C., Gibbs K.W., Erickson H.L., Steingrub J.S., Smithline H.A., Gong M.N., Aboodi M.S., Exline M.C., Henning D.J., Wilson J.G., Qadir A.K.N., Brown S.M., Peltan I.D., Rice T.W., Hager D.N., Ginde A.A., Stubblefield W.B., Patel M.M., Self W.H., Feldstein L.R. Symptom Duration and Risk Factors for Delayed Return to Usual Health Among Outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network – United States, March–June 2020. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2020; 69 (30): 993-998. DOI: 10.15585/mmwr.mm6930e1.
- Amenta E.M., Spallone A., Rodriguez-Barradas M.C., El Sahly H.M., Atmar R.L., Kulkarni P.A. Postacute COVID-19: An Overview and Approach to Classification. *Open Forum Infect Diseases*. 2020; 7 (12): DOI: 10.1093/ofid/ofaa509.
- Белоцерковская Ю.Г., Романовских А.Г., Смирнов И.П., Синопальников А.И. Долгий COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021; 23 (3): 261-268. [Belotserkovskaya Y.G., Romanovskikh A.G., Smirnov I.P., Sinopalnikov A.I. Long COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021; 23 (3): 261-268 (in Russ).] DOI: 10.26442/20751753.2021.3.200805.
- Becker R.C. COVID-19 and its sequelae: a platform for optimal patient care, discovery and training. *J Thromb Thrombolysis*. 2021; (27): 1–8. DOI: 10.1007/s11239-021-02375-w.
- McKee M. Understanding and managing 'prolonged COVID-19' requires a participatory approach from patients. WHO Regional Office for Europe policy brief "Following the pandemic: preparing for prolonged COVID (2021)". Statement by Professor, European Observatory on Health Systems and Policies. URL: euro.who.int/...media...2021...covid-19...long-covid-post... (25 February 2021).]
- Sudre C.H., Murray B., Varsavsky Th., Graham M.S., Penfold R.S., Bowyer R.C., Pujol J.C., Klaser K., Antonelli M., Canas L.S., Molteni E., Modat M., Cardoso M.J., May A., Ganesh S., Davies R., Nguyen L.H., Drew D.A., Astley Ch.M., Joshi A.D., Merino J., Tsereteli N., Fall T., Gomez M.F., Duncan E.L., Menni C., Williams F.M.K., Franks P.W., Chan A.T., Wolf J., Ourselin S., Spector T., Steves C.J. At-tributes and predictors of long COVID. *Nat Med*. 2021; 27 (4): 626-631. DOI: 10.1038/s41591-021-01292-y.
- Tay M.Z., Poh Ch.M., Rénia L., MacAry P.A., Ng L.F.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20 (6): 363-374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8.
- Лязгиян К.С. Клинико-иммунологические особенности новой коронавирусной инфекции SARS-COV-2 у беременных женщин (обзор литературы). *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2021; Выпуск 80: С.91–99. [Lazgiyan K.S. Clinical and immunological features of a new coronavirus infection SARS-COV-2 in pregnant women (literature review). *Byulleten' fiziologii i patologii dyhaniya – Bulletin of Respiratory Physiology and Pathology*. 2021; (80): С.91–99 (in Russ).] DOI: 10.36604/1998-5029-2021-80-91-99.
- Lan L., Xu D., Ye G., Xia Ch., Wang Sh., Li Y., Xu H. Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19. *JAMA*. 2020; 323 (15): 1502–1503. DOI: 10.1001/jama.2020.278.

15. Aslam S., Mehra M.R. COVID-19: Yet another coronavirus challenge in transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2020; 39 (5): 408–409. DOI: 10.1016/j.healun.2020.03.007.
16. Monti S., Balduzzi S., Delvino P., Bellis E., Quadrelli V.S., Montecucco C. Clinical course of COVID-19 in a series of patients with chronic arthritis treated with immunosuppressive targeted therapies. *Ann Rheum Dis*. 2020; 79 (5): 667–668. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-217424.
17. Бунова С.С., Охотникова П.И., Скирденко Ю.П., Николаев Н.А., Осипова О.А., Жернакова Н.И. COVID-19 и сердечно-сосудистая коморбидность: поиск новых подходов к снижению смертности. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021; 20 (4): 122–128. [Bunova S.S., Okhotnikova P.I., Skirdenko Y.P., Nikolaev N.A., Osipova O.A., Zhernakova N.I. COVID-19 and cardiovascular comorbidity: search for new approaches to mortality reduction. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika – Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021; 20 (4): 122–128 (in Russ).] DOI:10.15829/1728-8800-2021-2953.
18. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., Mehra M.R., Schuepbach R.A., Ruschitzka F., Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395 (10234): 1417–1418. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
19. Yong S.J. Persistent Brainstem Dysfunction in Long-COVID: A Hypothesis. *ACS Chem Neurosci*. 2021; 12(4): 573–580. Doi: 10.1021/acchemneuro.0c00793.
20. Moreno-Pérez O., Merino E., Leon-Ramirez J.-M., Andres M., Ramos J.M., Arenas-Jiménez J., Asensio S., Sanchez R., Ruiz-Torregrosa P., Galan I., Scholz A., Amo A., González-delaAleja P., Boix V., Gil J. Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: A Mediterranean cohort study. *J Infect*. 2021; 82 (3): 378–383. Doi: 10.1016/j.jinf.2021.01.004.
21. Кукес И.В., Салмаси Ж.М., Терновой К.С., Казимирский А.Н., Ободзинская Т.Е., Лим В.Г., Глаговский П.Б., Мамедов И.С., Порядин Г.В., Савичева А.С., Кукес Е.А., Птицын М.С., Андреев А.Д. Предпосылки к созданию атласа постковидного воспаления как способа персонализированной фармакотерапии, а также прогнозирования и предупреждения органических и системных дисфункций. *Медицинский совет*. 2021; (12): 72–88. [Kukes I.V., Salmasi J.M., Ternovoi K.S., Kazimirsky A.N., Obodzinskaya T.E., Lim V.G., Glagovsky P.B., Mamedov I.S., Poryadin G.V., Savicheva A.S., Kukes E.A., Pitsyn M.S., Andreev A.D. Prerequisites for creating an atlas of postinflammation as a way to personalized pharmacotherapy as well as prognosis and prevention of organ and systemic dysfunctions. *Medical Board*. 2021; (12): 72–88 (in Russ).] Doi.org/10.21518/2079-701X-2021-12-72-88.
22. Sigfrid L., Drake Th.M., Pauley E., Jesudason E.C., Olliaro P., Lim W. Sh., Gillesen A., Berry C., Lowe D.J., McPeake J., Lone N., Munblit D., Cevik M., Casey A., Bannister P., Russell C.D., Goodwin L., Ho A., Turtle L., O'Hara M.E., Hastie C., Donohue Ch., Spencer R.G., Donegan C., Gummery A., Harrison J., Hardwick H.E., Hastie C.E., Carson G., Merson L., Baillie J.K., Openshaw P., Harrison E.M., Docherty A.B., Semple M.G., Scott J.T. Long Covid in adults discharged from UK hospitals after Covid-19: A prospective, multicentre cohort study using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol. *The Lancet*. 2021; August 05: DOI:https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100186.
23. Estimates of the prevalence of self-reported "long COVID", and the duration of ongoing symptoms following confirmed coronavirus infection, using UK Coronavirus (COVID-19) Infection Survey data to 6 March 2021. *Office for National Statistics*. URL: https://www.ons.gov.uk/releases/prevalence_ofongoingsymptomsfollowingcoronaviruscovid19infection_intheuk
24. Ayoubkhani D., Khunti K., Nafilyan V., Maddox Th., Humberstone B., Diamond I., Banerjee A. Post-covid syndrome in individuals admitted to hospital with covid-19: retrospective cohort study. *BMJ*. 2021; 372:n693. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.n693>.
25. Carfi A., Bernabei R., Landi F., Against G. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA*. 2020; 324 (6): 603–605. DOI: 10.1001/jama.2020.12603.
26. Воробьев А.П., Воробьев П.А., Муканин Д.А., Краснова Л.С. Эффективность системы искусственного интеллекта medicase при диагностике инфекции COVID-19 в амбулаторных условиях. *Проблемы стандартизации в здравоохранении*. 2020; (11-12): 27–36. [Vorobyev A.P., Vorobyev P.A., Mukanin D.A., Krasnova L.S. Effectiveness of the medicase artificial intelligence system in the diagnosis of COVID-19 infection in outpatient settings. *Problemy standartizacii v zdravoohranenii – Problems of standardization in public health*. 2020; (11-12): 27–36 (in Russ).] DOI: 10.26347/1607-2502202011-12027-036.
27. Pavli A., Theodoridou M., Maltezos H.C. Post-COVID Syndrome: Incidence, Clinical Spectrum, and Challenges for Primary Healthcare Professionals. *Arch Med Res*. 2021; 52 (6): 575–581. DOI: 10.1016/j.arcmed.2021.03.010.
29. Gutiérrez-Ortiz C., Méndez-Guerrero A., Rodrigo-Rey S., San Pedro-Murillo E., Bermejo-Guerrero L., Gordo-Mañas R., de Aragón-Gómez F., Benito-León J. Miller Fisher syndrome and polyneuritis cranialis in COVID-19. *Neurology*. 2020; 95 (5): e601–e605. DOI: 10.1212/WNL.00000000000009619.
30. Kochi A.N., Tagliari A.P., Forleo G.B., Fassini G.M., Tondo C. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2020; 31 (5): 1003–1008. DOI: 10.1111/jce.14479.
31. Madjid M., Safavi-Naeini P., Solomon S.D., Vardeny O. Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System: A Review. *JAMA Cardiology*. 2020; 5 (7): 831–840. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1286.
32. Puntmann V.O., Carerj M.L., Wieters I., Fahim M., Arendt Ch., Hoffmann J., Shchendrygina A., Escher F., Vasa-Nicotera M., Zeiher A.M., Vahreschild M., Nagel E. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiology*. 2020; 5 (11): 1265–1273. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.3557.
33. Huang L., Zhao P., Tang D., Zhu T., Han R., Zhan Ch., Liu W., Zeng H., Tao Q., Xia L. Cardiac Involvement in Patients Recovered From COVID-2019 Identified Using Magnetic Resonance Imaging. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020; 13 (11): 2330–2339. DOI: 10.1016/j.jcmg.2020.05.004.
34. Благова О.В., Коган Е.А., Лутохина Ю.А., Куклева А.Д., Айнетдинова Д.Х., Новосадов В.М., Рудь Р.С., Зайцев А.Ю., Зайденов В.А., Куприянова А.Г., Александрова С.А., Фомин В.В. Постковидный миоэндокардит подострого и хронического течения: клинические формы, роль персистенции коронавируса и аутоиммунных механизмов. *Кардиология*. 2021; 61(6): 11–27. [Blagova O.V., Kogan E.A., Lutokhina Yu.A., Kukleva A.D., Ainetdinova D.H., Novosadov V.M., Rud R.S., Zaitsev A.U., Zaydenov V.A., Kupriyanova A.G., Alexandrova S.A., Fomin V.V. Post-acute myoendocarditis of subacute and chronic course: clinical forms, role of coronavirus persistence and autoimmune mechanisms. *Cardiology*. 2021; 61(6): 11–2 (in Russ).] DOI: 10.18087/cardio.2021.6.n1659.
35. Чистякова М.В., Зайцев Д.Н., Говорин А.В., Медведева Н.А., Курохтина А.А. «Постковидный» синдром: морфофункциональные изменения и нарушения ритма сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2021; 26 (7): 32–39 [Chistyakova M.V., Zaitsev D.N., Govorin A.V., Medvedeva N.A., Kurokhtina A.A. «Postictal» syndrome: morphofunctional changes and heart rhythm disturbances. *Rossiiskij kardiologicheskij zhurnal – Russian Journal of Cardiology*. 2021; 26 (7): 32–39 (in Russ).] DOI:10.15829/1560-4071-2021-4485.
36. Рыбакова М.К., Митьков В.В., Худорожкова Е.Д., Балдин Д.Г., Котаева Е.А. Эхокардиография в диагностике сердечно-сосудистых осложнений у больных, перенес-

- ших COVID-19, и алгоритм эхокардиографического исследования у данной категории больных. *Медицинский алфавит*. 2021; № 17: 20-31. [Rybakova M.K., Mitkov V.V., Khudorozhkova E.D., Baldin D.G., Kotaeva E.A. Echocardiography in the diagnosis of cardiovascular complications in patients undergoing COVID-19 and an algorithm for echocardiographic examination in this patient category. *Medicinskij alfavit – Medical alphabet*. 2021; (17): 20-31 (in Russ).] DOI: 10.33667/2078-5631-2021-17-20-31.
37. Yancy C.W., Fonarow G.C. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and the Heart-Is Heart Failure the Next Chapter? *JAMA Cardiology*. 2020; 5 (11): 1216-1217. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.3575.
38. Mitrani R.D., Dabas N., Goldberger J.J. COVID-19 cardiac injury: Implications for long-term surveillance and outcomes in survivors. *Heart Rhythm*. 2020; 17(11): 1984-1990. DOI: 10.1016/j.hrthm.2020.06.026.
39. Сукмарова З.Н., Демьяненко А.В., Гудантов Р.Б. Актуальность «синдрома легочного сердца» на фоне пандемии COVID-19. *Военно-медицинский журнал*. 2021; (7): 34-36. [Sukmarova Z.N., Demyanenko A.V., Gudantov R.B. Relevance of «pulmonary heart syndrome» against the background of pandemic COVID-19. *Voenno-meditsinskij zhurnal – Military Medical Journal*. 2021; (7): 34-36 (in Russ).] DOI: 10.52424/00269050_2021_342_7_34.
40. Подзолков В.И., Брагина А.Е., Тарзиманова А.И., Васильева Л.В., Багракова Е.П., Лобова Н.В., Быкова Е.Е., Хачуроева М.М. Постковидный синдром и тахикардия: теоретические основы и опыт лечения. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2021; 17(2): 256-262. [Podzolkov V.I., Bragina A.E., Tarzimanova A.I., Vasil'eva L.V., Batrakova E.P., Lobova N.V., Bykova E.E., Khachuroeva M.M. I.M. Post-COVID Syndrome and Tachycardia: Theoretical Base and Treatment Experience. *Ratsionalnaia Farmakoterapiia v Kardiologii – Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2021; 17(2): 256-262 (in Russ).] DOI:10.20996/1819-6446-2021-04-08.
41. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A., Madhavan M.V., McGroder Ch., Stevens J.S., Cook J.R., Nordvig A.S., Ausiello J.C., Accili D., Freedberg D.E., Baldwin M., Schwartz A., Brodie D., Garcia C.K., Elkind M.S.V., Connors J.M., Bilezikian J.P., Landry D.W., Wan E.Y. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021; (27): 601-615. DOI:10.1038/s41591-021-01283-z.
42. Cheruiyot I., Kipkorir V., Ngure B., Misiani M., Munguti J., Ogeng'o J. Arterial Thrombosis in Coronavirus Disease 2019 Patients: A Rapid Systematic Review. *Ann Vasc Surg*. 2021; (70): 273-281. DOI: 10.1016/j.avsg.2020.08.087.
43. Fan B.E., Umapathi T., Chua K., Chia Y.W., Wong Sh.W., Tan G.W.L., Chandrasekar S., Lum Y.H., Vasoo Sh., Dalan R. Delayed catastrophic thrombotic events in young and asymptomatic post COVID-19 patients. *J Thromb Thrombolysis*. 2021; 51 (4): 971-977. DOI: 10.1007/s11239-020-02332-z.
44. Dalan R., Boehm B.O. The implications of COVID-19 infection on the endothelium: A metabolic vascular perspective. *Diabetes Metab Res Rev*. 2021; 37 (3):e3402. DOI: 10.1002/dmrr.3402.
45. Шахматова О.О., Панченко Е.П., Балахонова Т.В., Макеев М.И., Миронов В.М., Бланкова З.Н., Буторова Е.А. Кардиомиопатия и множественный артериальный тромбоз у пациента с тахиформой фибрилляции предсердий, перенесшего COVID-19 тяжелого течения. *Атеротромбоз*. 2021; 11 (1): 6-24. [Shakh-matova O.O., Panchenko E.P., Balakhonova T.V., Makeev M.I., Mironov V.M., Blankova Z.N., Butorova E.A. Cardiomyopathy and multiple arterial thrombosis in a patient with severe COVID-19 atrial fibrillation tachiform. *Aterotromboz – Atherothrombosis*. 2021; 11 (1): 6-24 (in Russ).] DOI.org/10.21518/2307-1109-2021-11-1-6-24.
46. Bellosta R., Luzzani L., Natalini G., Pegorer M.A., Attisani L., Cossu L.G., Ferrandina C., Fossati A., Conti E., Bush R.L., Piffaretti G. Acute limb ischemia in patients with COVID-19 pneumonia. *J Vasc Surg*. 2020; 72 (6): 1864-1872. DOI: 10.1016/j.jvs.2020.04.483.
47. Чазова И.Е., Миронова О.Ю. COVID-19 и сердечно-сосудистые заболевания. *Терапевтический архив*. 2020; № 9: 4-7. [Chazova I.E., Mironova O.Yu. COVID-19 and cardiovascular diseases. *Terapevticheskij arhiv – Therapeutic archive*. 2020; (9): 4-7 (in Russ).] DOI: 10.26442/00403660.2020.09.000742.
48. Butt J.H., Fosbøl E.L., Gerdts Th.A., Andersson Ch., Kragholm K., Biering-Sørensen T., Andersen J., Phelps M., Andersen M.P., Gislason G., Torp-Pedersen Ch., Køber L., Schou M. All-cause mortality and location of death in patients with established cardiovascular disease before, during, and after the COVID-19 lockdown: a Danish Nationwide Cohort Study. *Eur Heart J*. 2021; 42 (15): 1516-1523. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab028.
49. Woolley I. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): not one epidemic but four. *Intern Med J*. 2020; 50 (6): 657-658. DOI: 10.1111/imj.14866.
50. Беляков Н.А., Трофимова Т.Н., Симакина О.Е., Рассохин В.В., Серебрякова С.Л. Динамика пандемии COVID-19 и формирование постковидного периода в России. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2021; 13 (2): 7-19. [Belyakov N.A., Trofimova T.N., Simakina O.E., Rassokhin V.V., Serebryakova S.L. Dynamics of the COVID-19 pandemic and formation of a post-coVID period in Russia. *VICH-infekciya i immunosupressii – HIV-infection and immunosuppression*. 2021; 13 (2): 7-19 (in Russ).] DOI.org/10.22328/2077-9828-2021-13-2-7-19.
51. Long-term effects of coronavirus (long COVID). *National Health Service*. URL: nhs.uk...coronavirus-covid-19/long-term-effects-of... (19 August 2021).
52. Жмеренецкий К.В., Витько А.В., Петричко Т.А., Витько Л.Г., Воронина Н.В., Бухонкина Ю.М., Ушакова О.В., Сазонова Е.Н., Дорофеев А.Л., Неврычева Е.В. Сложные вопросы ведения пациентов с COVID-19, коморбидных по сердечно-сосудистым заболеваниям и сахарному диабету 2-го типа 1. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2020; (2): 102-114. [Zhmerenetsky K.V., Vitko A.V., Petrichko T.A., Vitko L.G., Voronina N.V., Bukhonkina Y.M., Ushakova O.V., Sazonova E.N., Dorofeev A.L., Nevrycheva E.V. Complex issues of managing patients with COVID-19 comorbid in cardiovascular disease and type 2 diabetes 1. *Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal – Far Eastern Medical Journal*. 2021; (2): 102-114 (in Russ).] DOI: org/10.35177/1994-5191-2020-2-101-113.
53. Yeo T.J., Wang Y-T.L., Low T.T. Have a heart during the COVID-19 crisis: Making the case for cardiac rehabilitation in the face of an ongoing pandemic. *Eur J Prev Cardiol*. 2020; 27 (9): 903-905. DOI: 10.1177/2047487320915665.

УДК 615.32:577.979.8

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-65-71

Каротиноиды в практической медицине

В.М. Колдаев¹, А.В. Кропотов²

¹ Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток, Россия; ² Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия

В обзоре приводятся данные о применении каротиноидов при наиболее угрожающих патологических состояниях. Лечебно-профилактическое действие каротиноидов обусловлено инактивацией активных форм кислорода и свободных радикалов. Устраняя явления и последствия окислительного стресса, каротиноиды эффективны как в коррекции метаболических нарушений сахарного диабета и абдоминального ожирения, так и в снижении риска сердечно-сосудистых заболеваний. Обогащенные каротиноидами диеты проявляют широкий спектр противораковых эффектов, модуляций апоптоза и блокад метастазирования. Каротиноиды защищают от окислительных повреждений дофаминэргические нейроны головного мозга и снижают выраженность нейродегенеративных расстройств, болезней Альцгеймера и Паркинсона. Однако каротиноиды имеют ограниченную биодоступность из-за своей низкой водорастворимости. Будущие исследования должны быть направлены на разработку свободных от этого недостатка лекарственных форм каротин-содержащих фитопрепаратов.

Ключевые слова: антиоксидант, окислительный стресс, метаболическое нарушение, нейродегенерация, онкология, диабет, ожирение, фитопрепарат

Поступила в редакцию 08.12.2021. Получена после доработки 14.12.2021. Принята к печати 12.01.2022.

Для цитирования: Колдаев В.М., Кропотов А.В. Каротиноиды в практической медицине. Тихоокеанский медицинский журнал. 2022;1:65–71. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-65-71

Для корреспонденции: Колдаев Владимир Михайлович – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственных растений ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук (690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159), ORCID: 0000-0002-6206-200X; e-mail: kolvm42@rambler.ru

Carotenoids in practical medicine

V.M. Koldaev¹, A.V. Kropotov²

¹ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia; ² Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Summary: The review presents data on the use of carotenoids in the most threatening pathological conditions. The therapeutic and preventive effect of carotenoids is due to the inactivation of active oxygen species and free radicals. By eliminating the phenomena and consequences of oxidative stress, carotenoids are effective both in treating metabolic disorders in diabetes mellitus and abdominal obesity, and in reducing the risk of cardiovascular diseases. Diets enriched with carotenoids have a wide range of anti-cancer effects, apoptosis modulations and metastasis blocks. Carotenoids protect dopaminergic neurons of the brain from oxidative damage and reduce the severity of neurodegenerative disorders, Alzheimer's and Parkinson's diseases. However, carotenoids have limited bioavailability due to their low water solubility. Future research should be directed to the development of medicinal forms of carotene-containing phytopreparations that don't have such disadvantage.

Keywords: antioxidant, oxidative stress, metabolic disorder, neurodegeneration, oncology, diabetes, obesity, herbal medicine

Received 08 December 2021; Revised 14 December 2021; Accepted 12 January 2022

For citation: Koldaev V.M., Kropotov A.V. Carotenoids in practical medicine. Pacific Medical Journal. 2022;1:65–71. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-65-71

Corresponding author: Vladimir M. Koldaev, PhD of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Medicinal Plants of the Federal Research Center for Biodiversity of Terrestrial Biota of East Asia of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (159 Prospect 100-Letiya Vladivostoka, Vladivostok, 690022, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-6206-200X; e-mail: kolvm42@rambler.ru

Каротиноиды составляют обширную группу жирорастворимых желто-оранжево-красных пигментов, производимых всеми фотосинтезирующими организмами, некоторыми прокариотами и грибами [1]. Годовая продукция каротиноидов зелеными растениями, по данным спутника SeaWiFS [2], достигает 100 млн т. Углубленное изучение каротиноидов началось с 30-х годов прошлого века [3], когда было установлено, что выделенный из моркови *Daucus carota* (отсюда

название класса соединений) β -каротин как предшественник витамина А необходим для зрения.

Однако сведения о каротиноидах размещены в разрозненных многочисленных научных изданиях, поэтому затрудняются сопоставление и анализ результатов исследований и, кроме того, остается неудовлетворительной осведомленность о других, кроме зрения, возможных сферах приложения каротиноидов в практической медицине, что потребовало избирательного

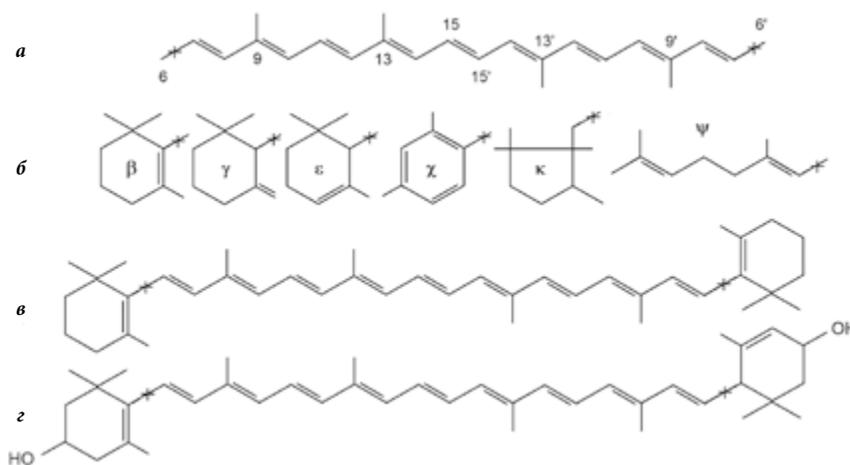


Рис. Структуры каротиноидов.

a – изопреновая цепочка, *б* – часто встречающиеся в природе концевые группы: β , γ , ϵ и ζ – шестиугольные циклические, κ – пятиугольная, ψ – нециклическая линейная, *в* – β -каротин, *г* – лютеин. Цифры – нумерация атомов углерода, + – место включения концевой группы.

подбора литературы и послужило поводом написания настоящей статьи.

Каротиноиды представляют собой тетратерпеноидные соединения, включающие цепочку изопреновых блоков с чередующимися сопряженными С=С связями и разнообразные концевые группировки (рисунк, *a*, *б*) [4].

В природе идентифицировано более 850 разновидностей каротиноидов [5], подразделяемых на каротины, состоящие только из углерода и водорода, например, β -каротин, и ксантофиллы, содержащие еще и кислород, например, лютеин (рисунк, *в* и *г*, соответственно) [6].

Сопряженные связи изопреновых блоков придают каротиноидам высокую антиоксидантную активность (АОА), ингибирование свободных радикалов и подавление активных форм кислорода (АФК) [7]. Например, астаксантин из водоросли *Haematococcus pluvialis* имеет АОА больше, чем у витамина С в 6000, у токоферола в 50, а по инактивации АФК превышает коэнзим Q в 800 и катехины зеленого чая в 550 раз [8].

Млекопитающие не способны синтезировать каротиноиды и вынуждены получать их извне с пищей для обеспечения своих жизненных процессов. Человеку требуется около десятка различных каротиноидов, на которые и направлены в основном усилия исследователей. К настоящему времени наиболее подробно изучены процессы преобразования β -каротина в *cis*-изомер ретиналя – основного звена превращения световой «энергии воздействия в факт сознания» в зрительный образ, связи ликопина, зеаксантина с функциями желтого пятна, а также роль других каротиноидов в зрительном цикле. Результаты этих почти столетних исследований вошли в содержание учебников по физиологии, и нет нужды их здесь повторять. Но, конечно, по тематике «каротиноиды – зрение» изучено далеко не все. Например, сравнительно недавно (2019 г.) установлено [9], что острота зрения и контрастная чувствительность нормального глаза

во многом зависят от насыщенности пищи каротиноидами, и обнаружены [10] специфично-связывающие белки (StARD3 и GSTP1), обеспечивающие высокоселективную адресную доставку лютеина и зеаксантина к макулацитам.

Благодаря высокой АОА каротиноиды стали применять в экспериментальной и практической медицине для коррекции различных патологических состояний [7]. Одной из ведущих медико-социальных мировых проблем является удвоение каждые 10–15 лет контингента людей, вовлеченных в сахарный диабет (СД) и ожирение. Клинические испытания с участием 747 пациентов показали, что каротиноиды оказывают защитное действие при СД [11], в силу своих антиоксидантных свойств и повышению чувствительности к инсулину [12]. Однако «каротиновая терапия» может иногда усугублять сопровождающие СД расстройства. Например, в экспериментах на стрептозотоциновой модели СД [13] обнаружено обострение диабетической ретинопатии при включении в пищевой рацион богатого каротиноидами морковного порошка [14].

При коррекции связанных с ожирением метаболических процессов криптоксантин, β -каротин, астаксантин и фукоксантин снижают адипогенез и гипертрофию адипоцитов, усиливая окисление жиров, а также диссипацию энергии в коричневых и белых адипоцитах, противодействуют абдоминальному ожирению [15]. Ликопин снижает риски ожирения печени, почек, поджелудочной железы, яичников и кишечника [16] за счет своих антиоксидантных и противовоспалительных свойств.

Не меньшую озабоченность вызывают все возрастающие онкологические проблемы. Высокая системная токсичность традиционных химиотерапевтических средств требует поиска подавляющих канцерогенез и при этом мало токсичных агентов в том числе и среди каротиноидов. Показано, что кроцин [17] из цветков шафрана *Crocus sativus* в экспериментах на культуре

ткани рака печени [18] модулирует путь IL-6/STAT3, ингибирует рост и снижает чувствительность к апоптозу раковых клеток, а также подавляет экспрессию антиапоптотических, пролиферативных, что указывает на потенциальную противоопухольевую активность этого каротиноида. По данным R.K. Saini с соавторами [19], в химиотерапии рака легких и простаты наиболее эффективны астаксантин, фукоксантин, сифонаксантин, β -криптоксантин, ликопин α - и β -каротины. При создании высокого содержания каротиноидов в крови снижаются риски колоректального рака [20] и частота рецидивов рака груди [21].

Серьезное препятствие трапии и ведущую причину гибели от рака представляют метастазы, и соединения, нацеленные на их купирование, могут улучшить результаты лечения онкологических больных. L. Koklesova с соавторами [22] считают, что противораковая активность каротиноидов в различных моделях рака *in vitro* и *in vivo* обусловлена опосредованной модуляцией сигнальных путей, участвующих в миграции и инвазии раковых клеток и метастатическом прогрессировании, включая основные регуляторы эпителиально-мезенхимального перехода, играющих роль ключевых медиаторов метастазирования.

Приспособительное увеличение в последнее время резистентности к антибиотикам пищевых патогенов бактерий и грибов обостряет проблему распространения некоторых пищевых заболеваний, поэтому, безусловно, актуальны альтернативы антибиотикам для обеззараживания пищи. Каротиноиды с высокой АОА, угнетающие митозы и подавляющие рост микроорганизмов, по-видимому, перспективны в профилактике болезней пищевого происхождения. Антимикробная эффективность каротиноидов только начинает изучаться. В частности, показано [23], что экстракты из кожуры томатов, содержащие ликопин $1,62 \pm 1,02$, β -каротин $0,39 \pm 0,14$ и лютеин $0,51 \pm 0,32$ мг/100 г сухой массы подавляют рост в наибольшей степени *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*. В аэробных условиях фукоксантин проявляет выраженное антимикробное действие по отношению к *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* при минимальной концентрации 62,5 мкг/мл [24].

Воспаления нередко сопровождаются болезненными явлениями разной тяжести вплоть до летального исхода. Как известно [25], каротиноиды влияют на содержание в крови цитокинов и С-реактивного белка, повышают концентрации интерферона и снижают содержание макрофагального воспалительного белка, что может быть важно в поддержании воспалительного гомеостаза при коррекции воспалительных реакций. Показано [26], что каротиноиды действуют на внутриклеточные сигнальные каскады, блокируя транслокацию универсального ядерного транскрипционного фактора каппа-би (nuclear factor κ B), контролирующего экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла, нарушение регуляции которых

вызывает воспаление, тем самым ингибируют продукцию воспалительных цитокинов и простагландина E_2 , а также, модулируя пути воспалительного стресса, оказывают противовоспалительное действие.

Неалкогольная жировая болезнь печени (ЖБП), имеющая мировую распространенность около 25%, обычно сопровождается накоплением жира в гепатоцитах и липопероксидацией, за которыми следует окислительный стресс, стеатогепатит, фиброз и цирроз, прогрессирующие в дальнейшем до гепатоцеллюлярной карциномы [27]. Астаксантин, ликопин, β -каротин, β -криптоксантин, лютеин, фукоксантин и кроцетин, оказывают гиполипидемическое и противовоспалительное действия, предотвращают развитие ЖБП [27]. По мнению L.I. Elvira-Torales с соавторами [28], гепатопротекторное действие каротиноидов связано с их способностью снижать окислительный стресс и регулировать метаболизм липидов гепатоцитов путем модуляции соответствующих генов, что снижает риск жирового перерождения печени. Результаты национального обследования здоровья и питания взрослого населения США свидетельствуют о том, что высокое содержание в пище α -каротина, β -каротина, β -криптоксантина, лютеина и зеаксантина ограничивает или предотвращает развитие ЖБП [29].

Известными следствиями чрезмерного и хронического употребления алкоголя являются истощение запасов витамина А и алкогольная болезнь печени (АБП), при этом β -каротин в низких дозах снижает, однако в высоких дозах может повышать выраженность повреждения гепатоцитов [30]. Показано также, что β -каротин, ликопин, β -криптоксантин, лютеин и астаксантин оказывают благотворное влияние на ЖБП и АБП, посредством: 1) улучшения антиоксидантного статуса печени, что относится вообще ко всем каротиноидам, 2) преобразование β -каротина и β -криптоксантина в витамин А, что приводит к улучшению передачи сигналов ретиноидов и 3) образования метаболитов апокаротиноидов, активизирующих ферментативно-синтетические процессы в печени [31].

В онкологической практике нередко используется цисплатин (*цис*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] – *цис*-диаминдихлороплатина) в качестве противоракового средства, что сопровождается нефротоксичностью в результате интенсификации почечного окислительного стресса [32]. Ликопиновый комплекс из томатов при этом, судя по данным уровня малонового диальдегида, экспрессии белков Вах и Vcl-2 и другим показателям, оказывает защитное и профилактическое действие на ткани почек крыс, получавших цисплатин [32].

Среди лиц старшей возрастной группы распространены нейродегенеративные расстройства центральной нервной системы, сопровождающиеся прогрессирующей потерей умственных, когнитивных функций, в патогенезе которых превалирует окислительное повреждение дофаминэргических нейронов головного мозга [33]. В этом случае мощные антиоксиданты

каротиноиды, защищающие биологические мишени от АФК, могут служить агентами в профилактике и лечении неврологических заболеваний [34], в частности болезни Альцгеймера [35]. Действительно, повышенный уровень каротиноидов помогает поддерживать здоровую когнитивную функцию, особенно в пожилом возрасте [36], и оказывает нейрозащиту [37], а ликопин, β -каротин, лютеин, астаксантин и фукоксантин снижают гибель клеток мозга в условиях окислительного стресса [38]. На основе исследования динамики неврологических заболеваний С. Galasso с соавторами [39] приходят к заключению, что в противодействии нейродегенерации наиболее эффективен сильнейший природный антиоксидант астаксантин за счет инaktivации АФК, благодаря противовоспалительному и антиапоптотическому действиям, а также его способности преодолевать гематоэнцефалический барьер.

В рамках международного проекта «Память и старение» [40], включающего клинические когортные исследования процессов старения 706 пациентов в течение 12 лет с акцентом когнитивные и двигательные функции и риска болезни Альцгеймера, наибольшее снижение выраженности симптомов нейродегенерации получено [41] при использовании лютеина по сравнению с известными антиоксидантами витаминами Е и С. Но следует заметить, что результаты применения β -каротина в аналогичных исследованиях оказались статистически мало достоверными.

В развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) атеросклероз выступает как одно из первых и наиболее важных патогенетических звеньев тяжелых церебральных и сосудистых расстройств – инфарктов, инсультов, вызывающих около трети смертей во всем мире [42]. Атеросклеротические поражения сосудов фактически обусловлены главным образом окислением липопротеидов низкой плотности,

поэтому каротиноиды, благодаря высокой АОА, снижают прогрессирование атеросклероза и благотворно влияют на состояние сердечно-сосудистой системы [43]. Применение каротиноидов уменьшает риски ССЗ, сопровождается нормализацией артериального давления, снижением провоспалительных цитокинов и маркеров воспаления, например, С-реактивного белка, и повышением чувствительности к инсулину в сердечных мышцах [44], а также замедляет процессы старения сосудов [45]. Как считают М.А. Grammore с соавторами [46], ликопин, β -каротин, лютеин, фукоксантин, кантаксантин, зеаксантин, β -криптоксантин, капсорубин и астаксантин наиболее желательные добавки к функциональным диетам при реабилитации и профилактике ССЗ.

В заключение следует отметить, что по распространенности и валовой продукции в природе каротиноиды среди естественных пигментов, несомненно, занимают лидирующую позицию, а по своей АОА превосходят традиционные антиоксиданты аскорбаты и токоферолы в десятки и сотни раз [8]. Приведенные литературные данные свидетельствуют о широком спектре лечебно-профилактического действия каротиноидов (табл.), обусловленного главным образом защитой от окислительного стресса.

В отношении воспалений, рака, ССЗ, нейродегенеративных расстройств и других угрожающих патологических состояний терапевтическая эффективность каротиноидов во многих чертах аналогична или совпадает с лечебно-профилактическим действием природных высокоактивных антиоксидантов антоцианов (АЦ) [33]. В отличие от лабильных малоустойчивых АЦ, подвергающихся деградации при переработке растительного сырья, каротиноиды устойчивы к тепловой обработке, при экстракции из растений сохраняют свои молекулярные структуры и антиоксидантные

Таблица

Основные сферы приложения в лечебно-профилактической практике и природные источники наиболее часто используемых каротиноидов

Каротиноид	Сфера приложения	Источник
Астаксантин	ЖБП, нейродегенерация, ожирение, онкология	Водоросль <i>Haematococcus pluvialis</i>
Зеаксантин	ЖБП, зрение, нейродегенерация	Кукуруза, шафран, паприка
α -каротин	Диабетическая ретинопатия, нейродегенерация	Морковь, тыква, щавель, шпинат, салат, абрикос, хурма, черника, черная смородина, муковый гриб <i>Blakeslia trispora</i> , водоросль <i>Dunaliella salina</i>
β -каротин*	Антисептика, ЖБП, зрение, нейродегенерация, ожирение, онкология, СД	
β -криптоксантин	ЖБП, ожирение, онкология	Семена подсолнечника, перец сладкий, шиповник, кукуруза, чернослив
Кроцин	ЖБП, онкология	Шафран
Ликопин	Антисептика, ЖБП, нейродегенерация, ожирение, СД, ССЗ	Томат, арбуз, грейпфрут, шиповник, папайя
Лютеин	Антисептика, ЖБП, зрение, нейродегенерация, ССЗ	Шпинат, куриные яйца, морковь, мандарин, апельсин
Фукоксантин	Ожирение, онкология	Водоросли <i>Phaeophyceae</i> , <i>Chrysophyceae</i> и <i>Bacillariophyceae</i>

* – в последнее время в основном используют синтетический аналог β -каротина.

свойства [16]. По мнению А. Roohbakhsh с соавторами [12], в будущем каротиноиды займут видное место в практической медицине, например, при лечении СД и его осложнений. Использование каротиноидов, проникающих через ГЭБ и обладающих механизмом эндогенной антиоксидантной защиты путем модуляции продукции АФК, как считают А. Young и G. Lowe [7], перспективно в борьбе с окислительным стрессом в центральной нервной системе.

Однако, несмотря на обнадеживающие перспективы в клинических испытаниях, использование каротиноидов в качестве терапевтических агентов не всегда дает утешительные результаты. Например, добавление к пище высоких доз каротиноидов оказывает положительное влияние на функции сетчатки здорового глаза крыс, но негативно действует при СД, что требует проведения более подробных исследований [14]. Как отмечают J. Huang с соавторами [20], связь между уровнями сывороточных β -каротина, лютеина и зеаксантина и риском колоректального рака не всегда статистически значима. А. Young и G. Lowe [7] обращают внимание на тот немаловажный факт, что при высоких концентрациях АФК свойства каротиноидов могут трансформироваться с антиоксидантных на прооксидантные, и тогда усугубляются явления окислительного стресса вместо того, чтобы снижать его остроту. Пищевые добавки с высокими дозами β -каротина на фоне алкоголя повышают выраженность повреждений гепатоцитов и должны применяться в таких случаях с осторожностью [31]. А. Kaulmann и Т. Vohn [26] считают, что негативные результаты применения каротиноидов обусловлены недостаточной корректировкой дозировок в доклинических исследованиях и клинических испытаниях, и будущие исследования должны быть направлены на изучение зависимости эффективности каротиноидов от дозы.

Таким образом, успехи использования каротиноидов свидетельствуют о правильности выбранного направления, а недостатки указывают на необходимость дальнейших более углубленных исследований.

Важно и то, что каротиноиды как лечебные агенты имеют ограниченную биодоступность из-за своей низкой водорастворимости. Этот недостаток, по мнению Y. Genç с соавторами [47], можно устранить методами современных фармацевтических технологий, например, используя наноинкапсуляцию, сохраняющую каротиноидам первоначальные свойства и повышающую их лечебную эффективность, на что и должны быть направлены усилия разработчиков лекарственных форм каротинсодержащих фармпрепаратов.

Исходя из существа приведенного материала можно заключить:

1. Каротиноиды оказывают лечебно-профилактическое действие благодаря инактивации АФК за счет высокой АОА.

2. Устранение явлений и последствий окислительного стресса с помощью каротиноидов эффективно как в коррекции многих метаболических нарушений,

абдоминального ожирения и дислипидемии, так и в снижении риска ССЗ.

3. Обогащение диеты каротиноидами сопровождается широким спектром противораковых эффектов, включая модуляцию апоптоза, снижения метастатического прогрессирования.

4. Каротиноиды оказывают нейрозащитные эффекты путем купирования окислительных повреждений дофамиэргических нейронов – ведущих факторов в генезе нейродегенерации.

5. Действие каротиноидов и АЦ на развитие и течение наиболее угрожающих патологических состояний во многом аналогично или сопоставимо.

6. Основным препятствием широкого использования каротиноидов является их низкая биодоступность, поэтому будущие исследования должны быть направлены на разработку лекарственных форм каротинсодержащих препаратов, обеспечивающих эффективную доставку к соответствующим биологическим мишеням.

В заключение следует подчеркнуть, что многие идеи о лечебно-профилактическом применении биологически активных добавок (БАД) с антиоксидантными свойствами при расстройствах нервной системы были высказаны профессором П.А. Мотавкиным [48] еще в конце прошлого века. Плодотворность идей Павла Александровича и его научную прозорливость демонстрируют все расширяющиеся в последние годы исследования по использованию антоциан- и каротинсодержащих БАДов в практической медицине.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

1. Rodriguez-Concepcion M, Avalos J, Bonet ML, Boronat A, Gomez-Gomez L, Hornero-Mendez D, Limon MC, Meléndez-Martínez AJ, Olmedilla-Alonso B, Palou A, Ribot J, Rodrigo MJ, Zacarias L, Zhu C. A global perspective on carotenoids: metabolism, biotechnology and benefits for nutrition and health. *Progress in lipid research*. 2018;70:62–93. doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004
2. Hashimoto H, Uragami C, Cogdell RJ. Chapter 4. Carotenoids and photosynthesis. In: Stange C, editor. *Carotenoids in Nature. Subcellular biochemistry* 79. New York: Springer International Publishing. 2016; P. 111–39. doi 10.1007/978-3-319-39126-7_4
3. Дейнека В.И., Шапошников А.А., Дейнека Л.А., Гусева Т.С., Вострикова С.М., Шенцева Е.А., Закирова Л.Р. Каротиноиды: строение, биологические функции и перспективы применения. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация. 2008;6(46):19–25. [Deyneka VI, Shaposhnikov AA, Deyneka LA, Guseva TS, Vostrikova SM, Shentseva EA, Zakirova LR. Carotenoids: the structure, biological functions and perspectives of application. Belgorod state university scientific bulletin. Medicina. Pharmacy. 2008;6(46):19–25. In Rus] URL: https://www.bsu.edu.ru/upload/iblock/06a/6_46_6.pdf (Дата обращения 10.07.21)
4. Meléndez-Martínez AJ, Mapelli-Brahm P, Hornero-Méndez D, Vicario IM. Structures, nomenclature and general chemistry of

- carotenoids and their esters. Mercadante AZ, ed. *Carotenoid esters in foods: physical, chemical and biological properties*, London: Royal society of chemistry; 2019:1–50. doi: 10.1039/9781788015851-00001
5. Maoka T. Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of natural medicine*. 2020;74:1–16. Doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x
 6. Langi P, Kiokias S, Varzakas T, Proestos C. Carotenoids: From plants to food and feed industries. In: Barreiro C, Barredo JL. (eds) *Microbial carotenoids. methods in molecular biology*, vol 1852. Humana Press, New York, 2018. doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9_3
 7. Young A, Lowe G. Carotenoids - antioxidant properties. *Antioxidants*.2018;7(2): 28-36. doi:10.3390/antiox7020028
 8. Kowsalya K, Vidya N, Vijayalakshmi V, Arun M. Super nutritive marine astaxanthin, an effectual dietary carotenoid for neurodegenerative diseases. *International research journal of multidisciplinary technovation*.2019;1(6):115-24. doi.org/10.34256/irjmtcon14.
 9. Roark MW, Stringham JM. Visual performance in the “Real World”: Contrast sensitivity, visual acuity, and effects of macular carotenoids. *Molecular nutrition and food research*. 2019;63(15):1-7.1801053. doi.org/10.1002/mnfr.201801053
 10. Arunkumar R, Gorusupudi A, Bernstein PS. The macular carotenoids: A biochemical overview. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - Molecular and cell biology of lipids*. 2020;1865(11):1-12.158617. doi.org/10.1016/j.bbaliip.2020.158617
 11. She C, Shang F, Zhou K, Liu N. Serum carotenoids and risks of diabetes and diabetic retinopathy in a Chinese population sample. *Current molecular medicine*. 2017;17(4):287-97. doi.org/10.2174/1566524017666171106112131
 12. Roohbakhsh A, Karimi G, Iranshahi M. Carotenoids in the treatment of diabetes mellitus and its complications: A mechanistic review. *Biomedicine and pharmacotherapy*. 2017;91:31–42. doi.org/10.1016/j.biopha.2017.04.057
 13. Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat: Effects of insulin treatment. *Diabetes*.1987;36(9):1014–1018. doi.org/10.2337/diab.36.9.1014
 14. McClinton KJ, Aliani M, Kuny S, Sauvé Y, Suh M. Differential effect of a carotenoid-rich diet on retina function in non-diabetic and diabetic rats. *Nutritional neuroscience*. 2020;23(11):838–48. doi.org/10.1080/1028415X.2018.1563664
 15. Bonet ML, Canas JA, Ribot J, Palou A. Carotenoids in adipose tissue biology and obesity. In: Stange C. (eds) *Carotenoids in nature. Subcellular biochemistry*. 2016;79:377–414. Springer, Cham. doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_15
 16. Zhu R, Chen B, Bai Y, Miao T, Rui L, Zhang H, Xia B, Li Y, Gao S, Wang X-D. Lycopene in protection against obesity and diabetes: A mechanistic review. *Pharmacological Research*. 2020;159:1–62.104966. doi:10.1016/j.phrs.2020.104966
 17. Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: A comprehensive review. *Food and chemical toxicology*. 2014;64:65–80. doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.016
 18. Kim B, Park B. Saffron carotenoids inhibit STAT3 activation and promote apoptotic progression in IL-6-stimulated liver cancer cells. *Oncology Reports*. 2018;39(1):1883–91. doi:10.3892/or.2018.6232
 19. Saini RK, Keum Y-S, Daglia M, Rengasamy KRR. Dietary carotenoids in cancer chemoprevention and chemotherapy: A review of emerging evidence. *Pharmacological research*. 2020;157:1–12, 104830. doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104830
 20. Huang J, Lu M-S, Fang Y-J, Xu M, Huang W-Q, Pan Z-Z, Chen Y-M, Zhang C-X. Serum carotenoids and colorectal cancer risk: A case-control study in Guangdong, China. *Molecular nutrition and food research*. 2017;61(10):1–42, 1700267. doi.org/10.1002/mnfr.201700267
 21. Butalla AC, Crane TF, Patil B, Wertheim BC, Thomson P, Thomson CA. Effect of a carrot juice intervention on plasma carotenoids, oxidative stress, and inflammation in overweight breast cancer survivors. *Nutrition and cancer*. 2012;64(2):331–41. doi:org/10.1080/01635581.2012.650779
 22. Koklesova L, Liskova A, Samec M, Zhai K, Abotaleb M, Ashrafizadeh M, Brockmueller A, Shakibaei M, Biringer K, Bugos O, Najafi M, Golubnitschaja O, Büsselberg D, Kubatka P. Carotenoids in cancer metastasis – status quo and outlook. *Biomolecules*.2020;10(12):1653. doi.org/10.3390/biom10121653
 23. Szabo K, Diaconeasa Z, Cătoi A-F, Vodnar DC. Screening of then tomato varieties processing waste for bioactive components and their related antioxidant and antimicrobial activities. *Antioxidants*. 2019;8(8):292–303. doi.org/10.3390/antiox8080292
 24. Karpiński TM, Adamczak A. Fucoxanthin – an antibacterial carotenoid. *Antioxidants*. 2019;8(8):239-47. doi.org/10.3390/antiox8080239
 25. Jahns L, Conrad Z, Ann L, Johnson K, Whigham LD, Wu D, Claycombe-Larson KJ. A diet high in carotenoid-rich vegetables and fruits favorably impacts inflammation status by increasing plasma concentrations of IFN- α 2 and decreasing MIP-1 β and TNF- α in healthy individuals during a controlled feeding trial. *Nutrition research*. 2018;52:98–104. doi.org/10.1016/j.nutres.2018.02.005
 26. Kaulmann A, Bohn T. Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutrition research*.2014; 34(11):907-29. doi.org/10.1016/j.nutres.2014.07.010
 27. Lee Y, Hu S, Park Y-K, Lee J-Y. Health benefits of carotenoids: A role of carotenoids in the prevention of non-Alcoholic fatty liver disease. *Prev nutr food sci*. 2019;24(2):103-13. doi:10.3746/pnf.2019.24.2.103
 28. Elvira-Torales LI, García-Alonso J, Periago-Castón MJ. Nutritional importance of carotenoids and their effect on liver health: A review. *Antioxidants*. 2019;8(7):229-52. doi.org/10.3390/antiox8070229
 29. Christensen K, Lawler T, Mares J. Dietary carotenoids and non-alcoholic fatty liver disease among US adults, NHANES 2003–2014. *Nutrients*.2019;11(5):1101–13. doi.org/10.3390/nu11051101
 30. Stice CP, Wang X-D. Carotenoids and alcoholic liver disease. *Hepatobiliary surg nutr*. 2013;2(5):244–47. doi:10.3978/j.issn.2304-3881.2013.10.01
 31. Clugston RD. Carotenoids and fatty liver disease: Current knowledge and research gaps. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - Molecular and cell biology of lipids*. 2020;1865(11):1–11, 158597. doi.org/10.1016/j.bbaliip.2019.158597
 32. Dogukan A, Tuzcu M, Agca CA, Gencoglu H, Sahin N, Onderci M. A tomato lycopene complex protects the kidney from cisplatin-induced injury via affecting oxidative stress as well as Bax, Bcl-2, and HSPs expression. *Nutrition and cancer*. 2011;63(3):427–34. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0163558.2011.535958> (Дата обращения 15.07.21)
 33. Колдаев В.М., Кротопов А.В. Антоцианы в практической медицине. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021;3:24–8. [Koldaev VM, Kropotov AV. Anthocyanins in practical medicine. *Pacific medical journal*.2021;3:24-8. (In Rus).]. doi: 10.34215/1609-1175-2021-3-24-28
 34. Cho KS, Shin M, Kim S, Lee SB. Role of natural antioxidants from functional foods in neurodegenerative and metabolic disorders. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018;2018:1–13. doi.org/10.1155/2018/4120458
 35. Mullan K, Williams MA, Cardwell CR, McGuinness B, Passmore P, Silvestri G, Woodside JV, McKay GJ. Serum concentrations of vitamin E and carotenoids are altered in Alzheimer's disease: A case-control study. *Alzheimer's and dementia: Translational research and Clinical interventions*. 2017;3(3):432–39. doi.org/10.1016/j.trci.2017.06.006
 36. Guest J, Grant R. Carotenoids and neurobiological health. In: Essa M, Akbar M, Guillemin G. (eds) *The Benefits of*

- natural products for neurodegenerative diseases. *Advances in neurobiology*.2016;12:199–228. Springer, Cham. doi.org/10.1007/978-3-319-28383-8_11
37. Honarvar NM, Saedisomeolia A, Abdolahi M, Shayeganrad A, Sangsari GT, Rad BH, Muench G. Molecular anti-inflammatory mechanisms of retinoids and carotenoids in Alzheimer's disease: a review of current Evidence. *Journal of Molecular Neuroscience*.2017;61:289–304. doi.org/10.1007/s12031-016-0857-x
38. Park H-A, Hayden MM, Bannerman S, Jansen J, Crowe-White KM. Anti-apoptotic effects of carotenoids in neurodegeneration. *Molecules*. 2020;25(15):3453; doi.org/10.3390/molecules25153453.
39. Galasso C, Orefice I, Pellone P, Cirino P, Miele R, Ianora A, Brunet C, Sansone C. On the neuroprotective role of astaxanthin: new perspectives? *Journals marine drugs*.2018;16(8):247–63. doi.org/10.3390/md16080247
40. Bennett DA, Schneider JA, Buchman AS, Barnes LL, Boyle PA, Wilson RS. Overview and findings from the Rush Memory and Aging Project. *Current Alzheimer research*. 2012;9(6):646–63. doi:10.2174/156720512801322663
41. Agarwal P, Wang Y, Buchman A, Bennett D, Morris MC. Association of carotenoids, vitamin E and vitamin C intake with parkinsonism and progression of parkinsonian sing in older adults (S4.006). *Neurology*.2018.90;(15): Supplement S4.006. URL: https://n.neurology.org/content/90/15_Supplement/S4.006/tab-article-info (Дата обращения 15.07.21)
42. Kulczyński B, Gramza-Michałowska A, Kobus-Cisowska J, Kmiecik D. The role of carotenoids in the prevention and treatment of cardiovascular disease. Current state of knowledge. *Journal of functional foods*. 2017; 38(A): 45–65. doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.001
43. Giordano P, Scicchitano P, Locorotondo M, Mandurino C, Ricci G, Carbonara S, Gesualdo M, Zito A, Dachille A, Caputo P, Riccardi R, Frasso G, Lassandro G, Di Mauro A, Matteo CM. Carotenoids and cardiovascular risk. *Current pharmaceutical design*. 2012;18(34): 5577–89. doi.org/10.2174/138161212803307527
44. Gammone MA, Riccioni G, D'Orazio N. Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food and nutrition research*. 2015;59(1):267–62 doi.org/10.3402/fnr.v59.26762
45. Wolak T, Paran E. Can carotenoids attenuate vascular aging? *Vascular pharmacology*. 2013;59(3-4):63–6. doi.org/10.1016/j.vph.2013.07.006
46. Gammone MA, Pluchinotta FR, Bergante S, Tettamanti G, d'Orazio N. Prevention of cardiovascular diseases with carotenoids. *Frontiers in bioscience scholar*. 2017;9:165–171. doi:10.2741/S480
47. Genç Y, Bardakci H, Yücel Ç, Karatoprak GŞ, Akkol EK, Barak TH, Sobarzo-Sánchez E. Oxidative stress and marine carotenoids: application by using nanoformulations. *Journals marine drugs*. 2020; 18(8):423–27 doi.org/10.3390/md18080423
48. Мотавкин П.А. Долгая дорога к истине. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2012;2:9–16. [Motavkin P.A. A long way to the troth. *Pacific medical journal*.2012;2:9-16 (in Russ).]

УДК 611.018.84.08:616.831-005.4

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-72-78

Нейроглиальная активность в фокусе ишемического инсульта

С.Г. Калиниченко, А.В. Коробцов, Н.Ю. Матвеева, Ю.А. Матвеев

Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия

Цель: исследование динамики морфохимических модификаций глиальных клеток в неокортексе крыс при экспериментальном инсульте, вызванном постоянной окклюзией средней мозговой артерии. **Материал и методы.** Исследовали иммунолокализацию глиального нейротрофического фактора (GDNF), глиального кислого фибриллярного белка (GFAP), Iba-1 и S-100 в теменной коре крыс при постоянной окклюзии средней мозговой артерии. **Результаты.** Астроциты, экспрессирующие GFAP и S-100, локализуются в области пенумбры и определяют ее границы. В поздние сроки инсульта плотность астроцитов возрастает на границе с фокусом инсульта и снижается по периферии пенумбры, что ведет к смещению границ иммунореактивной перифокальной зоны и заметному ее сужению. Отмечена реверсия иммунореактивности на ранних и поздних сроках инсульта. В фокусе инсульта она характеризуется снижением экспрессии S-100 в астроцитах и появлением ее в пирамидных нейронах в 1-3 сутки ишемии. В пенумбре обнаружена противоположная тенденция к смещению локализации GDNF из нейронов в астроцитарную глию на 8-21 сутки инсульта. Iba-1-реактивная микроглия в ядре инсульта проявляет признаки активированных макрофагов: размеры клеток увеличиваются, количество и ветвление отростков редуцируются. Микроглия концентрируется в фокусе инсульта, достигая максимальных значений на 8-е сутки, и соотносится с понижением плотности астроцитов в области пенумбры. **Заключение.** Специфичность морфохимической альтерации глиальных клеток происходит в тесном взаимодействии с состоянием нейронов в очаге инсульта, указывает на границы пенумбры и связана с балансом различных протективных и нейродеструктивных процессов.

Ключевые слова: фокальный ишемический инсульт, нейротрофины, астроциты, микроглия, иммуногистохимические маркеры нейроглии

Получена в редакцию 08.12.2021. Получена после доработки 26.12.2021. Принята к печати 11.01.2022.

Для цитирования: Калиниченко С.Г., Коробцов А.В., Матвеева Н.Ю., Матвеев Ю.А. Нейроглиальная активность в фокусе ишемического инсульта. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022; 1:72–78. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-72-78

Для корреспонденции: Калиниченко Сергей Георгиевич – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-1434-765X; e-mail: sgkalinichenko@gmail.com

Neuroglial activity in the focus of ischemic stroke

S.G. Kalinichenko, A.V. Korobtsov, N.Yu. Matveeva, Yu. A. Matveev

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Objective: To study the dynamics of morphochemical modifications in glial cells of rat neocortex under the conditions of experimental stroke, induced by means of constant occlusion of the middle brain artery. **Methods:** We studied the immunolocalisation of glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF), glial fibrillary acidic protein (GFAP), Iba-1 and S-100 in the rat parietal cortex during the constant occlusion of middle brain artery. **Results:** Astrocytes, expressing GFAP and S-100, are found in the penumbra area and define its borders. In the later stages of stroke, the density of astrocytes increases on the border of the stroke focus and decreases around penumbra, which leads to immunoreactive perifocal zone borders shifting and its significant narrowing. The reversion of immunoreactivity during the early and late stages of stroke was observed. The reversion was defined by decrease in S-100-expression in astrocytes and expression presence in pyramidal neurons on the 1-3 day of ischemia in the stroke focus. The reverse tendency toward localization changes of GDNF from neurons to astrocytes was detected in penumbra on 8-21 day. Iba-1-reactive microglia at the stroke's core shows the sings of activated macrophages - increase in the cells' size, reduction in quantity and branching. Iba-1-reactive microglia concentrates in the stroke focus, reaching its highest point on the 8 day and corresponds to decreasing spatial density of astrocytes in the penumbra area. **Conclusions.** Specificity of the morphochemical alteration of glial cells closely interacts with the condition of neurons in the stroke focus, points to the penumbra borders and connected with the balance of various protective and neurodestructive processes.

Keywords: focal ischemic stroke, neurotrophins, astrocytes, microglia, immunohistochemical markers of neuroglia

Received 8 December 2021; Revised 26 December 2021; Accepted 11 January 2022

For citation: Kalinichenko S.G., Korobtsov A.V., Matveeva N.Yu., Matveev Yu. A. Neuroglial activity in the focus of ischemic stroke. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:72–78. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-72-78

Corresponding author: Sergey G. Kalinichenko, MD, PhD, Prof. of the Department of Histology, Embryology, and Cytology, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-1434-765X; e-mail: sgkalinichenko@gmail.com

Нейроглия играет решающую роль в развитии адаптивных реакций, связанных с окислительным стрессом и гипервозбудимостью, регуляцией микроциркуляторного русла и медиаторного баланса, а также

нейровоспаления, некроза и апоптоза [1, 2, 3]. Эти функции реализуются через экспрессию разнообразных сигнальных молекул и нейротрофинов. При комплексном исследовании этих факторов состояние

глиальных клеток можно рассматривать как своеобразный «маркер» повреждения ткани мозга при гипоксии и ишемии [4, 5].

Характер и сроки включения разных типов глии в ремоделирование нейрососудистого окружения зависят от масштаба повреждения и этиопатогенетического компонента инсульта. Этим обуславливается противоречивость данных о состоянии астроцитов на тромбоэмболических моделях инсульта, при вазоспазме, постоянной окклюзии сосудов или с реперфузией [1, 4, 6, 7]. Хотя астроциты и микроглия представляют гетерогенные популяции, происходящие от совершенно разных источников, их функции реализуются в весьма тесном взаимодействии. Интегративные звенья этой активности в условиях ишемии остаются невыясненными.

Цель настоящей работы состояла в исследовании динамики морфохимических модификаций глиальных клеток в неокортексе крыс при экспериментальном инсульте, вызванном постоянной окклюзией средней мозговой артерии.

Материал и методы

Экспериментальные животные и моделирование инсульта. Работа выполнена на материале 18 крыс-самцов весом 200-250 г. Условия содержания животных, а также экспериментальные условия соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского союза 2010 года, определяющей правила научных экспериментов над животными. Эксперимент одобрен междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, протокол № 4 от 03.06.2013 г. Оперативное вмешательство осуществлялось в асептических условиях под ингаляционным однокомпонентным наркозом севофлураном. Фокальный ишемический инсульт моделировали с помощью метода постоянной филаментной окклюзии средней мозговой артерии [8]. По достижении глубокого наркоза крыса фиксировалась на манипуляционном столике с подогревом в положении на спине. После обработки операционного поля антисептиком на передней стороне шеи по средней линии производился разрез кожи длиной 1,5 см, выделялась левая общая сонная артерия (ОСА) и ее бифуркация на внутреннюю (ВСА) и наружную (НСА) сонные артерии, соответственно. Затем выполнялась перевязка ОСА и НСА. Крыло-небная артерия, как коллатераль ВСА, и коллатерали НСА – затылочная и верхняя щитовидная артерии – коагулировались. Через прокол ОСА в ее просвет вводился окклюдер – полиамидная нить (филамент), который надежно заполнял весь поперечник сосуда. Окклюдер проводился интравазально в собственно ВСА на глубину около 1,5-2,0 см. Нить оставалась в просвете артерии и фиксировалась перевязкой ВСА. После чего рана ушивалась. Время операции составляло 40-60 мин. Описанные манипуляции полностью исключают ретроградный и коллатеральный кровоток в ВСА, дают возможность контролировать зону распространения

инсульта в бассейне средней мозговой артерии [8]. Животных выводили из эксперимента через 1, 3, 8, 14 и 21 сутки после операции. На каждом сроке исследовали по 3 крысы. Контролем служили интактные животные (n=3). Для анестезии использовали внутривентральное введение 3% раствора тиопентала натрия, после чего животных декапитировали (приложение 4 к Приказу № 755 МЗ СССР).

Анатомические координаты области инфаркта мозга определяли с помощью окрашивания в растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ). Мозг извлекали на стекло, помещали в холодный физиологический раствор на 10 мин при 4°C и затем разрезали во фронтальной плоскости на ломтики толщиной 2-3 мм. Последние погружали в 2%-й раствор ТТХ и выдерживали в течение 30 мин в темноте при 37°C.

Иммуноцитохимическое исследование. Материал головного мозга фиксировали в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере в течение 24 часов, после чего промывали 0,1 М Na-фосфатном буфере (pH 7,2) с 6-7 кратной сменой раствора и заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы толщиной 15 мкм монтировали на предметные стекла, депарафинировали и инкубировали в 3%-м растворе перекиси водорода для блокирования эндогенных пероксидаз в течение 15 мин. После трех промывок 0,1 М Na-фосфатном буфером (pH 7,2), срезы обрабатывали в течение 1 часа в 2%-м растворе бычьего сывороточного альбумина и 0,25%-го Тритона X-100. Затем инкубировали с первичными антителами (АТ). Для этой цели использовали кроличьи поликлональные АТ против GDNF (Abcam, Великобритания) в разведении 5 мг/мл, моноклональные мышинные S-100-β (Abcam, Великобритания) в разведении 1:200, поликлональные АТ козы Iba-1 (Abcam, Великобритания) в разведении 4 мг/мл и кроличьи поликлональные АТ против GFAP (Vector Laboratories G 805, США) в разведении 1:100. Первичные АТ разводили в фосфатном буфере, содержащем Тритон X-100 и бычий сывороточный альбумин, и инкубировали в течение 24 часов при температуре 4°C. После 3-кратной промывки фосфатным буфером срезы в течение 1 ч инкубировали в растворе биотинилированных вторичных антител против иммуноглобулина кролика и мыши, соответственно, первичным АТ, в разведении по инструкциям фирмы-производителя (Vector Laboratories, США). После отмывки вторичных антител препараты инкубировали в растворе стандартного АВС-комплекса (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories, США) в течение 30 мин. Затем срезы обрабатывали хромогеном (NovaRED substrat kit (SK-4800), SG substrat kit (SK-4700), Vector Laboratories, США) на 0,1 М Na-фосфатном буфере (pH 7,2) в течение 5 мин. После чего срезы промывали в буфере, обезвоживали и заключали в балзам по обычным правилам. В качестве контроля из среды исключали первичные антитела, окрашивание клеток отсутствовало. Часть срезов окрашивали толуидиновым синим по методу Ниссля.

Препараты просматривали в световом микроскопе AxioScope A1 (Carl Zeiss, Германия) и фотографировали при помощи цифровой камеры AxioCam ICc3. Морфометрическую обработку полученных фотографий проводили при помощи пакета программ AxioVision 4.8.1. Относительную плотность глиальных клеток вычисляли на участках коры площадью $0,3 \text{ мм}^2$ с учетом поправки на толщину среза и диаметр ядра. В отдельных случаях определяли долю позитивно окрашенных нейронов. Для этого с помощью окуляр-морфометрической сетки подсчитывали абсолютное количество иммунореактивных клеток на участках коры площадью $0,29 \text{ мм}^2$ в 20-25 полях зрения и высчитывали их долю от среднего числа клеток, окрашенных в сходных областях по методу Ниссля. Данные

обрабатывали методом вариационной статистики с определением t -критерия достоверности по Стьюденту ($p < 0,05$).

Результаты исследования

При обработке мозга с помощью ТТХ зона ишемического инсульта проявляется в левом полушарии как неокрашенный участок теменной коры (3,5-4 мм кпереди от брегмы) и внутренней капсулы величиной $0,3 \times 0,5 \times 0,8 \text{ см}$. На срезах мозга обнаруживается неравномерная реакция глиоцитов в фокусе инсульта и окружающей пенумбре, а исследованные маркеры демонстрируют существенную вариабельность на разных сроках ишемии (рис. 1 а, б).

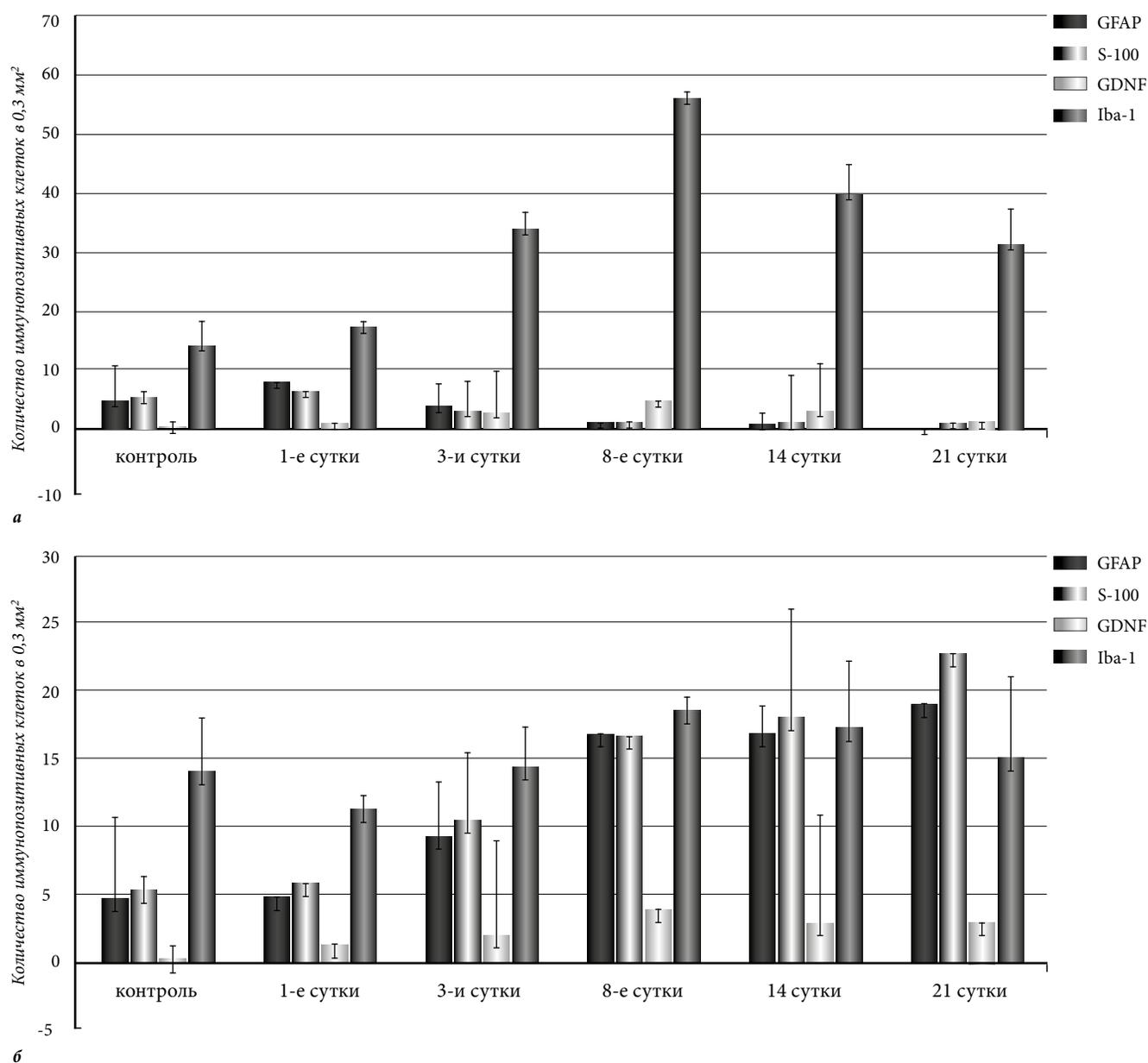


Рис. 1. Пространственная плотность GFAP-, S-100-, GDNF- и Iba-1-иммунореактивных глиальных клеток в $0,3 \text{ мм}^2$ теменной коры крыс при филаментной окклюзии средней мозговой артерии.

а - ядро инсульта, б - ишемическая пенумбра.

У контрольных животных GFAP локализуется повсеместно в астроцитах всех слоев коры. Иммунореактивные клетки располагаются дискретно и диффузно в нейропиле, или в виде небольших скоплений. Во всех случаях хорошо окрашиваются отростки клеток, оплетающие стенки микрососудов. Распределение GFAP меняется уже в первые сутки ишемии, когда в фокусе инсульта увеличивается количество иммунореактивных астроцитов (рис. 1 а). В дальнейшем количество GFAP-позитивных клеток здесь падает до нуля, но постепенно нарастает в перифокальной зоне. На 8-21 сутки она включает множество астроцитов с высоким содержанием GFAP, окружающих очаг инсульта со всех сторон (рис. 2 а). Ширина GFAP-иммунореактивной пенумбры достигает 500-800 мкм в латеральных направлениях, сверху она занимает слои I/II, а снизу совпадает с положением подкоркового белого вещества (рис. 2 б). На 21 сутки обнаруживается перераспределение реактивных астроцитов: их плотность возрастает на границе с фокусом инсульта и снижается по периферии пенумбры (рис. 1 а, б). Описанные изменения ведут к смещению границ иммунореактивной перифокальной зоны и заметному ее сужению в поздний ишемический период.

Распределение S-100-позитивных астроцитов в норме и на всех сроках ишемии в основном повторяет характеристический паттерн локализации GFAP (рис. 2 в). На 3 и 8 сутки в ядре инсульта, где практически не выявляется S-100-реактивной глиии (рис. 1 а), окрашивается субпопуляция пирамидных нейронов (рис. 2 г). Эти последние формируют скопления в слоях III и V и никогда не наблюдаются в области пенумбры. Относительное количество S-100-позитивных пирамидных клеток составляет $37,3 \pm 3,9\%$ на 1 сутки, $22,2 \pm 1,2\%$ на 3 сутки и $16,3 \pm 2,3\%$ на 8 сутки эксперимента. Позднее они не маркируются.

Высокую степень неоднородности демонстрирует топография GDNF (рис. 2 д, е). У контрольных животных маркер локализуется в нейронах слоев II/III и V/VI и очень незначительно – в глиии. Если в контроле GDNF-позитивные нейроны составляют $52 \pm 4,5\%$, то в первые сутки инсульта их $29 \pm 2,1\%$, на 8 сутки – $13,8 \pm 0,6\%$, а на 21 сутки лишь $3,1 \pm 0,2\%$. Динамика экспрессии GDNF в астроцитах показывает обратную зависимость (рис. 1 а, б). Максимум GDNF-иммунореактивной глиии наблюдается в ядре инсульта и перифокальной пенумбре в конце первой недели от индукции ишемии.

Iba-1, как избирательный маркер микроглиии, окрашивает ее по всей коре и в подкорковом белом веществе, где в норме она локализуется диффузно без какого-либо регулярного порядка. Типичный Iba-1-позитивный микроглиоцит имеет сому диаметром 7-10 мкм, от которой радиально отходят несколько тонких, шиповидных, маловетвящихся отростков длиной до 40 мкм. Развитие инсульта радикально меняет форму клеток и их положение в коре. Их плотность резко возрастает в фокусе ишемии уже на 3-и сутки

и достигает максимума на 8-е сутки (рис. 1 а). В этот период ядро инсульта окрашивается как сплошная иммунореактивная зона, четко отграниченная от пенумбры. В самой пенумбре численность микроглиии мало отличается от контрольных значений. На каждом сроке ишемии активированные микроглиоциты имеют характерную рамификацию. Вначале тела клеток увеличиваются в размерах, отростки их утолщаются и утрачивают часть коллатералей, покрываясь на всем протяжении варикозными утолщениями. На третьи сутки отростки приобретают вид пеньков и коротких вздутий на поверхности разбухшего тела, а затем исчезают (рис. 2 ж, з). В фокусе инсульта на 8-21-е сутки микроглиия состоит исключительно из популяции безотросчатых округлых или овальных клеток.

Обсуждение полученных данных

В настоящей работе представлена количественная и морфохимическая характеристика глиоцитов, указывающая на различные способы их участия в развитии фокальной ишемии новой коры. Используемая нами модель редуцированного кровотока соотносится с гемодинамическими изменениями при инсульте у человека [8]. Специфика глиальной реактивности на разных этапах инсульта кардинально меняется и зависит от комплексной перестройки ткани мозга в пенумбре и ядре ишемии.

Индукция основных глиальных белков всегда сопровождает альтерацию нейронов при ишемии, невровоспалении и гипервозбудимости [1, 5, 9]. В одних случаях это явление вызывает цитопротективные эффекты, в других – обращает их на противоположные. Смещение этого молекулярного «реостата» при инсульте, прежде всего сказывается на состоянии нейронов пенумбры – главной мишени протективного воздействия. Однако определение границ пенумбры остается дискуссионным вопросом, особенно при микроскопии ишемизированного мозга. Наши данные по стратификации GFAP позволяют рассматривать его как полезный инструмент в решении этого вопроса. Внутри фокуса инсульта астроциты с повышенной экспрессией GFAP быстро исчезают, но постоянно окружают его в течение всего ишемического периода. При этом GFAP-позитивные астроциты часто группируются в I слое и подкорковом белом веществе, указывая на избирательную локализацию ядра ишемии с преимущественным поражением клеток глубоких слоев коры.

Представления о сложных нейроглиососудистых контактах в последнее время существенно дополнились данными об участии глиии в генерации потенциалов действия и синаптической пластичности, а способность астроцитов синтезировать нейротрофины, газотрансмиттеры, рецепторы медиаторов позволяет рассматривать их в качестве равноправного партнера нейронов в информационных процессах мозга [10, 11].

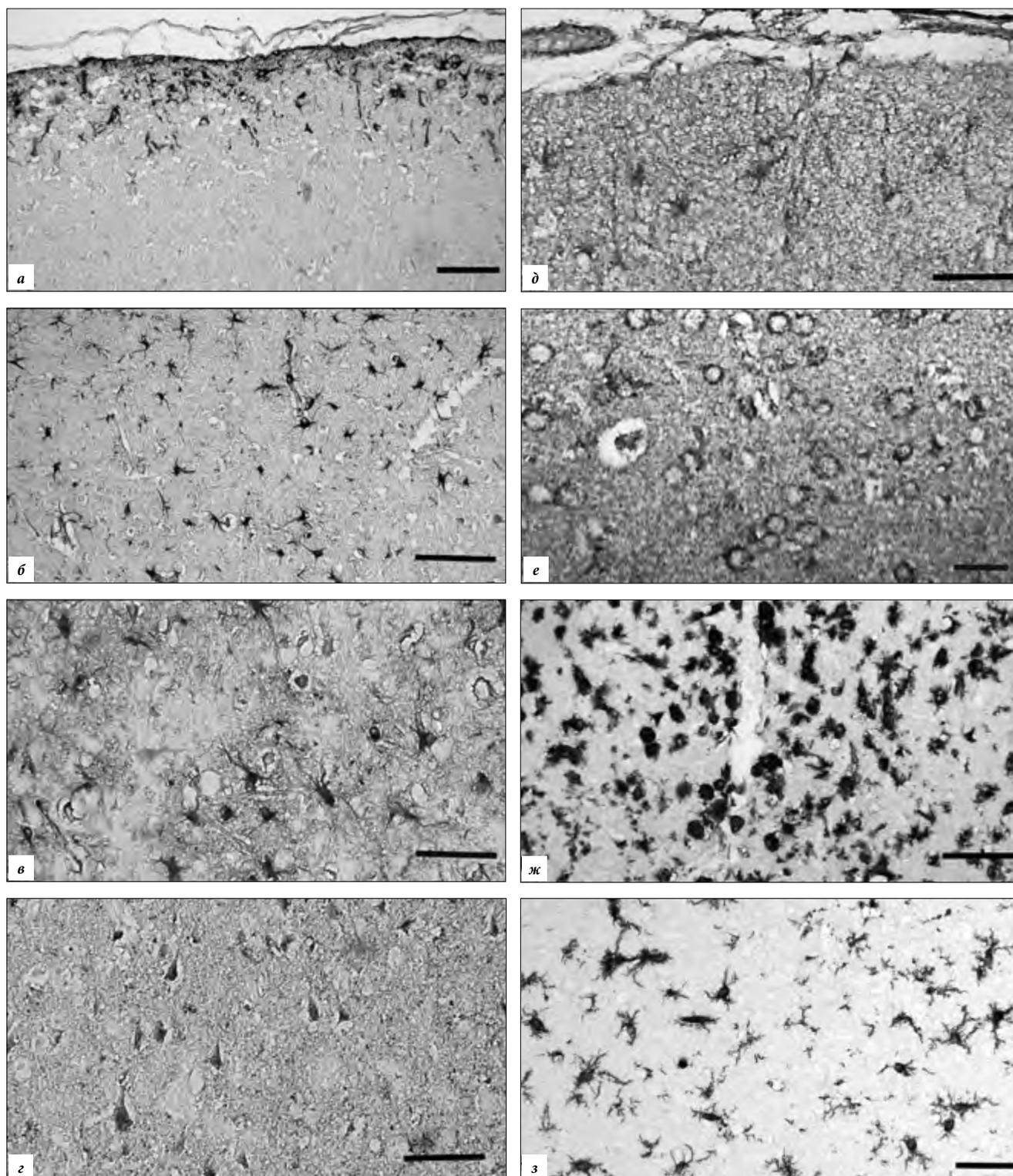


Рис. 2. Топография глиальных маркеров в теменной коре мозга крысы на третьи сутки острого инсульта, вызванного постоянной окклюзией средней мозговой артерии.

а – гиперэкспрессия GFAP в астроцитах I слоя ядра ишемии. *б* – GFAP-иммунореактивные астроциты в области пенумбры. *в* – локализация S-100 в астроцитах пенумбры. *г* – S-100-иммунореактивные пирамидные клетки V слоя в фокусе инсульта. *д* – GDNF-иммунореактивные астроциты пенумбры, *е* – экспрессия GDNF в нейронах II слоя пенумбры. *ж* – Iba-1 в активированной микроглии ядра инсульта. *з* – Iba-1-иммунореактивная микроглия области пенумбры. Масштаб: *а-г* – 100 мкм; *д-з* – 50 мкм.

Данные настоящего исследования указывают на тесные метаболические отношения астроцитов и нейронов, адаптирующие их к условиям ишемии. Установленное

нами постепенное смещение GDNF-иммунореактивности из нейронального в глиальный компартмент пенумбры следует рассматривать как проявление

протективных свойств нейротрофина. Способность астроцитов аккумулировать высокие уровни GDNF показана на различных моделях ишемического инсульта [12]. Механизмы подобных взаимосвязей остаются неясны. Однако известно, что индукцию экспрессии GDNF в астроцитах опосредуют аденозиновые A_{2A} -рецепторы [1]. Можно полагать, что аноксия быстро истощает нейронный пул АТФ, вызывает нарастание уровня аденозина в нейропиле и вторичное накопление GDNF в астроцитарной глии.

В самом фокусе инсульта мы наблюдали обратный процесс – появление иммунореактивного S-100 в пирамидных нейронах и исчезновение его в астроцитах. Эти процессы происходят в первую неделю после окклюзии сосуда и, видимо, являются следствием постишемической распространяющейся деполяризации. S-100 – кальций-связывающий протеин, вовлекается в утилизацию избытка Ca^{2+} , который неизбежно возникает при развитии эксайтотоксичности [5]. Индукция экспрессии S-100 здесь выступает как адаптивный фактор, предохраняющий нейроны от перевозбуждения и гибели. Подобный феномен описан относительно индуцибельной NO-синтазы, которая вырабатывается в активированных астроцитах при эпилептогенезе и пирамидных нейронах в фокусе ишемического инсульта [13]. Не исключен и другой вариант, при котором S-100 поступает в пирамидные клетки путем транслокации белка из цитоплазмы глиоцитов. Ранее было показано, что в условиях ишемии астроциты могут транспортировать функционирующие митохондрии и цитопротекторы непосредственно в нейроны по Ca^{2+} -зависимому механизму [14].

Повышение астроцитарной реактивности не всегда носит протективный характер. При интенсивном окислительном стрессе астроциты вступают в молекулярные ассоциации с микроглией и становятся мишенью провоспалительных цитокинов [2]. В этой ситуации астроциты способны усиливать отек и вазоспазм, а также выделять цитотоксические и апоптотические факторы [4]. Видимо, все микроглиоциты окрашиваются на Iba-1 [15]. Они постепенно заполняют фокус инсульта и с 8-х суток составляют превалирующую популяцию. Микроглиоциты закономерно теряют отростки, накапливают высокое содержание Iba-1, что, в целом, подчеркивает их возросшую подвижность и фагоцитарную активность [13].

Мы не можем достоверно утверждать наличие тесных взаимосвязей астроцитов и микроглии в наших экспериментах. Однако сопоставление топографии и плотности GFAP-, S-100 и Iba-1-иммунореактивных клеток показывает смещение их к границам фокуса инсульта и сужение площади пенумбры. Поскольку фокальный инсульт при постоянной окклюзии питающих сосудов сопровождается длительным окислительным стрессом, это явление возникает как результат истощения протективных механизмов в позднем периоде ишемии.

Заключение

Проведенное цитохимическое исследование состояния глиальных клеток показало их неоднородное участие в реорганизации зоны ишемического инсульта и позволило установить коррелятивную связь между пространственной плотностью активированных астроцитов и ареалом границ ишемической пенумбры. Активированная популяция Iba-1-реактивных микроглиоцитов соотносится с понижением плотности астроцитов. Выявленные особенности распределения GDNF- и GFAP-реактивной глии обосновывают ее роль в протективных механизмах коры и дают основания для определения границ ишемической пенумбры при их микроскопической диагностике.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование выполнено при финансовой поддержке грантов ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – КСГ.

Сбор и обработка материала – КСГ, КАВ, МНЮ, МЮА.

Статистическая обработка данных – МНЮ.

Анализ и интерпретация данных – КСГ, КАВ, МНЮ.

Написание и редактирование текста – КСГ.

Литература/Reference

1. Yamagata K, Hakata K, Maeda A, Mochizuki C, Matsufuji H, Chino M, Yamori Y. Adenosine induces expression of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in primary rat astrocytes. *Neurosci Res.* 2007;59:467–74. doi: 10.1016/j.neures.2007.08.016
2. Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, Bennett ML, Münch AE, Chung WS, Peterson TC, Wilton DK, Frouin A, Napier BA, Panicker N, Kumar M, Buckwalter MS, Rowitch DH, Dawson VL, Dawson TM, Stevens B, Barres BA. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541:481–7. doi: 10.1038/nature21029
3. Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю., Коробцов А.В. Нейротрофический фактор мозга (BDNF) как регулятор апоптоза в условиях фокального экспериментального инсульта. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2020;169(5):634–9. [Kalinichenko SG, Matveeva NY, Korobtsov AV. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a regulator of apoptosis under conditions of focal experimental stroke. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2020;169(5):701–6 (In Russ).]
4. Bhatia TN, Pant DB, Eckhoff EA, Gongaware RN, Do T, Hutchinson DF, Gleixner AM, Leak RK. Astrocytes do not forfeit their neuroprotective roles after surviving intense oxidative stress. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2019;12(87):1–12. doi: 10.3389/fnmol.2019.00087
5. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi MA, Serrano A, Marchese E, Corvino V, Geloso MC. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *J. Neurochem.* 2019;148:168–87. doi: 10.1111/jnc.14574
6. Choudhury GR, Ding S. Reactive astrocytes and therapeutic potential in focal ischemic stroke. *Neurobiol. Dis.* 2016;85:234–44. doi: 10.1016/j.nbd.2015.05.003

7. Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des. Devel. Ther.* 2015;9: 3445–54. doi: 10.2147/DDDT.S56071.
8. Коробцов А.В., Калиниченко С.Г. Экспериментальные стратегии исследования ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017;117(12-2):38-44. [Korobtsov AV, Kalinichenko SG. The experimental strategies in the study of ischemic stroke. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2017;117(12-2):38-44 (In Russ).] doi: 10.17116/jnevro201711712238-44
9. Коробцов А.В., Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Характеристика нейротрофинов и их локализация в неокортексе крыс при острой экспериментальной ишемии. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* 2018;12(4):235-41. [Korobtsov AV, Kalinichenko SG, Matveeva NYu. Characterization of neurotrophins and their localization in the neocortex of rats with acute experimental ischemia. *Journal of new medical technologies.* 2018;12(4):235-41. doi: 10.24411/2075-4094-2018-16130
10. Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю., Мотавкин П.А. Морфофункциональная характеристика нейровазальных связей коры мозжечка. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2015;1:26-9. [Kalinichenko SG, Matveeva NYu, Motavkin PA. Morpho-functional characteristic of neurovazal connections of the cerebellar cortex. *Pacific medical journal.* 2015;1:26-9 (In Russ).]
11. Ma Zh, Stork T, Bergles D, Freeman M. Neuromodulators signal through astrocytes to alter neural circuit activity and behavior. *Nature.* 2016;539:428–32. doi: 10.1038/nature20145
12. Duarte EP, Curcio M, Canzoniero LM, Duarte CB. Neuroprotection by GDNF in the ischemic brain. *Growth Factors.* 2012;30:242-57. doi: 10.3109/08977194.2012.691478
13. Zhou P, Iadecola C iNOS and COX2 in Ischemic Stroke. In: *Lajtha A., Chan P.H. (eds) Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology.* Springer, Boston, MA, 2007;33-45.
14. Hayakawa K, Esposito E, Wang X, Terasaki Y, Liu Y, Xing C, Ji X, Lo EH. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke. *Nature.* 2016;535(7613):551-5. doi: 10.1038/nature18928.
15. Коржевский Д.Э., Кирик О.В. Микроглия головного мозга и микроглиальные маркеры. *Морфология.* 2015;147(3):37-44. [Korzhevskiy DE, Kirik OV. Cerebral microglia and microglial markers. *Morphology.* 2015;147(3):37-44 (In Russ).]

УДК 611.81:612.82-043.86

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-79-84

Некоторые особенности головного мозга крыс линии Вистар, развивавшихся в пометах различной численности

Д.И. Жильников, Б.Я. Рыжавский

Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия

Цель: изучить морфофункциональные особенности развития мозга 14- и 30-суточных крыс, родившихся в пометах, существенно различающихся численностью. **Материал и методы.** Исследовались две возрастные группы животных – 14-суточные и 30-суточные крысята, потомство интактных крыс, каждая из групп была разделена на подгруппы: 1) малочисленные пометы (4-7 крысят в помете) и 2) пометы средней численности (9-12 крысят в помете). Мозг животных обеих подгрупп был подвергнут морфометрическому и гистохимическому изучению. В 28-суточном возрасте крысята из второй возрастной группы тестировались в приподнятом крестообразном лабиринте. **Результаты.** Установлено, что крысята из малочисленных пометов в 14- и 30-суточном возрасте имели признаки акселерации и отличались опережающими темпами развития ГМ от животных из группы пометов средней численности. Отличия проявлялись большей массой мозга и полушария, меньшей численной плотностью нейронов и большей – глиоцитов, большим глионейральным индексом, а также – размерами нейронов, их ядер и ядрышек в коре собственно теменной доли и поле СА1 гиппокампа. Поведение крысят из малочисленных пометов и пометов средней численности в возрасте 28 суток в приподнятом крестообразном лабиринте имело достоверные межгрупповые различия. **Заключение.** Полученные данные указывают на то, что различия численности пометов у крыс влияют на важные показатели развития их мозга.

Ключевые слова: головной мозг, развитие, морфология, акселерация

Поступила в редакцию 02.09.2021. Получена после доработки 20.12.2021. Принята к печати 14.01.2022.

Для цитирования: Жильников Д.И., Рыжавский Б.Я. Некоторые особенности головного мозга крыс линии Вистар, развивавшихся в пометах различной численности. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2022; 1:79–84. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-79-84

Для корреспонденции: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии Дальневосточного государственного медицинского университета (680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35); ORCID: 0000-0002-4320-8341; e-mail: 19151943@Rambler.ru

Some features of the brain of Wistar rats that developed in broods of various numbers

D.I. Zhilnikov, B.Ya. Ryzhavskaia

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia

Objective: To study the morphofunctional features of the brain development of 14- and 30-day-old rats born in broods that differ significantly in numbers. **Methods:** 2 age groups of animals were studied – 14-day-old and 30-day-old rat pups, the offspring of intact rats, each group was divided into subgroups: 1) small broods (4-7 rat pups per brood) and 2) broods of average size (9-12 rats in a brood). The brains of animals of both subgroups were subjected to morphometric and histochemical studies. At the age of 28 days, rat pups from the second age group were tested in an elevated plus maze. **Results:** It was found that rat pups from small broods at the age of 14 and 30 days had signs of acceleration and differed in the outstripping rates of development of brain from animals from the group of broods of average size. Differences were manifested by a greater mass of the brain and hemisphere, a lower numerical density of neurons and a higher density of gliocytes, a large glioneuronal index, as well as the size of neurons, their nuclei and nucleoli in the cortex of the parietal lobe and the hippocampus. The behavior of pups from small broods and broods of average numbers at the age of 28 days in an elevated plus maze had significant intergroup differences. **Conclusions:** These findings indicate that differences in brood numbers affect important indicators of brain development.

Keywords: brain, development, morphology, acceleration

Received 2 September 2021; Revised 20 December 2021; Accepted 14 January 2022

For citation: Zhilnikov D.I., Ryzhavskaia B.Ya. Some features of the brain of Wistar rats that developed in litters of various numbers. *Pacific Medical Journal.* 2022;1:79–84. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-79-84

Corresponding author: Boris Ya. Ryzhavskaia, MD, Prof. of the Department of Histology, Embryology, and Cytology, Far Eastern State Medical University (35 Muraviev-Amursky str., Khabarovsk, 680000, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-4320-8341; e-mail: 19151943@Rambler.ru

Экспериментальное уменьшение численности пометов у крыс, осуществленное через сутки после родов, приводит к акселерации оставшихся крысят,

а также – к ускорению темпов развития их головного мозга (ГМ) в дорепродуктивном периоде онтогенеза, проявляющемся большей массой органа,

его полушарий, морфометрическими показателями неокортекса и гиппокампа [1]. С другой стороны, известно, что численность пометов у многоплодных животных в природных условиях варьирует в процессе циклических колебаний численности их популяций [2,3]. В связи с этим возникает вопрос: влияют ли при этом изменения численности пометов, в частности, ее уменьшения, на развитие ГМ животных? Этот вопрос представляется логичным потому, что крысы из экспериментально уменьшенных пометов имеют массу тела большую, чем животные из многочисленных пометов, а между массой тела крыс в неонатальном и молочном периодах онтогенеза и показателями развития их ГМ в возрасте одного месяца имеются положительные корреляционные зависимости [1].

Цель: изучение особенностей показателей развития ГМ 14- и 30-суточных крыс, родившихся в пометах, существенно различающихся численностью. Выбор этих периодов обусловлен тем, что в неонатальном и молочном периодах онтогенеза ГМ имеет наиболее высокие темпы развития, причем в этот период происходит также завершение важных органогенетических процессов в ГМ, влияющих на свойства органа в последующем [4,5].

Материал и методы

Изучались 14- и 30-суточные крысята, которые являлись потомством, 3,5-5- месячных интактных самцов и самок. 1-я подгруппа 14-суточных крыс (малочисленные пометы – МалП) включала в себя крысят из 3-х малочисленных пометов (16 крысят – 10 самцов и 6 самок), в каждом из которых родилось по 5-6 крысят. 2-я подгруппа (пометы средней численности – ПСЧ) состояла из 56 крысят (26 самцов и 30 самок), рожденных в 6 пометах (число в помете – 9-12). В группе 30-дневных крыс 1-я подгруппа (4 малочисленных помета – МалП) включала в себя 21 крысенка (12 самцов и 9 самок) родившихся в пометах малой численности (4-7 крысят). 2-я подгруппа, ПСЧ, состояла из 75 крысят (40 самцов и 35 самок), рожденных в 7 пометах средней величины (число в помете – 9-12). Животные из исследованных групп содержались в условиях одного вивария, воду и разнообразный корм получали в свободном доступе *ad libitum*. Экспериментальное исследование, содержание и последующая эвтаназия животных осуществлялись согласно «Правилам проведения работ с экспериментальными животными» (Приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.09. 1977 г.). Протокол заседания этического комитета экспериментального исследования №3.14.2 от 06.02.2019.

У всех животных 1-й группы в возрасте 14 суток (1-я группа) определялись масса тела, семенников, ГМ, полушария. Во 2-й группе в 30-дневном возрасте определяли, кроме того, массу яичников. Морфометрическим и гистохимическим исследованиям подвергался ГМ всех животных из МалП. У крыс из

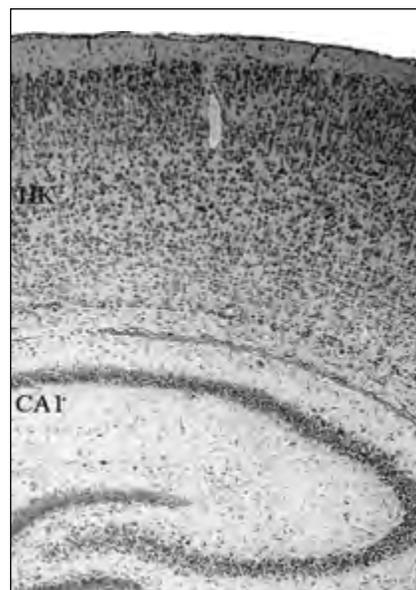


Рис. 1. Неокортекс собственно теменной доли и гиппокамп ГМ 30-суточной крысы из малочисленного помета. Окраска метиленовым синим. Увеличение 4x15. НК – неокортекс, CA1 – поле гиппокампа.

ПСЧ исследовали ГМ не менее 5-6 крысят из каждого помета. Левое полушарие ГМ фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Из собственно теменной доли [6], на микротоме Leica изготавливали срезы (Брега для 14-суточных животных -2.8 мм, 30-суточных -3.0 мм) толщиной 7 мкм, которые окрашивали 1% метиленовым синим и галлоцианином для выявления нуклеиновых кислот.

На препаратах, окрашенных метиленовым синим, проводили обзорное изучение препаратов (рис. 1). На препаратах, окрашенных галлоцианином, измеряли толщину коры собственно теменной доли и ее слоя I, определяли численную плотность (пространственную плотность) нейронов и глиоцитов, в том числе сателлитоцитов, в слое II и V. Эти исследования проводились в 5 полях зрения площадью по 16500 мкм², рассчитывалось количество каждого вида клеток на 10000 мкм². Измерялись размеры (площадь сечения) нейронов, их цитоплазмы, ядер и ядрышек в указанных слоях собственно теменной доли и поля CA1 гиппокампа. На этих же препаратах определяли концентрацию РНК в цитоплазме нейронов слоя II, V неокортекса и поля CA1 гиппокампа на аппарате «Мекос» (Россия, ООО «Мекос»).

Показатели высшей нервной деятельности (ВНД) регистрировали у 28-суточных крысят в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), применяя компьютерную программу «RatTestVersion 1.0» [7]. Тестирование каждой крысы проходило в течение трех минут. Фиксировались суммарное время и количество «элементарных» поведенческих актов (бездействие, захождение в открытые и закрытые рукава, груминг, стойки, движения).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., USA)

Таблица 1

Особенности развития ГМ крыс, родившихся в пометах, существенно различающихся численностью в возрасте 14 и 30 суток

Показатели	Группа	14-суточные, малочисленные пометы	14-суточные, пометы средней численности	30-суточные, малочисленные пометы	30-суточные, пометы средней численности
Масса тела, г		29,0±0,9*	20,1 ±0,44	77,2±1,9*	66,3±1,2
Масса ГМ, мг		1192±14,6*	1071±10,9	1521±12,7*	1454±11,6
Масса ГМ/масса тела, мг/г		41,3±1,0*	54±0,96	19,9±0,45*	22,7±0,37
Масса полушария, мг		471±8,9*	412±5,5	559±4,4*	534±5,1
Толщина коры, мкм		1316±50,1	1252±26,3	1261±32,8	1320±16,1
Толщина слоя I, мкм		120±7,1	115±3,6	131±3,1	134±2,2
Площадь сечения нейронов (мкм ²)		108±3,6	100±1,8	114±1,5*	103±1,4
слой II		184±7,5	171±2,9	181±2,8	174±2,6
слой V		153±4,9	143±2,8	138±1,4*	115±1,8
гиппокамп					
Площадь сечения цитоплазмы нейронов (мкм ²)		40,2±1,3	38,3±1,2	45±0,8*	41±0,7
слой II		62,7±3,5	61,4±1,4	82±2,4	76±1,9
слой V		52,3±2,04	50,2±1,07	68±1,0*	48±0,9
гиппокамп					
Площадь сечения ядер нейронов (мкм ²)		67,4±2,6	61,7±1,2	69±1,0*	61±0,9
слой II		121,2±4,6*	110,4±1,9	99±0,8	98±1,9
слой V		100,5±3,8	92,9±2,2	70±0,9	67±1,5
гиппокамп					
Площадь сечения ядрышек нейронов (мкм ²)		3,9±0,19*	3,4±0,08	5,0±0,11*	3,7±0,08
слой II		4,9±0,36*	3,9±0,06	5,6±0,1	5,7±0,09
слой V		4,4±0,26*	3,6±0,07	5,4±0,11*	4,2±0,08
гиппокамп					
Число нейронов в поле зрения		25,2±0,43	28,9±0,49	18,2±0,26*	19,9±0,29
слой II		7,6±0,18	7,8±0,13	6,0±0,12*	6,9±0,2
слой V					
Число глиоцитов в поле зрения		11,1±0,32	8,7±0,14	11,0±0,24*	8,5±0,11
слой II		8,2±0,39	8,4±0,16	8,5±0,11*	7,5±0,26
слой V					
Число сателлитоцитов в поле зрения		2,3±0,09	1,8±0,05	2,2±0,06*	1,8±0,05
слой II		1,8±0,11	2,0±0,09	2,2±0,07	2,0±0,26
слой V					
Глионеральный индекс		0,4±0,02*	0,3±0,003	0,608±0,02	0,43±0,007
слой II		1,09±0,05	1,1±0,02	1,441±0,041	1,126±0,026
слой V					
Сателлито-нейральный индекс		0,09±0,004*	0,06±0,002	0,119±0,004*	0,093±0,002
слой II		0,24±0,02	0,25±0,01	0,380±0,017*	0,283±0,008
слой V					

* – различия с контролем статистически достоверны (P<0,05).

с использованием опций дескриптивной статистики. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при P<0,05.

Результаты исследования

14-суточные животные. Крысята из МалП в 14-суточном возрасте имели достоверно большую, чем

у животных из ПСЧ, массу тела, превышая ее на 44,2%. Масса их семенников также имела достоверные межгрупповые различия (36,4±1,54 мг в группе МалП против 30,1±1,82 мг в ПСЧ). Вместе с этим животные из МалП отличались большей массой ГМ и полушарий (на 11,3% и 14,3%, соответственно). Толщина коры СТД и слоя I у крыс из МалП и ПСЧ не имела статистически значимых различий. У животных из МалП

Таблица 2

Поведение в ПКЛ крыс, родившихся в пометах различающихся численностью в возрасте 14 и 30 суток

Показатели \ Группа	Малочисленные пометы	Пометы средней численности
Свешивания, сек	5,6±1,8	8,4±1,3
Стойки, сек	19,9±2,8*	31,4±1,7
Грумминг, сек	6,1±1,9	10,2±2,2
Движение, сек	38,4±6,4*	75,4±3,2
Время бездействия, сек	26,1±4,9*	10,7±1,01
Нахождение в открытом рукаве, сек	25,2±5,1*	40,2±4,1
Нахождение в закрытом рукаве, сек	151,4±5,3	137,2±4,2
Свешивания, количество	2,1±0,61	2,3±0,32
Стойки, количество	6,4±1,0	5,7±0,34
Грумминг, количество	1,19±0,3	0,91±0,16
Движение количество	6,8±1,1	7,9±0,48
Выходы в открытый рукав, количество	2,7±0,52*	4,4±0,3
Заход в закрытый рукав, количество	3,3±0,54*	5,0±0,29

* - межгрупповые различия статистически достоверны (P<0,05)

численная плотность нейронов в поле зрения слоя II была меньше (25,2±0,43 против 28,9±0,49), а глиоцитов, в том числе, сателлитоцитов, – больше, чем у крыс из группы ПСЧ (11,1±0,32 против 8,7±0,14 и 2,3±0,09 против 1,8±0,05, соответственно). Следствием этого стали большие величины глионейрального и сателлито-нейрального индексов у крыс из группы МалП по сравнению с животными из ПСЧ. Размеры перикарионов и цитоплазмы у животных из МалП и ПСЧ не имели достоверных межгрупповых различий. Размеры ядер нейронов слоя V у крысят из группы МалП были достоверно большими, чем у животных из группы ПСЧ. Площадь сечения ядрышек в нейронах слоя II и V коры СТД, а также гиппокампа у животных из МалП также была достоверно больше, чем у животных из ПСЧ. Концентрация РНК у крысят из МалП была достоверно больше чем в ПСЧ только в цитоплазме нейронов поля СА1 гиппокампа (табл. 1).

30-суточные животные. Как и у 14-суточных крыс, масса тела 30-суточных крыс из МалП статистически достоверно превышала ее у крысят из

ПСЧ (табл. 1). У них была также большая масса гонад (масса семенников – 230±25,5 мг против 186±10,2 мг в ПСЧ; масса яичников – 18±1,3 мг против 14±1,2 мг, соответственно). Масса ГМ и его полушарий у 30-суточных крысят из МалП, как и у 14-суточных, была достоверно больше, чем у крысят из группы ПСЧ (табл. 1). Толщина коры СТД и ее слоя I не имели достоверных межгрупповых различий. Численная плотность нейронов в коре ГМ крыс из МалП была ниже, чем у крыс из ПСЧ (рис. 2, 3, табл. 1). В противоположность этому, численная плотность глиоцитов в слое II и V СТД, а сателлитоцитов в слое II у крыс из МалП была выше, чем у крыс из ПСЧ. Отношение глиоциты/нейроны и сателлитоциты/нейроны в коре ГМ крыс из группы МалП было достоверно большим, чем у крыс из ПСЧ (табл. 1).

Морфометрические характеристики нейронов неокортекса СТД и поля СА1 гиппокампа у крыс из МалП и ПСЧ также имели достоверные межгрупповые различия. При этом они обнаруживались в функционально различных слоях (II и V) неокортекса (табл. 1, рис. 2, 3). Так, достоверные различия между нейронами слоя II в мозге крыс из МалП и ПСЧ были как по размерам перикарионов (114±1,5 мкм² против 103±1,4 мкм²), так и их компонентов – цитоплазмы (45±0,8 мкм² против 41±0,7 мкм²), ядер (69±1,0 мкм² против 61±0,9 мкм²), ядрышек (5,0±0,11 мкм² против 3,7±0,08 мкм²) (табл. 1). Нейроны поля СА1 гиппокампа у крыс из группы МалП имели большие, чем в группе ПСЧ размеры перикарионов, цитоплазмы и ядрышек (рис. 4), (табл. 1). В то же время, концентрации РНК в цитоплазме исследованных нейронов не имела достоверных межгрупповых различий.

Различия массы тела, ГМ, полушария и описанные морфометрические отличия коры ГМ у 30-суточных

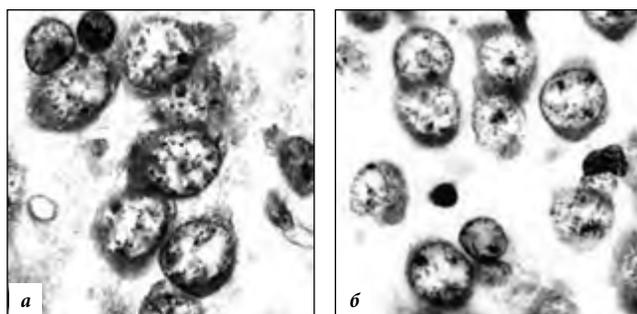


Рис. 2. Нейроны слоя II неокортекса СТД 30-суточной крысы. Окраска галлоксианином. Увеличение 15x100.
а – малочисленные пометы, б – пометы средней численности.

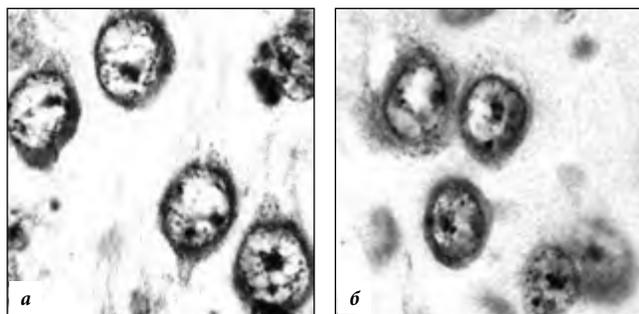


Рис. 3. Нейроны слоя V неокортекса СТД 30-суточной крысы. Окраска галлоксианином. Увеличение 15х100. а – малочисленные пометы, б – пометы средней численности.

животных из МалП и ПСЧ сочетались с отличиями их поведения в ПКЛ, которые проявлялись большим временем бездействия, меньшим временем стоек, уменьшением времени нахождения в открытых рукавах, движений, а также – числа выходов в открытые и заходов в закрытые рукава лабиринта (табл. 2).

Обсуждение полученных данных

Как 14-суточные, так и 30-суточные животные из МалП имели признаки акселерации [8,9] – большую, чем у животных из ПСЧ, массу тела и гонад. ГМ крысят из МалП отличался большей массой и целым рядом морфометрических показателей от ГМ животных из ПСЧ, свидетельствующих об опережающих темпах его развития [1,10–12]. Сопоставление межгрупповых различий массы ГМ у 14- и 30-суточных крысят показывает наибольшую их выраженность в 14-суточном возрасте.

Это свидетельствует о том, что темпы роста массы ГМ и полушария до этого возраста у крыс из МалП были значительно выше, чем у крыс из ПСЧ (табл.1). У 30-суточных животных из МалП и ПСЧ различия массы ГМ и полушария были меньшими, чем у 14-суточных. Это показывает, что темпы их роста у крыс из МалП не только не превышали их у крыс из ПСЧ, а были меньше их. Тем не менее масса ГМ и полушария у крыс из МалП была большей, чем у крыс из ПСЧ, что обуславливалось их различиями, сформированными к возрасту 14 суток (табл.1). Анализируя выявленные различия массы ГМ и полушария крыс из МалП и ПСЧ, можно предположить, что они определялись, в первую очередь, лучшей обеспеченностью

молоком матери, а также – меньшей стрессогенностью среды, в которой развивались крысята из МалП. Значение фактора питания и зависимость от матери снижаются по мере взросления крысят и их перехода на «смешанное» питание, наблюдаемое у крысят во второй половине молочного периода. Вследствие этого темпы увеличения массы ГМ и полушария в возрастном интервале между 14 и 30 сутками у крысят из МалП уже не превышали таковые у крысят из ПСЧ. Имевшиеся большие показатели массы ГМ и полушария у 30-суточных животных из МалП обуславливаются разницей, сформированной в возрасте 14 суток.

Уменьшение различий массы ГМ и полушария у 30-суточных крысят из МалП и ПСЧ по сравнению с имевшимися у 14-суточных не привело к нивелированию межгрупповых морфометрических различий коры у 30-суточных животных. Они проявлялись в обеих возрастных группах различиями численной плотности нейронов и глиоцитов, глионейральных отношений, размерных характеристик нейронов, то есть показателей, отражающих как уровень онтогенетического развития коры, так и функциональное состояние ее нейронов [1, 10–12] (табл.1). При этом различия морфометрических характеристик определялись как в слое II, содержащем ассоциативные корковые нейроны, так и (в меньшей степени) в слое V, содержащем эфферентные нейроны [10, 12].

Изучение поведения крыс выявило, что крысята из МалП и ПСЧ отличались по ряду временных и частотных показателей (табл.2). Совокупность особенностей поведения животных из МалП, выявленных в работе, трактуется как свидетельство их большей «осторожности». Это свойство увеличивается с возрастом животных и находится в реципрокных взаимоотношениях с «исследовательской активностью» [13,14]. Можно предположить, что это зависело от более высоких темпов соматического развития крысят из группы МалП, сочетавшихся с морфологическими признаками опережающего развития их ГМ, описанных выше. В качестве подтверждения этого предположения можно рассматривать особенности поведения мышей, селектированных на наличие «большого мозга»: эти животные были менее активны, чем контрольные, при контакте с новой пищей и ее поедании [15].

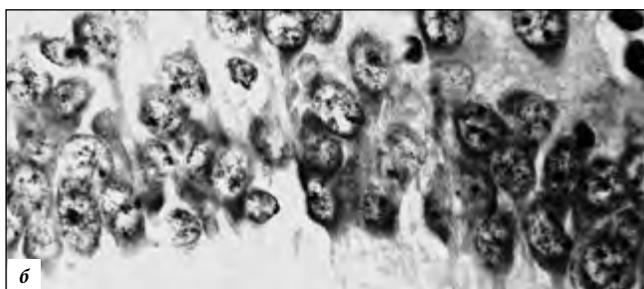
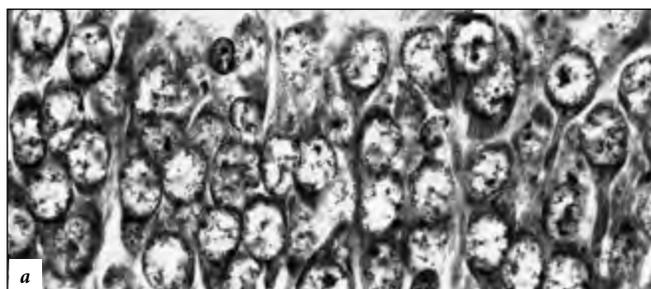


Рис. 4. Нейроны поля I гиппокампа 30-суточной крысы. Окраска галлоксианином. Увеличение 15х100. а – малочисленные пометы, б – пометы средней численности.

Заключение

Полученные в работе материалы показали, что воспитание таких многоплодных животных как крысы, в пометах, существенно различающихся по численности, приводит к ряду морфологических и физиологических различий их головного мозга. Эти результаты, по нашему мнению, могут представлять интерес для нейробиологов и врачей, изучающих влияние средовых факторов на развитие ГМ.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из бюджетных средств ДВГМУ.

Литература/Reference

1. Рыжавский Б.Я., Жильников Д.И. Зависимость некоторых показателей развития головного мозга 30-дневных крыс от динамики массы тела в неонатальном и молочном периодах в пометах разной численности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171 (5): 645-650. [Ryzhavsky B.Ya., Zhilnikov D.I. The dependence of some indicators of brain development in 30-day-old rats on the dynamics of body weight in the neonatal and milk periods in litters of different numbers. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171(5):645-650 (In Russ).]
2. Колчева Н.Е. Структура и динамика мышевидных грызунов населения в пойменных местообитаниях. *Поволжский экологический журнал*. 2004; (3): 285-294. [Kolcheva N.E. Structure and dynamics of mouselike rodent population in flood plain habitats. *Povolzhskiy Journal of Ecology*. 2004;(3):285-294 (In Russ).]
3. Лапин К.С., Высочина Н.П., Здановская Н.И., Мусатов Ю.С., Полещук Д.Н. Экология и эпидемиологическое значение Восточноевропейской полевки на юге Хабаровского края. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2015; (27): 53-56. [Lapin K.S., Vysochina N.P., Zdanovskaya N.I., Musatov Yu.S., Poleshchuk D.N. Ecology and epidemiological significance of the East European vole in the south of the Khabarovsk Territory. *Far Eastern Journal of Infectious Pathology*. 2015;(27):53-56 (In Russ).]
4. Максимова Е.В. *Онтогенез коры больших полушарий*. М.: Наука, 1990. [Maksimova E.V. *Ontogenesis of the cerebral cortex*. M.: Nauka, 1990 (In Russ).]
5. Orłowski D., Soltys Z., Janeczko K. *Morphological development of microglia in the postnatal rat brain. A quantitative study*. *Int. Dev. Neurosci*. 2003; 21 (8): 445-450.
6. Watson C., Paxinos G. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. London, San Diego: Academic Press, 2007.
7. Сапожников Ю.А., Фельдшер Ю.И., Рыжавский Б.Я. Математический и экспериментальный анализ возможности оптимизации оценки ВНД (поведения) крыс. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2002; (4):25-28. [Sapozhnikov Yu.A., Feldsherov Yu.I., Ryzhavsky B.Ya. Mathematical and experimental analysis of the possibility of optimizing the estimation of IRR (behavior) of rats. *Far Eastern Medical Journal*. 2002; (4):25-28 (In Russ).]
8. Величковский Б.Т., Баранов А.А., Кучма В.Р. Рост и развитие детей и подростков в России. *Вестник Российской Академии наук*. 2004; (1): 43-45. [Velichkovsky B.T., Baranov A.A., Kuchma V.R. Growth and development of children and adolescents in Russia. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. 2004; (1):43-45 (In Russ).]
9. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Вайнсон А.А., Андрианова И.Е., Лукьянова С.Н., Лягинская В.Н., Мальцев Л.А., Ильин А.С., Самойлов В.В. Уйба А.М. Акселерация лабораторных крыс: синтетическое исследование данных за столетие в аспекте возможной связи с радиочувствительностью. *Медицинская радиология и радиационная безопасность. Радиационная биология*. 2018; 63 (6): 5-20 [Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Vainson A.A., Andrianova I.E., Lukyanova S.N., Lyaginskaya V.N., Maltsev L.A., Ilyin A.S., Samoilov V.V. Uyba A.M. Acceleration of laboratory rats: a synthetic study of data over a century in the aspect of a possible relationship with radiosensitivity. *Medical Radiology and Radiation Safety. Radiation Biology*. 2018; 63 (6):5-20 (In Russ).]
10. Мотавкин П.А. *Введение в нейробиологию*. Владивосток: Медицина ДВ, 2003. [Motavkin P.A. *Introduction to neuroscience*. Vladivostok: Medicine DV, 2003 (In Russ).]
11. Цехмистренко Т.А., Козлов В.И. Гистофизиологический подход к изучению структурной организации коры мозга человека в онтогенезе. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016; (2):103-108. [Tsekhmistrenko T.A., Kozlov V.I. Histophysiological approach to the study of the structural organization of the human cerebral cortex in ontogenesis. *Pacific Medical Journal*. 2016; (2):103-108 (In Russ).]
12. Рыжавский, Б.Я. *Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий*. Изд. 3-е. Хабаровск: Изд-во ГОУ ВПО ДВГМУ, 2009. [Ryzhavsky B.Ya. *Brain development: long-term consequences of the influence of uncomfortable conditions*. Ed. 3rd. Khabarovsk: Publishing house of GOU VPO FESMU, 2009 (In Russ).]
13. Ковалев Г.И., Васильева Е.В., Салимов Р.М. Сравнение поведения мышей в тестах открытого поля, закрытого и приподнятого крестообразного лабиринтов с помощью факторного анализа. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2019; 69 (1):123-130 [Kovalev G.I., Vasilyeva E.V., Salimov R.M. Comparison of mouse behavior in the open field, closed and elevated cross-maze tests by the use of factor analysis. *Journal of Higher Nervous Activity*. 2019; 69 (1):123-130 (In Russ).]
14. Ковалев Г. И., Салимов Р. М., Сухорукова Н. А Кондрахин Е.А., Васильева Е.В. Нейрорецепторный профиль и поведение субпопуляций мышей CD-1, различающихся устойчивостью внимания. *Нейрохимия*. 2020; 37 (1): 15-23 [Kovalev G.I., Salimov R.M., Sukhorukova N.A., Kondrakhin E.A., Vasilyeva E.V. Neuroreceptor Profile and Behavior of CD-1 Mice Subpopulations with Different Attention Stability. *Neurochemistry*. 2020; 37 (1): 15-23 (In Russ).]
15. Перепелкина О.В., Огиенко Н.А., Сулейманова А.Д., Полетаева И.И. Стресс иммобилизации и поведения мышей с разным весом мозга. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2021; 71 (1):104-113 [Perepelkina O.V., Ogienko N.A., Suleimanova A.D., Poletaeva I.I. Immobilization stress and behavior of mice with large and small brain weight. *Journal of Higher Nervous Activity*. 2021; 71 (1):104-113 (In Russ).]

УДК 616.132.2-089.844-06:616.12-005.4

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-85-89

Непосредственные результаты бимаммарного коронарного шунтирования у пациентов с ишемической болезнью сердца

А.Г. Мурадов¹, В.У. Эфендиев¹, А.В. Андин¹, Д.П. Демидов¹, Д.Б. Дробот^{1,2}, В.А.Сакович^{1,2}¹ ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», Красноярск, Россия; ² Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

Цель: сравнить непосредственные результаты бимаммарного аутоартериального шунтирования «*in situ*» и «Y»-графтом у пациентов с ишемической болезнью сердца. **Материал и методы.** С января 2018 г. по декабрь 2020 г. в кардиохирургическом отделении №1 ФГБУ "Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии" Министерства здравоохранения РФ (г. Красноярск) 107 пациентам выполнено бимаммарное коронарное шунтирование. Распределение групп проводилось в соотношении 3:1, в первой группе (24 пациента) для реваскуляризации миокарда использовались обе внутренние грудные артерии по методике «*in situ*», во второй группе (композиционного шунтирования) (83 пациента) правая внутренняя грудная артерия свободным графтом анастомозировалась с левой внутренней грудной артерией («Y»-графт). **Результаты.** Случаев госпитальной летальности не было. Длительность операций в группе композиционного шунтирования была достоверно выше, чем в группе «*in situ*» (126,4 минут ± 20,1 минут против 172,3 минут ± 27,1 минут, $p = 0.038$), связано это было с большим числом наложения дистальных анастомозов. Кровотечение в раннем послеоперационном периоде было в одном случае (1,2%) в группе композиционного шунтирования. Периоперационные инфаркты миокарда, неврологические осложнения и глубокая раневая инфекция грудины отсутствовали в обеих группах. У одного пациента из группы «*in situ*» (4,2%) и у одного пациента из группы композиционного шунтирования (1,2%) послеоперационный период осложнился поверхностной раневой инфекцией в области стернотомного доступа ($p = 0,649$). В группе «*in situ*» средняя скорость кровотока по данным флоуметрии составила 32 мл/мин ± 8,1 мл/мин, а в группе композиционного шунтирования 51,8 мл/мин ± 12,3 мл/мин, $p = 0,001$. **Заключение.** Бимаммарное коронарное шунтирование обеспечивает благоприятный эффект хирургического лечения в послеоперационном периоде. Данная методика операций позволяет добиться низкой внутрибольничной летальности и осложнений, может быть связана с хорошей отдаленной выживаемостью пациентов, для этого необходим дальнейший анализ результатов исследования на более отдаленных сроках.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, бимаммарное коронарное шунтирование, секвенциальное шунтирование

Поступила в редакцию 30.06.2021. Получена после доработки 30.09.2021. Принята к печати 17.12.2021.

Для цитирования: Мурадов А.Г., Эфендиев В.У., Андин А.В., Демидов Д.П., Дробот Д.Б., Сакович В.А. Непосредственные результаты бимаммарного коронарного шунтирования у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022; 1:85–89. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-85-89

Для корреспонденции: Мурадов Асим Гасанович – врач сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения №1 ФГБУ "Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии (660020, г. Красноярск, улица Караульная, 45); ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4096-0375>; e-mail: ranjer1986@mail.ru

Immediate results of using both internal thoracic arteries for coronary artery bypass surgery in patients with ischemic artery disease

A.G. Muradov¹, V.U. Efendiev¹, A.V. Andin¹, D.P. Demidov¹, D.B. Drobot^{1, 2}, V.A. Sakovich^{1,2}¹ Federal Center for Cardiovascular Surgery, Krasnoyarsk, Russia;² Professor V.F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

Objective: To compare direct results of «*in situ*» and Y-graft bimary autoarterial bypass in patients having coronary artery disease. **Methods:** From January 2018 to November 2020, 107 patients having ischemic artery disease undergone coronary artery bypass surgery in the Cardiac Surgery Department No.1 of the Federal State Budgetary Institution "Federal Center for Cardiovascular Surgery" of the Ministry of Health of the Russian Federation(Krasnoyarsk). The distribution of the groups was carried out in a 3:1 ratio: in the first group (24 patients) both internal thoracic arteries were used for myocardial revascularization according to the «*in situ*» technique, in the second group (composite bypass surgery) (83 patients)the right internal thoracic artery was anastomosed with a free graft with the left internal thoracic artery (Y- graft). **Results:** There were no cases of hospital mortality. The duration of operations in the composite bypass group was significantly higher than in the «*in situ*» group (126.4 minutes ± 20.1 minutes versus 172.3 minutes ± 27.1 minutes, $p = 0.038$). The reason for extra time is the necessity to put a large number of distal anastomoses. Bleeding in the early postoperative period was observed only in one case (1.2%) in the composite bypass group. Perioperative myocardial infarctions, neurological complications, and deep wound infection of the sternum weren't observed in any group. One patient from the «*in situ*» group (4.2%) and one patient from the composite bypass grafting group (1.2%), experienced the postoperative period complicated by a superficial wound infection in the area of the sternotomy access ($p = 0.649$). In the «*in situ*» group, average blood flow velocity according to flowmetry data was 32 ml / min ± 8.1 ml / min, and in the composite shunting group it counted 51.8 ml / min ± 12.3 ml / min, $p = 0.001$. **Conclusions.** Using both internal thoracic arteries for coronary artery bypass surgery provides a favorable effect of surgical treatment in the postoperative period. This operation technique can be safely performed with low mortality rate and less complications. It may be associated with improved long-term patient survival; but this requires further analysis of the study results in a longer period.

Keywords: ischemic heart disease, bimaxillary coronary artery bypass surgery, sequential bypass

Received 30 June 2021; Revised 30 September 2021; Accepted 17 December 2021

For citation: Muradov A.G., Efendiev V.U., Andin A.V., Demidov D.P., Drobot D.B., Sakovich V.A. Immediate results of using both internal thoracic arteries for coronary artery bypass surgery in patients with coronary artery disease. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:85–89. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-85-89

Corresponding author: Asim G. Muradov, cardiovascular surgeon of the Cardiac Surgery Department No.1 of the Federal State Budgetary Institution "Federal Center for Cardiovascular Surgery" of the Ministry of Health of the Russian Federation (45, Karaulnaya Street, Krasnoyarsk, 660020, Russian Federation); ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4096-0375>; e-mail: ranjer1986@mail.ru

Хирургические методы лечения ишемической болезни сердца (ИБС) характеризуются высокой эффективностью. Современный уровень коронарной хирургии позволяет выполнять прямую реваскуляризацию миокарда достаточно безопасно, с госпитальной летальностью, не превышающей 1–3% [1, 2]. При выборе кондукта общепринятым стандартом является применение внутренней грудной артерии (ВГА) для реваскуляризации передней нисходящей артерии и большой подкожной вены для шунтирования бассейна правой и огибающей артерий.

Долгосрочное преимущество при коронарном шунтировании (КШ) показывает сочетанное использование ВГА и венозных аутотрансплантатов [3]. При этом, имеется ограниченный ресурс жизнеспособности шунтов, что ведет к возобновлению клиники ИБС у прооперированных больных. Использование методики полной аутоартериальной реваскуляризации сердца улучшает результаты в отдаленном периоде по сравнению с традиционным применением венозных графтов [4].

В 90-х годах несколько исследовательских групп представили результаты использования обеих ВГА для операции КШ, которые продемонстрировали превосходную проходимость сосудов и хорошие клинические результаты в сравнении с использованием одной ВГА [5,6]. После этого был проведен ряд рандомизированных клинических исследований, доказывающих преимущества данной методики. В настоящее время нет сомнений в эффективности использования обеих ВГА при хирургическом лечении ИБС. Бимаммарная реваскуляризация коронарных артерий чаще всего выполняется в двух модификациях: 1 – обе ВГА сохраняют связь с соответствующей подключичной артерией («*in situ*»); 2 – правая ВГА отсекается от устья и используется как свободный трансплантат от левой ВГА «*in situ*» («Y»-графт). В обоих случаях не требуется использование восходящей аорты в качестве наложения проксимального анастомоза. Применение двух ВГА расширяет возможности хирургических методов, не требующих пережатия аорты, и снижает появление неврологических осложнений в группах высокого риска [7]. Однако рандомизированные клинические исследования, доказывающие преимущества описанных модификаций, до настоящего времени не проводились.

Цель настоящей работы состояла в оценке непосредственных результатов бимаммарного аутоартериального коронарного шунтирования с помощью методов «*in situ*» и «Y»-графтом у пациентов с ИБС.

Материал и методы

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФЦССХ г. Красноярск. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

С января 2018 г. по декабрь 2020 г. в кардиохирургическом отделении №1 ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава РФ (г. Красноярск) 107 пациентам выполнено изолированное КШ с использованием двух ВГА, в двух модификациях. Распределение групп проводилось в соотношении 3:1, в группе 1 (n=24) для реваскуляризации миокарда применяли обе ВГА по методике «*in situ*», в группе 2 (n=83) правая ВГА свободным графтом анастомозировалась с левой ВГА («Y»-графт). Распределение пациентов по группам решалось на дооперационном этапе, согласно данным коронароангиографии, значимым считался стеноз артерии 70% и более и диаметр артерии за зоной поражения не менее 1,5 мм. В первую группу вошли пациенты с поражением передней нисходящей артерии и проксимальным поражением правой коронарной артерии. Во вторую группу – пациенты с поражением передней нисходящей артерии и других артерий системы левой коронарной артерии и/или с дистальным поражением правой коронарной артерии или ее ветвей. Исходные данные пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице.

ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ХБП – хроническая болезнь почек, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, CCS – классификация стабильной стенокардии напряжения по Canadian Cardiovascular Society, БЦА – брахиоцефальные артерии, ВОА – восходящий отдел аорты, ЛКА – левая коронарная артерия, ПНА – передняя нисходящая артерия, ОА – огибающая артерия, АТК – артерия тупого края, ПА – промежуточная артерия, ДА – диагональная артерия, ПКА – правая коронарная артерия, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, EuroSCORE II – Европейская шкала рисков неблагоприятных исходов операции.

Первичной конечной точкой исследования была оценка госпитальной летальности. Вторичные точки эффективности включали: развитие периоперационного инфаркта миокарда, неврологические осложнения и раневые осложнения грудины. Всем пациентам выполнялась срединная стернотомия, далее проводилось выделение левой и правой ВГА методом скелетизации.

Таблица
Предоперационная клинико-диагностическая характеристика
пациентов, (M±SD)

	Группа 1 («in situ», n=24)	Группа 2 («Y-графт», n=83)	p - value
Возраст (лет)	58,9 ± 7,6	60,9 ± 7,6	0,257
Пол (м)	18 (75%)	72 (86,7%)	0,227
Сахарный диабет	5 (20,8%)	20 (24,1%)	0,742
ИМТ (кг/м ²)	30,7±5,6	28,9 ± 5	0,146
Гипертоническая болезнь	22 (91,7%)	81 (97,6%)	0,181
ХБП (СКФ <60 мл/ мин/1,73м ²)	10 (41,7%)	41(49,4%)	0,508
ХОБЛ	1(4,2%)	1(1,2%)	0,350
ФВЛЖ (%)	50,2 ± 11,9	51 ± 8 ,9	0,691
Стенокардия ССС:			
II класс	12 (50%)	41 (49,4%)	0,959
III класс	9 (37,5%)	34 (41%)	0,763
IV класс	1 (4,2%)	0 (0%)	0,901
Поражение БЦА	7 (29,2%)	19 (29,9%)	0,532
Кальциноз ВОА	7 (29,2%)	18 (21,7%)	0,450
Поражение коронарных артерий (стеноз более 70% или окклюзия):			
ствол ЛКА	8 (33,3%)	23 (27,7%)	0,596
ПНА	18 (72%)	71 (85,5%)	0,227
ОА (или проксимальный сегмент АТК)	1 (4,2%)	59 (71%)	0,026
ПА	0 (0%)	6 (7,2%)	0,013
ДА	0 (0%)	7 (8,4%)	0,007
ПКА (или проксимальное поражение краевых ветвей артерии)	23 (95,8%)	71 (85,6%)	0,177

Данная методика позволяет выделить ВГА максимальной длины, необходимой для шунтирования дистальных отделов коронарных артерий передней и задней поверхности сердца. Вводили расчетную дозу гепарина для начала основного этапа операции. Отсекали дистально до бифуркации обе ВГА, дистальной места отсечения артерий накладывали гемостатические клипсы. При необходимости, в дальнейшем использование правой ВГА композитным трансплантантом, последняя отсекалась проксимально до отхождения от правой подключичной артерии и вшивалась в левую ВГА на уровне ушка левого предсердия обвивным непрерывным швом нитью («Y»-графт). При выполнении операций в условиях искусственного кровообращения (ИК), подключение аппарата ИК выполнялось по схеме: восходящий отдел аорты – правое предсердие. Для наложения анастомозов в условиях работающего сердца, использовался стабилизатор миокарда (Acrobat Maquet (Швеция) или Cardiac Stabilizers Beijing MEDOS

AT Biotechnology, КНР) и внутрикоронарные шунты (Medtronic, США), различного диаметра (от 1,25 мм до 2 мм). При использовании техники композитного коронарного шунтирования, для позиционирования боковой и задней поверхностей сердца, накладывался глубокий перикардальный шов в области задней межжелудочковой борозды, с формированием турникета. В зависимости от числа дистальных анастомозов выполнялась реваскуляризация миокарда: при одном дистальном анастомозе формировался анастомоз по типу «конец в бок», при формировании более одного дистального анастомоза выполнялось композитное – секвенциальное шунтирование с помощью техники ромбовидного анастомоза («diamond-shaped»). Эта методика является более эффективным вариантом наложения дистальных анастомозов при секвенциальном шунтировании, чем техника параллельных анастомозов «бок в бок», связано это с более высокой скоростью объемного кровотока по шунту в области наложения анастомоза и меньшей вероятностью перегиба шунта в этой зоне [8]. Контроль проходимости шунтов проводили интраоперационно с помощью флоуметрии (Medistim Mira Q, Норвегия). При выполнении этой процедуры мы обращаем внимание на объемную скорость кровотока (Q), которая не должна быть менее 15-20 мл/мин и на индекс сопротивления (PI), величина которого не должна составлять более 5 единиц [9]. Данный диапазон референтных значений наблюдался у всех исследованных пациентов.

Статистический анализ проводился с помощью программы Statistica для Windows версия 10.0 (Statsoft, Inc., США). Данные выражались как среднее значение ± стандартное отклонение (M±SD) или процент пациентов от группы. Проверку статистических гипотез осуществляли по критерию Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования

Случаев госпитальной летальности не было. Все операции выполнены с использованием обеих ВГА, без дополнительных венозных и артериальных графтов. В одном случае, в группе «in situ» (1,2%), при выполнении операции на работающем сердце была конверсия по причине желудочковой тахикардии, не купирующийся электрической дефибрилляцией, на фоне гипотермии 33С, был подключен аппарат ИК, формирование анастомозов проводилось в условиях параллельного ИК. В одном случае (4,2%), операция по методике «in situ», проводилась только для бассейна левой коронарной артерии: левая ВГА была анастомозирована с артерией тупого края, а правая ВГА была анастомозирована

выявили различий между двумя конфигурациями [14]. Итальянские коллеги сравнили 734 операции коронарного шунтирования с использованием двух ВГА «*in situ*» и 734 в виде «Y»-графт». Не было обнаружено различий в выживаемости пациентов между группами: $73 \pm 8\%$ в «Y»-графт» и $77 \pm 5\%$ в «*in situ*» ($p = 0,48$). Не было изменений и в 20-летней выживаемости между группами, 58 ± 5 «Y»-графт» против 60 ± 7 «*in situ*» ($p = 0,65$). Показатель больших кардиальных и цереброваскулярных событий (МАССЕ) не отличался между группами (40,8% конфигурация «*in situ*» против 33,5% «Y»-графт», $p = 0,74$) [15].

Анализируя работы в данной области, можно сказать, что преимущество использования двух ВГА не зависит от конфигурации. В нашем исследовании мы не обнаружили этой разницы в госпитальный период. Достаточно хороший опыт хирурга позволяет выполнять бимаммарное коронарное шунтирование с низким уровнем периоперационных инфарктов миокарда, ранних осложнений грудины и госпитальной летальностью. Обе методики реваскуляризации миокарда позволяют исключить манипуляции на восходящем отделе аорты, тем самым снизить риск развития в послеоперационном периоде неврологических осложнений.

Результаты нашей работы показывают, что коронарное шунтирование с использованием двух ВГА может выполняться на работающем сердце и в условиях искусственного кровообращения. Данная методика операций, не зависимо от конфигурации, характеризуется низким уровнем внутрибольничной летальности и осложнений и может определять стабильное состояние пациентов в отдаленный послеоперационный период.

Заключение

Бимаммарное коронарное шунтирование является эффективным методом полной аутоартериальной реваскуляризации миокарда, который выполняется в условиях искусственного кровообращения и на работающем сердце. Данная методика реваскуляризации миокарда позволяет исключить манипуляции на восходящем отделе аорты и тем самым избежать или снизить риск развития в послеоперационном периоде неврологических осложнений. Секвенциальное шунтирование благоприятно сказывается на гемодинамических показателях кровотока. Нами установлено, что при изолированных шунтах («*in situ*») средняя скорость кровотока составляет $32 \text{ мл/мин} \pm 8,1 \text{ мл/мин}$, а при секвенциальном шунтировании – $51,8 \text{ мл/мин} \pm 12,3 \text{ мл/мин}$ ($p = 0,001$).

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – МАГ, ЭВУ, ДДП

Сбор и обработка материала – МАГ

Статистическая обработка – МАГ, ЭВУ

Написание текста – МАГ

Редактирование – ЭВУ, ААВ, ДДБ, СВА

Литература/Reference

1. El Bardissi AW, Aranki SF, Sheng S, O'Brien SM, Greenberg CC, Gammie JS. Trends in isolated coronary artery bypass grafting: an analysis of the Society of Thoracic Surgeons adult cardiac surgery database. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012; 143:273–281. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.10.029
2. Hua M, Scales DC, Cooper Z, Pinto R, Moitra V, Wunsch H. Impact of Public Reporting of 30-day Mortality on Timing of Death after Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Anesthesiology.* 2017; 127:953–960. doi: 10.1097/ALN.0000000000001884
3. Loop FD, Lytle BW, Cosgrove DM, Stewart RW, Goormastic M, Williams GW, Proudfit WL. Influence of the internal mammary artery graft on 10 – year survival and other cardiac events. *N Engl J Med.* 1986; 314:1–6 doi: 10.1056/NEJM198601023140101
4. Shi WY, Tatoulis J, Newcomb AE, Rosalion A, Fuller JA, Buxton BF. Is a third arterial conduit necessary? Comparison of the radial artery and saphenous vein in patients receiving bilateral internal thoracic arteries for triple vessel coronary disease. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016;50:53–60 doi: 10.1093/ejcts/ezv467
5. Buxton BF, Komeda M, Fuller JA, Gordon I. Bilateral internal thoracic artery grafting may improve outcomes of coronary artery surgery, risk-adjusted survival. *Circulation.* 1998; 98: II-1–6.
6. Lytle BW, Blackstone EH, Loop FD, Houghtaling PL, Arnold JH, Akhrass R, McCarthy PM, Cosgrove DM. Two internal thoracic artery grafts are better than one. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999; 117:855–72. doi: 10.1016/S0022-5223(99)70365-X
7. Gatti G, Dell'Angela L, Benussi B, Dreas L, Forti G, Gabrielli M, Rauber E, Luzzati R, Sinagra G, Pappalardo A. Bilateral internal thoracic artery grafting in octogenarians: where are the benefits? *Heart and Vessels.* 2016. 31:702–712. doi: 10.1007/s00380-015-0675-z
8. Matsuura K, Wei WJ, Liu H, Matsumiya G. Computational fluid dynamics study of the end-side and sequential coronary artery bypass anastomoses in a native coronary occlusion model. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2018; 26: 583–589. doi: 10.1093/icvts/ivx376
9. Niclauss L. Techniques and standards in intraoperative graft verification by transit time flow measurement after coronary artery bypass graft surgery: a critical review. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016; 51: 26–33. doi: 10.1093/ejcts/ezw203
10. Lytle BW. Prolonging patency—choosing coronary bypass grafts. *N Engl J Med.* 2004; 351: 2262–2264. doi: 10.1056/NEJMp048238
11. Benedetto U, Altman DG, Gerry S, Gray A, Lees B, Pawlaczyk R, Taggart DP. Arterial revascularization trial Investigators. Pedicled and skeletonized single and bilateral internal thoracic artery grafts and the incidence of sternal wound complications: insights from the arterial revascularization trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2016; 152: 270–276. doi: 10.1016/j.jtcvs.2016.03.056
12. Glineur D, Hanet C, D'hoore W, Funken W, Rubay JC, El Khoury G. Comparison of bilateral internal thoracic artery revascularization using in situ or Y graft configurations. *Circulation.* 2008; 118 (14 Suppl.): S216–S221. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.751933
13. Nasso G, Coppola R, Bonifazi R, Piancone F, Bozzetti G, Speziale G. Arterial revascularization in primary coronary artery bypass grafting: direct comparison of 4 strategies—results of the Stand-in-Y Mammary Study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009; 137: 1093–100. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.10.029
14. Gatti G, Castaldi G, Morosin M, Tavcar I, Belgrano M, Benussi B, Sinagra G, Pappalardo A. Double versus single source left-sided coronary revascularization using bilateral internal thoracic artery graft alone. *Heart and Vessels.* 2018; 33: 113–25. doi: 10.1007/s00380-017-1040-1
15. Di Mauro M, Iaco` AL, Allam A, Awadi MO, Osman AA, Clemente D, Calafiore AM. Bilateral internal mammary artery grafting: in situ versus Y-graft. Similar 20-year outcome. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016; 50: 729–34. doi: 10.1093/ejcts/ezw100

УДК 616-001.45-085.27

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-90-97

Изменения микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях после локального применения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной взрывной травме

И.А. Шперлинг, Р.В. Семакин, А.В. Шулепов, Н.В. Шперлинг, М.В. Баженов

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Цель: выявить изменения микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях при экспериментальной взрывной ране после локального введения гиалуроновой кислоты и определить режим ее применения, при котором эти изменения саногенетически наиболее значимы. **Материал и методы.** Эксперименты одобрены локальным Комитетом по этике, выполнены на 96 крысах-самцах линии Вистар весом 300-350 г. в возрасте 4-4,5 мес. Дизайн исследования предусматривал этапы: моделирование раны (по методике, согласно патенту РФ на изобретение № 2741238); закрытие раны давящей повязкой и фиксация ее пластырем; первичная хирургическая обработка раны через 3 ч после повреждения; веерное (5-6 точек) внутримышечное введение в паравульнарные ткани гиалуроновой кислоты (препарат «Гиалифт»), разведенной 0,9% раствором натрия хлорида до 1,75% (суммарный объем – 0,5-0,8 мл); динамическое наблюдение с ежедневными перевязками раны (хлоргексидин, мазь «Левомеколь») до момента ее эпителизации и внутримышечным введением антибактериального препарата (гентамицина сульфат) в течение первых 7 сут. после травмы; исследование микроциркуляции и метаболизма тканей зоны повреждения методом лазерной доплеровской флоуметрии, оптической тканевой оксиметрии и лазерной флуоресцентной диагностики (с помощью прибора «Лакк-М») через 7, 14 и 28 сут. после травмы. **Результаты.** Раннее (через 3 ч после травмы) локальное применение ГК при взрывной ране мягких тканей улучшает перфузионные характеристики микроциркуляции, положительно влияет на трофику и окислительный метаболизм скелетных мышц, сокращает сроки заживления раны. Наиболее эффективным является раннее введение (через 3 ч после травмы) ГК в режиме: локально в паравульнарные ткани, через 3 ч (по окончании первичной хирургической обработки раны) и дополнительно через 24 ч после травмы. **Заключение.** При взрывной ране мягких тканей внутримышечное введение гиалуроновой кислоты в паравульнарные ткани в первые часы после ранения является саногенетически обоснованным способом коррекции раневого процесса.

Ключевые слова: взрывная рана, микроциркуляция, гиалуроновая кислота

Поступила в редакцию 18.06.2021. Получена после доработки 22.09.2021. Принята к печати 14.12.2021.

Для цитирования: Шперлинг И.А., Семакин Р.В., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Баженов М.В. Изменения микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях после локального применения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной взрывной травме. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022; 1:90–97. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-90-97

Для корреспонденции: Шперлинг Игорь Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, заместитель начальника центра Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины (195043, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4); ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7029-8602>; e-mail: gniivm_2@mil.ru

Changes in microcirculation and metabolic activity in soft tissue after local injection of hyaluronic acid in different modes in experimental explosive injury

I.A. Shperling, R.V. Semakin, A.V. Shulepov, N.V. Shperling, M.V. Bazhenov

State Scientific Research Test Institute of the military medicine, Saint-Petersburg, Russia

Objective: To identify changes in microcirculation and metabolic activity in soft tissues in an experimental explosive wound after local administration of hyaluronic acid and to determine the mode of its use, in which these changes are sanogenetically significant. **Methods:** The experiments were approved by the local Ethics Committee and performed on 96 male Wistar rats weighing 300-350 g. at the age from 4 to 4.5 months. The design of the study included the following stages: wound modeling (according to the method which has RF patent for invention No. 2741238); closing the wound with a pressure bandage and fixing it with a patch; primary surgical treatment of the wound 3 hours after the injury; fan (5-6 points) intramuscular injection of hyaluronic acid ("Hyalift" medication) diluted with 0.9% sodium chloride solution to 1.75% (total volume – 0.5-0.8 ml); dynamic observation accompanied by daily wound dressings (chlorhexidine, and Levomekol ointment) until its epithelialization and by intramuscular administration of antibacterial drug (Gentamicin sulfates) during the first 7 days after the injury. The study of microcirculation and metabolism of tissues of the injury zone using laser Doppler flowmetry, optical tissue oximetry and laser fluorescence diagnostics (using the device "Lakk-M") was conducted on the 7th, 14th and 28th day after the injury. **Results:** Early (3 hours after the injury) local application of HA in case of an explosive soft tissue wound improves the perfusion characteristics of microcirculation, has a positive effect on the trophism and oxidative metabolism of skeletal muscles, and reduces the time of wound healing. The early administration (3 hours after the injury) of HA in the mode: locally in the para volar tissues, after

3 hours (at the end of the primary surgical treatment of the wound) and additionally after 24 hours after the injury is considered to be the most effective. **Conclusions:** Intramuscular injection of hyaluronic acid into the para volar tissues in the first hours after the wound in case of an explosive soft tissue wound is a sanogenetically justified method of correcting the wound process.

Keywords: blast wound, microcirculation, hyaluronic acid

Received 18 June 2021; Revised 22 September 2021; Accepted 14 December 2021

For citation: Shperling I.A., Semakin R.V., Shulepov A.V., Shperling N.V., Bazhenov M.V. Changes in microcirculation and metabolic activity in soft tissue after local injection of hyaluronic acid in different modes in experimental explosive injury. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:90–97. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-90-97

Corresponding author: Igor A. Shperling, MD, deputy head of the Center of State Scientific Research Test Institute of the military medicine (4, Saint Petersburg, Lesoparkovaya str., 195043, Russian Federation); ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7029-8602>; e-mail: gniiivm_2@mil.ru

Взрывные раны (ВР), возникающие в результате комбинированного термомеханического повреждения, характеризуются развитием длительного тяжелого патологического процесса, в подавляющем большинстве случаев требующего радикального лечения [1, 2]. Однако существующие алгоритмы оказания помощи при взрывных ранениях не содержат конкретных мероприятий профилактики осложнений, связанных с прогрессированием некротических процессов в тканях паравульнарной зоны. Вместе с тем основой тактики органосбережения при взрывной травме может служить консервативная коррекция морфофункциональных нарушений тканей.

Перспективным направлением в лечении мышечных повреждений считается стимуляция регенеративной активности тканей [3]. При этом функциональной основой гистогенеза является адекватная микроциркуляция, обеспечивающая метаболические потребности клеток в зоне регенерации. Известны регенеративные эффекты раннего локального введения гиалуриновой кислоты (ГК) (в том числе за счет улучшения микроциркуляции и метаболизма тканей) при ишемических повреждениях мягких тканей после механической компрессии [4]. В связи с этим представляет интерес изучение микроциркуляции и метаболизма тканей при взрывных повреждениях мягких тканей после локального применения ГК. Для выявления лечебного потенциала ГК в рамках влияния на микроциркуляцию и метаболизм тканей необходимы исследования данных процессов после ее локального введения в разных режимах. Это позволит разработать тактику применения препарата для повышения эффективности лечения взрывных ран мягких тканей.

Цель работы – выявить изменения микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях при экспериментальной взрывной ране после локального введения ГК и определить режим ее применения, при котором эти изменения саногенетически наиболее значимы.

Материал и методы

Эксперименты были одобрены локальным Комитетом по этике Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины (протокол № 11 от 05.11.2019 г.) и выполнены на 96 крысах-самцах линии Вистар весом 300-350 г. в возрасте

4-4,5 мес. Содержание экспериментальных животных и уход за ними осуществлялись в соответствии с правилами лабораторной практики, утвержденными Приказом Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708 н.

Дизайн исследования предусматривал следующие этапы: моделирование раны; закрытие раны давящей повязкой и фиксация ее пластырем; первичная хирургическая обработка (ПХО) раны через 3 ч после повреждения; локальное введение ГК; динамическое наблюдение с ежедневными перевязками раны до момента ее эпителизации и внутримышечным введением антибактериального препарата в течение первых 7 сут. после травмы; исследование микроциркуляции и метаболизма тканей зоны повреждения через 7, 14 и 28 сут. после травмы. Для сравнительной оценки результатов формировали группу интактных животных (n=6) без моделирования взрывной раны.

Моделирование взрывной раны мягких тканей проводили в соответствии с методикой [5]. За 10 мин до нанесения травмы внутримышечно вводили золетил и ксилазин из расчета 15 мг/кг и 10 мг/кг веса тела, соответственно, каждого препарата. Через линейный разрез кожи длиной 0,8-1,0 см и контрапертуру такого же размера в средней трети бедра животного параллельно длиннику бедренной кости создавали канал, куда устанавливали взрывной заряд (терочная петарда Корсар-2), состоящий из картонного оболочечного контейнера (размеры: длина – 5,0 см; диаметр – 0,8 см; толщина оболочки – 1,2 мм), начиненного пиротехнической смесью (порошковый магний, перхлорат калия) и герметизированного цементно-силикатной смесью.

При соблюдении условий моделирования удавалось создать повреждение кожных покровов и мягких тканей бедра на всю их глубину, без массивного кровотечения и переломов костей. Взрывная рана характеризовалась наличием участков опаления и разрывов кожи, фасциально-мышечных разрывов, присутствием компонентов оболочки, содержимого петарды и продуктов ее горения. Визуальные размеры повреждения кожи и подкожно-жировой клетчатки в среднем составляли в диаметре $3,0 \pm 0,5$ см, мышц и фасций – в среднем $1,2 \pm 0,2$ см. Для усиления тяжести взрывной травмы производили моделирование острой кровопотери в размере 15% объема циркулирующей крови (ОЦК), которую рассчитывали

исходя из того, что ОЦК крысы составляет 7% от веса животного. Для этого непосредственно после нанесения взрывной травмы, с помощью автоматической пипетки осуществляли забор излившейся из раны крови, которую собирали в градуированную пробирку Microvette объемом 9 мл. Недостающее количество крови (до объема 15% ОЦК) получали из сосудов хвоста путем отсечения его кончика после предварительного нагревания в течение 1-2 мин в воде с температурой 35-40°C. По окончании забора крови хвост перевязывали, и на рану накладывали асептическую марлевую повязку. Через 3 ч после нанесения взрывной раны производили первичную хирургическую обработку раны (ПХО), накладывали асептическую повязку, фиксировали лейкопластырем. По завершении ПХО крысам локально вводили ГК. В зависимости от режима введения препарата все животные были распределены на пять опытных групп по 18 особей в каждой: ГК:3 – введение ГК через 3 ч после ранения; ГК:3+24 – введение ГК через 3 и 24 ч после ранения; ГК:3+24+48 – введение ГК через 3, 24 и 48 ч после ранения; ГК:24 – введение ГК через 24 ч после ранения; ГК:48 – введение ГК через 48 ч после ранения. В соответствии с методикой введения гиалуроновой кислоты при компрессионной травме [4] осуществляли веерное (5-6 точек) внутримышечное введение в паравульнарные ткани 1,75 % водного раствора гиалуроновой кислоты (препарат «Гиалифт» (Aesthetic Dermal S.L., Испания) содержащий 3,5% преимущественно низкомолекулярной гиалуроновой кислоты (до 30 кДа) с высоко- и среднемолекулярными фрагментами, разведенный 0,9% раствором натрия хлорида в соотношении 1 : 1 в суммарном объеме до 0,5-0,8 мл.

В течение 7 сут. ежедневно проводили стандартное лечение, которое включало: обработку раны антисептическим средством водным 0,5% раствором хлоргексидина биглюконата с последующим введением в раневую полость мази «Левомеколь» и внутримышечное введение антибактериального препарата (гентамицина сульфат в дозе 5 мг/кг/сут.) в конечность, противоположную поврежденной.

В ходе динамического наблюдения за животными проводили визуальную макроскопическую оценку взрывной раны (выраженность воспалительной реакции, сроки появления грануляций и образования рубца). Оценивали микроциркуляцию и метаболизм в мягких тканях паравульнарной области с помощью многофункционального диагностического комплекса «ЛАКК-М» (НПП «Лазма», Россия) через 7, 14 и 28 сут. после нанесения травмы. По окончании наркотизации крыс производили разрез кожи в области раны и обнажали мышцы бедра, на которые устанавливали датчик прибора в 2-3 мм от края раневого дефекта. Продолжительность каждого измерения составляла 10 мин. Глубина зондирования объема биоткани составляла 1,0-1,5 мм [6]. В режиме лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) работы прибора

оценивали: амплитуду M (постоянный показатель перфузии) и σ (переменный показатель перфузии), по которым рассчитывали коэффициент вариации (K_v , %) интенсивности микроциркуляции: $K_v = \sigma/M \times 100\%$. Увеличение или уменьшение величины K_v отражает улучшение или ухудшение состояния микроциркуляции соответственно. В режиме оптической тканевой оксиметрии (ОТО) работы прибора оценивали уровень сатурации кислорода в системе микроциркуляции по величине показателя кислородной сатурации микрокровотока (SO_2 , %), определяли величину удельного потребления кислорода тканями (U , усл. ед.). Для оценки интенсивности окислительно-восстановительных процессов в режиме лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД) работы прибора измеряли амплитуду (A , усл. ед.) спектров флуоресценции коферментов, участвующих в дыхательной цепи: восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) и окисленной формы флавинадениндинуклеотида (ФАД). Далее, полученные значения амплитуды флуоресценции использовали для расчета флуоресцентного показателя потребления кислорода (ФПК, отн. ед.): $ФПК = A_{НАДН}/A_{ФАД}$. Комплексное состояние микроциркуляции и метаболизма тканей оценивали с помощью показателя эффективности кислородного обмена (ЭКО, отн. ед.): $ЭКО = M \times U \times ФПК$. Для статистического анализа применяли пакет программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). В результате анализа данных установлен ненормальный тип распределения значений показателей по итогам проверки гипотезы на нормальность распределения. В дальнейшем, для сравнения данных пользовались непараметрическим U -критерием Манна-Уитни; различие между величинами считали достоверным, если вероятность их тождества оказывалась менее 5% ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования

При макроскопической оценке взрывной раны наиболее значимая положительная динамика ранозаживления отмечалась у крыс после введения ГК через 3 и дополнительно через 24 ч после травмы. По сравнению с другими опытными группами у животных сокращалось время исчезновения признаков воспаления, время появления грануляций и полного заживления ран. Сравнительно равные по значимости динамические изменения были зарегистрированы и у животных после однократного введения ГК через 3 ч после травмы, но появление грануляций было более отсроченным, чем после двукратного введения препарата. Менее выраженные эффекты ранозаживления были зарегистрированы у животных, которым ГК вводили трехкратно с интервалом через 3, 24 и 48 ч после травмы. Результаты паравульнарного однократного применения ГК через 24 и 48 ч после травмы значимо не отличались друг от друга и показали по сравнению с остальными опытными группами более поздние

Таблица 1

Макроскопическая характеристика взрывной раны мягких тканей бедра у крыс после локального введения гиалуроновой кислоты, $M \pm SD$

Группы животных	Средние сроки проявления признаков заживления ран, сут		
	Исчезновение признаков воспаления	Появление грануляций	Полное заживление ран
Опытная группа-I (ГК:3), n=18	6,8±0,4	6,8±0,4	18,5±0,5
Опытная группа-II (ГК:3+24), n=18	6,5±0,5	5,8±0,4 ¹	18,3±0,5
Опытная группа-III (ГК:3+24+48), n=18	8,7±0,5 ^{1,2}	7,8±0,4 ^{1,2}	21,2±0,4 ^{1,2}
Опытная группа-IV (ГК:24), n=18	10,3±0,5 ^{1,2,3}	9,2±0,4 ^{1,2,3}	26,2±0,4 ^{1,2,3}
Опытная группа-V (ГК:48), n=18	10,5±0,5 ^{1,2,3}	9,3±0,5 ^{1,2,3}	26,2±0,4 ^{1,2,3}

1/2/3- достоверность различий ($p \leq 0,05$) соответственно: с группой ГК:3 / ГК:3+24 / ГК:3+24+48.

сроки исчезновения признаков воспаления, появления грануляций и полного заживления ран (табл. 1).

Исследование позволило выявить выраженное уменьшение тканевого кровотока у крыс в тканях области повреждения в посттравматический период. Локальное введение ГК способствовало улучшению перфузии, кислородного статуса микроциркуляции и аэробного метаболизма тканей в зоне повреждения. Сравнительно наиболее выраженная положительная динамика изученных параметров была зарегистрирована в группах животных, которым ГК начинали вводить в раннем периоде эксперимента (3 ч после травмы): ГК:3, КГ:3+24, ГК:3+24+48. Каждая из указанных экспериментальных групп занимала лидирующие позиции в определенный период наблюдения. Так, наибольший перфузионный эффект (по показателю K_v) через 7 сут. после травмы был у животных в группе ГК:3, а в период 14-28 сут. – в группе КГ:3+24 (на 14 сут. наблюдения значение K_v в группе ГК:3+24 достигли уровня нормы). Важно отметить, что показатели перфузии микроциркуляторного русла у животных в этих группах, а также в группе ГК:3+24+48 в течение всего эксперимента имели отрицательную динамику. Кроме того, относительно нормы наибольшее снижение K_v (в 1,6 раза, $p \leq 0,05$) было зарегистрировано у крыс после введения ГК через 48 ч, минимальное (в 1,2 раза, $p \leq 0,05$) – у животных после введения ГК через 3 ч (табл. 2).

Кроме параметров микроциркуляции в объективной диагностике посттравматических изменений поврежденной мышечной ткани имеют значение показатели интенсивности окислительно-восстановительных процессов, отражающие активность аэробного метаболизма тканей. Интенсивность потребления и утилизации кислорода тканями в микроциркуляторном русле (по показателям SO_2 и U) была наибольшей: в период 7-14 сут. – у животных в группе КГ:3+24+48; к исходу

28 сут. – в группе ГК:3+24 (табл. 2). Так как повышение SO_2 на фоне снижения U представляют низкий уровень утилизации кислорода тканями, и наоборот, можно думать о восстановлении метаболической активности в тканях после локального введения ГК при взрывной травме.

Все исследуемые сроки после моделирования ВР у животных в опытных группах наблюдалось существенное изменение соотношения амплитуды флуоресценции НАДН к амплитуде флуоресценции ФАД. Как следствие, ФПК в данных группах на 7 сут. после нанесения раны значимо снижался в 1,3-2,7 раза ($p \leq 0,05$), свидетельствуя о слабой утилизации тканями кислорода и преобладании анаэробного пути метаболизма. Начиная с 14 сут., у животных, которым ГК вводили через 3 ч и дополнительно через 24 ч, ФПК значительно превышал средний показатель в остальных опытных группах и максимально приближался к значению показателя у интактных животных. Итоговым отображением прослеживаемых изменений стала оценка комплексного показателя ЭКО в области экспериментальной ВР. Выявлено выраженное уменьшение в 4,2-9,1 раза ($p \leq 0,05$) данного показателя во всех группах на 7 сут. после травмы, в 2,1-7,5 раза ($p \leq 0,05$) на 28 сут. Наилучшая положительная динамика ЭКО была зафиксирована в группе животных с локальным введением ГК через 3 ч и дополнительно через 24 после травмы, где на 28 сут. его значения были статистически значимо выше, чем в остальных опытных группах, и приближались к уровню у интактных животных. Наиболее отрицательная динамика ЭКО зарегистрирована у животных, которым ГК вводили через 48 ч. Учитывая, что величина ЭКО прямо пропорциональна уровню тканевой перфузии, потреблению кислорода и метаболической активности тканей, представленная динамика данного показателя свидетельствует

Таблица 2

Показатели микроциркуляции в тканях зоны взрывной раны бедра у крыс после локального введения гиалуроновой кислоты, Ме (LQ;UQ)

Показатели	Экспериментальные группы	Сроки после моделирования раны, сут.		
		7	14	28
Kv, %	Интактные животные (n=6)	13,6 (12,8; 14,6)		
	ГК:3 (n=18)	11,2 (10,6; 11,5)1	9,1 (8,4; 9,5)1	10,5 (10,0; 10,8)1
	ГК:3+24 (n=18)	8,8 (8,2; 9,3)1,2	13,6 (12,9; 14,0)2	11,9 (11,4; 12,2)1,2
	ГК:3+24+48 (n=18)	9,5 (8,8; 10,0) 1,2	8,8 (8,3; 9,2)1,2,3	8,0 (7,5; 8,4)1,2,3
	ГК:24 (n=18)	10,6 (10,0; 10,9)1,3	8,7 (8,2; 9,1)1,3	8,1 (7,5; 8,4)1,2,3
	ГК:48 (n=18)	8,7 (8,2; 9,0)1,2,3,5	7,9 (7,3; 8,4)1,2,3	8,2 (7,5; 8,6)1,2,3
SO ₂ , %	Интактные животные (n=6)	31,5 (29,7; 33,6)		
	ГК:3 (n=18)	63,4 (61,0; 66,7)1	61,9 (59,5; 65,1)1	49,6 (47,3; 52,6)1
	ГК:3+24 (n=18)	59,7 (55,9; 62,7)1	61,6 (60,2; 65,8)1	42,5 (40,3; 45,6)1,2
	ГК:3+24+48 (n=18)	54,1 (51,8; 57,2)1,2	54,5 (52,5; 57,6)1,2,3	58,1 (56,0; 61,4)1,2,3
	ГК:24 (n=18)	64,8 (62,4; 67,9)1,4	62,1 (59,7; 65,3)1,4	53,4 (51,2; 56,5)1,3
	ГК:48 (n=18)	71,4 (69,1; 74,5)1,2,3,4,5	57,9 (55,6; 61,1) 1	59,8 (57,5; 63,0)1,2,4
U, усл. ед.	Интактные животные(n=6)	3,10 (2,94;3,41)		
	ГК:3 (n=18)	1,45 (1,34; 1,53)1	1,55 (1,43; 1,64)1	2,00 (1,89; 2,08)1
	ГК:3+24 (n=18)	1,54 (1,43; 1,62)1	1,53 (1,41; 1,60)1	2,28 (2,16; 2,37)1,2
	ГК:3+24+48 (n=18)	1,70 (1,58; 1,79)1,2	1,76 (1,64; 1,85)1,3	1,65 (1,54; 1,75)1,2,3
	ГК:24 (n=18)	1,42 (1,31; 1,50)1,4	1,54 (1,42; 1,63)1,4	1,85 (1,74; 1,95)1,2,3
	ГК:48 (n=18)	1,29 (1,18; 1,39)1,2,3,4	1,66 (1,55; 1,76)1	1,66 (1,53; 1,74)1,2,3

1/2/3/4 – достоверность различий ($p \leq 0,05$), соответственно: с группой интактных животных / ГК:3 / ГК:3+24 / ГК:3+24+48.

Me – медиана.

LQ/UQ – верхний/нижний квартили.

о наличии / отсутствии положительного / отрицательного влияния ГК на метаболические процессы при введении в ранние / поздние сроки после травмы, соответственно (табл. 3).

Обсуждение полученных данных

Анализ полученных результатов позволил установить, что в области взрывной раны на разных этапах посттравматического периода развились выраженные

микроциркуляторные и метаболические нарушения, включая различной степени расстройства капиллярного кровотока, преобладание анаэробного пути метаболизма.

Ответ системы микроциркуляции на местное введение геля ГК выражено проявлялся при анализе состояния кислородного снабжения поврежденных тканей. В течение всего периода наблюдения (28 сут.) у крыс с ВР регистрировалось повышение SO_2 . Данные изменения связаны с аккумуляцией в крови

Таблица 3

Комплексные показатели эффективности микроциркуляции в тканях зоны взрывной раны бедра у крыс после локального введения гиалуроновой кислоты, Ме (LQ;UQ)

Показатели	Экспериментальные группы	Сроки после моделирования раны, сут		
		7	14	28
ФПК, усл.ед.	Интактные животные (n=6)	1,98 (1,85; 2,17)		
	ГК:3 (n=18)	1,52 (1,41; 1,60)1	0,92 (0,80; 1,01)1	1,20 (1,09; 1,28)1
	ГК:3+24 (n=18)	1,24 (1,12; 1,33)1,2	1,35 (1,23; 1,44)1,2	1,34 (1,23; 1,42)1
	ГК:3+24+48 (n=18)	1,04 (0,93; 1,12) 1,2	0,93 (0,83; 1,01)1,3	1,02 (0,91; 1,10)1,3
	ГК:24 (n=18)	1,14 (1,02; 1,21)1,2	0,93 (0,83; 1,03)1,3	1,12 (1,00; 1,20)1,3
	ГК:48 (n=18)	0,74 (0,65; 0,83)1,2,3,4,5	0,81 (0,72; 0,88)1,3	0,72 (0,63; 0,80)1,2,3,4,5
ЭКО, усл.ед.	Интактные животные (n=6)	73,00 (68,8; 77,6)		
	ГК:3 (n=18)	17,41 (16,90; 18,04)1	12,12 (11,63; 12,76)1	24,96 (24,45; 25,61)1
	ГК:3+24 (n=18)	16,41 (15,92; 17,05)1	15,72 (15,21; 16,37)1,2	35,13 (34,65; 35,76)1,2
	ГК:3+24+48 (n=18)	15,74 (15,23; 16,38)1,2	13,26 (12,77; 13,91)1,2,3	15,82 (15,34; 16,46)1,2,3
	ГК:24 (n=18)	12,63 (12,14; 13,26)1,2,3,4	11,74 (11,23; 12,38)1,3,4	20,93 (20,45; 21,56)1,2,3,4
	ГК:48 (n=18)	8,02 (7,54; 8,67)1,2,3,4,5	10,08 (9,60; 10,71)1,2,3,4,5	9,74 (9,23; 10,39)1,2,3,4,5

1/2/3/4/5 – достоверность различий ($p \leq 0,05$), соответственно: с группой интактных животных / ГК:3 / ГК:3+24 / ГК:3+24+48 / ГК:24.

Ме – медиана.

LQ/UQ – верхний/нижний квартили.

неизрасходованного поврежденными тканями кислорода, что свидетельствует о выраженном снижении питания тканей кислородом в условиях нарушенного кровообращения. При этом в ранний период после травмы (7 сут.) SO_2 относительно нормы был выше в 1,7-2,2 раза ($p \leq 0,05$) независимо от режима дозирования ГК. В последующие сроки величина SO_2 сохранялась стабильно высокой, с тенденцией к уменьшению к 28 сут. Наибольшее динамичное снижение показателя SO_2 отмечалось у животных после локального введения ГК через 3 ч и дополнительно 24 ч.

Вместе с этим значимые изменения выявились при оценке показателя U, используемого в качестве критерия общего потребления кислорода на единицу ОЦК. Его снижение указывает на отсутствие активности захвата кислорода биотканью. Так, показатель U снижался в 1,8-2,3 раза ($p \leq 0,05$) во всех опытных группах на 7 сут. после травмы. Минимальное снижение в 1,8 раза ($p \leq 0,05$) в группе животных, которым вводили ГК через 3 и дополнительно через 24 и 48 ч после травмы, максимальное в 2,3 раза ($p \leq 0,05$) в группе животных, которым вводили ГК через

48 ч после травмы. Весь период наблюдения отмечался динамический прирост показателя U. Наибольшее приближение к показателю здоровых животных к исходу эксперимента (28 сут.) регистрировалось у животных после локального введения ГК через 3 ч и дополнительно 24 ч.

В целом, средние значения комплексных параметров (ФПК и ЭКО), отражающих интенсивность аэробного метаболизма в тканях, имели динамику, соответствующую показателям кислородного статуса микроциркуляции, что подтверждало предположение об активации кислородного метаболизма после локального введения ГК. При этом наиболее значимый положительный эффект отмечался в группах с ранним введением ГК (3 ч после травмы). Наиболее значимый эффект через 7 сут. после травмы наставал у крыс в группе ГК:3, в последующем (14-28 сут.) – в группе ГК:3+24. У крыс, которым локально вводили ГК в более поздние сроки (группы ГК:24 и ГК:48), параметры кислородного статуса микроциркуляторного русла и метаболической активности тканей имели маловыраженную положительную динамику на фоне

отрицательной динамики показателя перфузии (K_v) в течение всего эксперимента.

Роль лечебных манипуляций может заключаться как в пластическом замещении тканевого дефекта, так и в активации механизмов регенерации. В любом случае, восстановление тканевого дефекта возможно при наличии механизмов межклеточного взаимодействия. В этой связи участие ГК в раневом процессе при взрывной ране имеет самое непосредственное значение ввиду наличия у данного вещества биологических свойств. В частности, высокая биосовместимость и гидрофильность, участие в обеспечении условий протекания диффузионных процессов, необходимых для клеточного дыхания [7].

Говоря о положительных эффектах ГК при взрывной ране, следует отметить значимость периода раневого процесса, в течение которого она оказывает наибольшее саногенетическое влияние. Нами установлено, что микроциркуляторные и метаболические эффекты препарата проявляются через 3 ч после взрывной травмы. Позднее этого срока инъекции ГК были менее эффективными. Известно, что репарация тканей запускается тотчас после повреждения. Этот генетически детерминированный процесс контролируется через механизмы иммунной и нейрогуморальной регуляции [8]. При отсутствии существенных метаболических изменений в паравульнарных тканях в начальные сроки после повреждения при взрывной травме активируются локальные системы защиты, способствующие сохранению их жизнеспособности. Очевидно, что поддержание локальной нейрогуморальной регуляции и стабильности среды межклеточного взаимодействия создают «комфортные» условия для сохранения метаболического статуса клеток в зоне повреждения и регенерации.

Таким образом, биологические эффекты ГК на межклеточном (создание биохимически стабильной среды межклеточного пространства) и клеточном уровнях (активация рецепторного аппарата мембран, участие в ионном обмене), играющие важную роль в поддержании гомеостаза тканей, обуславливают универсальность действия ГК. С этих позиций становится объяснимой неэффективность введения препарата в относительно поздние сроки после повреждения. Полученные нами данные по эффективности локального введения ГК в раннюю фазу раневого процесса согласуются с результатами исследования Э.Я. Фисталь [9]. Автор на большом клиническом материале (8,5 тыс. пострадавших с травмами мышечной ткани и костей) продемонстрировал существенное улучшение результатов лечения при проведении операции в первой и второй фазах раневого процесса.

Выводы

Снижение перфузии поврежденной мышечной ткани в результате моделирования взрывной раны приводит к снижению потребления ею кислорода, происходит преобладание процессов анаэробного

пути метаболизма в поврежденной мышечной ткани, что приводит к перераспределению биоэнергетических механизмов в клетках. Следствием этого становится изменение соотношения НАДН и ФАД, то есть уменьшается ФПК. Данные изменения влекут за собой выраженное уменьшение показателя ЭКО.

Ранее (через 3 ч после травмы) локальное применение ГК при взрывной ране мягких тканей улучшает перфузионные характеристики микроциркуляции, положительно влияет на трофику и окислительный метаболизм скелетных мышц, сокращает сроки заживления раны.

Наиболее эффективным считается раннее введение ГК локально в паравульнарные ткани, через 3 ч после травмы (по окончании первичной хирургической обработки раны) и дополнительно через 24 ч после травмы.

При взрывной ране мягких тканей внутримышечное введение гиалуриновой кислоты в паравульнарные ткани в первые часы после ранения является саногенетически обоснованным способом коррекции раневого процесса.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – ШИА, ШНВ.

Сбор и обработка материала – ШАВ, СРВ, БМВ.

Статистическая обработка – СРВ, ШАВ.

Написание текста – СРВ, ШНВ.

Редактирование текста – ШИА.

Литература / References

1. Тулупов А.Н., Кажанов И.В., Мануковский В.А., Никитин А.В. Особенности лечения пострадавших в террористическом акте в Санкт-Петербурге метрополитене (03.04.2017 г.) с тяжелыми минно-взрывными повреждениями. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2018;4:47-58. doi: 10.25016/2541-7487-2018-0-4-47-58 [Tulupov AN, Kazhanov IV, Manukovskiy VA, Nikitin AV. Features of treatment of victims of the terrorist attack in St. Petersburg metro (03.4.2017) with severe explosive injuries. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2018;4:47-58. doi: 10.25016/2541-7487-2018-0-4-47-58 (In Russ).]
2. Куницкий Ю.Л., Гринцов А.Г., Харьковский В.А., Белоцерцев О.А., Виноградов Ю.Н., Христуленко А.А., Антоноук С.М., Ахrameев В.Б., Андриенко И.Б., Луценко Ю.Г., Гринцов Г.А., Пилюгин Г.Г., Матийцыв А.Б., Кирьякулова Т.Г. Особенности боевой травмы во время локального вооруженного конфликта в Донбассе. *Вестник неотложной и восстановительной хирургии*. 2019;4(3):47-50 [Kunitskiy YuL, Grintsov AG, Khar'kovskiy VA, Belozertsev OA, Vinogradov YuN, Khristulenko AA, Antonyuk SM, Akhrameyev VB, Andriyenko IB, Lutsenko YuG, Grintsov GA, Pilyugin GG, Matiyeciv AB, Kiryakulova TG. *Features of battle trauma during the local armed conflict in Donbas*. *Bulletin of emergency and Reconstructive surgery*. 2019;4(3):47-50 (In Russ).]
3. Roth P, Duda G, Radojewski P, Preininger B, Perka C, Winkler T. Mesenchymal Stem Cell Therapy Following Muscle Trauma Leads to Improved Muscular Regeneration in Both Male and

- Female Rats. *Genet Med.* 2012;9(2):129-36. doi: 10.1016/j.genm.2012.01.007
4. Шперлинг И.А., Шулёпов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Кузьмина О.Ю., Арутюнян А.А., Заргарова Н.И. Саногенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2020;10(2):53-60. doi: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60 [Shperling IA, Shulepov AV, Shperling NV, Yurkevich YuV, Kuzmina OYu, Arutyunyan AA, Zargarova NI. Sanogenetic and pharmacological effects of local application of hyaluronic acid in experimental soft tissue compression trauma. *Crimian Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2020;10(2):53-60. doi: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60 (In Russ).]
 5. Шперлинг И.А., Шулёпов А.В., Шперлинг Н.В., Щипанов С.Г., Виноградов М.В., Семакин Р.В., Коуров А.С., Баженов М.В., Ростовцев С.О. Способ моделирования взрывной травмы мягких тканей конечности. Патент № 2741238, Российская Федерация, МПК G09B 23/28. опубл. 22.01.2021, Бюл. № 3 [Shperling IA, Shulepov AV, Shperling NV, Shchipanov SG, Vinogradov MV, Semakin RV, Kourov AS, Bazhenov MV, Rostovtsev SO. Method of modeling explosive trauma of soft tissues of the limb. Patent No. 2741238, Russian Federation, IPC G09B 23/28. publ. 22.01.2021, Byul. No. 3 (In Russ).]
 6. Козлов В.И., Азизов Г.А., Гурова О.А. *Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови.* Методическое пособие для врачей. М.: РУДН ГИЦ лазер. мед., 2012. [Kozlov VI, Azizov GA, Gurova OA. *Laser Doppler flowmetry in the assessment of the state and disorders of blood microcirculation.* Methodological guide for doctors. Moscow: RUDN SSC laser. med., 2012 (In Russ).]
 7. Сигаева Н.Н., Колесов С.В., Назаров П.В., Вильданова Р.Р. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине. *Вестник Башкирского университета.* 2012;17(3):1220-41 [Sigaeva NN, Kolesov SV, Nazarov PV, Vildanova RR. Chemical modification of hyaluronic acid and its application in medicine. *Bulletin of the Bashkir University.* 2012;17(3):1220-41 (In Russ).]
 8. Цыбуляк Г.Н. *Общая хирургия поврежденных.* СПб.: Гиппократ, 2005. [Tsybulyak GN. *General surgery of injuries.* St. Petersburg: Hippocrates, 2005 (In Russ).]
 9. Фисталь Э.Я. Раневой процесс и результаты раннего хирургического лечения обширных ран – взгляд на проблему. *Вестник неотложной и восстановительной хирургии.* 2016; 1(2) : 157-63 [Fistal EYa. The wound process and the results of early surgical treatment of extensive wounds a look at the problem. *Bulletin of emergency and Reconstructive surgery.* 2016;2(1):157-63 (In Russ).]

УДК 616.5-001.45-08

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-98-100

Случай комплексного лечения глубоких ожогов ягодиц, промежности, половых органов, полученных взрывом от петарды

А.А. Козка, О.С. Олифирова

Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия

Описан случай редко встречающейся локализации поражения кожного покрова пламенем петарды. Ожоги II–III степени S 18 % п. т. с поражением спины, ягодиц, промежности, половых органов получены в результате противоправных действий над пациентом. Состояние пациента при поступлении тяжелое, обусловленное площадью и степенью поражения. В сознании, но в наркотическом опьянении. Раны в области промежности, половых органов, ягодиц, бедер, спины представлены сухой белой дермой с обугливанием, а на ягодицах – местами с выворотом подкожной клетчатки. В области влагалища наблюдались отек и рваные раны слизистой половых губ, на входе в анус – гематома, повреждение прямой кишки и внутренних половых органов не выявлено. Установлен мочевого катетер, моча светлая. В анализах крови: лейкоцитоз, гипопротейнемия, гипербилирубинемия. Комплексное лечение включало противошоковую, антикоагулянтную (гепарин), антибактериальную, обезболивающую, трансфузионную терапию (СЗП 4750 мл, альбумин 10% 800 мл, эритроцитарная масса 633 мл), нутритивную поддержку (Изосурс). В лечении применяли флюидизирующую кровать «Редатрон» в пульс-режиме. Регулярно проводились перевязки с антисептиками и мазями, выполнялись этапные некрэктомии. После подготовки гранулирующих ран произведено три этапа аутодермопластики вышеуказанных областей на 30-е, 37-е, 51-е сутки после травмы. Послеоперационный период протекал без особенностей. Продолжалась консервативная терапия, физиолечение, лечебная физкультура. Показатели крови нормализовались. На фоне комплексного лечения кожный покров восстановлен у пациента полностью, сохранились функции половых органов и анального канала.

Ключевые слова: пиротехника, ожоги, некрэктомия, аутодермопластика

Поступила в редакцию 27.04.2021. Получена после доработки 17.05.2021. Принята к печати 12.11.2021.

Для цитирования: Козка А.А., Олифирова О.С. Случай комплексного лечения глубоких ожогов ягодиц, промежности, половых органов, полученных взрывом от петарды. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022;1:98–100. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-98-100

Для корреспонденции: Козка Александра Александровна – канд. мед. наук, ассистент кафедры хирургических болезней ФПДО АГМА (675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95); ORCID: 0000-0002-2908-0126; e-mail: kozka.a.89@mail.ru

A case of complex treatment of deep burns of the buttocks, perineum, genitals, received by an explosion from a firecracker

А.А. Kozka, O.S. Olifirova

Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk, Russia

Summary: A case of a rare localization of skin lesions by a firecracker flame is described. Burns of II – III degree S 18% of p.t. with lesions of the back, buttocks, perineum, genitals were obtained as a result of illegal actions on the patient. The patient's condition at admission is severe, due to the area and degree of the lesion. Conscious, but intoxicated. Wounds in the perineum, genitals, buttocks, thighs, back are represented by dry white dermis with charring, and on the buttocks – in places with eversion of the subcutaneous tissue. In the area of the vagina, edema and lacerations of the mucous membrane of the labia were observed, at the entrance to the anus there was a hematoma; damage to the rectum and internal genital organs was not revealed. Installed a urinary catheter, the urine is light. In blood tests: leukocytosis, hypoproteinemia, hyperbilirubinemia. Complex treatment included anti-shock, anticoagulant (heparin), antibacterial, analgesic, transfusion therapy (FFP 4750 ml, albumin 10% 800 ml, erythrocyte mass 633 ml), nutritional support (Isosurs). The treatment used a fluidizing bed "Reditron" in the pulse-mode. Bandaging with antiseptics and ointments was regularly performed, staged necrectomies were performed. After preparation of granulating wounds, three stages of autodermoplasty of the above areas were performed on the 30th, 37th, 51st days after the injury. The postoperative period was uneventful. Conservative therapy, physiotherapy, exercise therapy continued. Blood counts returned to normal. Against the background of complex treatment, the patient's skin was completely restored, the functions of the genitals and the anal canal remained.

Keywords: pyrotechnics, burns, necrectomy, autodermoplasty

Received 27 April 2021; Revised 17 May 2021; Accepted 12 November 2021

For citation: Kozka A.A., Olifirova O.S. A case of complex treatment of deep burns of the buttocks, perineum, genitals, received by an explosion from a firecracker. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:98–100. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-98-100

Corresponding author: Aleksandra A. Kozka, MD, PhD, Assistant of the Department of Surgical Diseases, FPDO AGMA (95 Gorky St., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-2908-0126; e-mail: kozka.a.89@mail.ru

Сегодня фейерверки стали незаменимым атрибутом празднования практически во всех странах мира.

Существует пять классов опасности пиротехнической продукции [1]: I–III классы – это пиротехнические

изделия бытового назначения, такие как хлопушки, бенгальские огни, петарды, большинство фонтанов, наземные фейерверки, салютные батареи, ракеты и фестивальные шары. Радиус опасной зоны – от 5 до 20 метров. IV и V классы – профессиональная пиротехника, продавать которую могут только магазины, имеющие соответствующую лицензию. Радиус зоны поражения – более 20 метров.

Опасность пиротехники заключается в горящих элементах, движущихся частях изделия, составе пиротехники, громком звуке. Самыми распространенными повреждениями чаще всего являются ожоги кистей и лица, травмы глаз, а также взрывная травма с переломами, вывихами, ампутациями, контузией, сочетанная травма.

Когда пиротехника используется неправильно и не соблюдаются инструкции по технике безопасности, риск травмы огромен [2]. Ежегодно в центры экстренной помощи по всей стране поступают десятки людей, получивших ранения различной степени тяжести. За 7 лет в России от пиротехники пострадали около 3 тысяч человек, а 11 погибли. Из-за некачественной продукции и несоблюдения требований инструкции серьезно пострадали более 700 детей [3]. Наибольшее количество пострадавших от применения пиротехники зарегистрировано в Москве и Санкт-Петербурге, Краснодарском крае, Омской и Тюменской областях [3].

Ожоги – наиболее распространенная травма при неправильном обращении с пиротехническими устройствами. Для примера рассмотрим клинический случай.

Пациентка А., 25 лет поступила в ожоговое отделение Амурской областной клинической больницы г. Благовещенска через 20 часов с момента получения термической травмы с жалобами на наличие ран в области промежности, половых органов, ягодиц, бедер, спины, умеренные боли в них.

Из анамнеза выяснено, что над пациенткой было совершено противоправное действие. В анальный канал женщине поместили петарду и зажгли её. В результате пациентка получила ожоги промежности, половых органов, ягодиц, бедер, спины. При поступлении она была в сознании, но в наркотическом опьянении.

Состояние при поступлении: тяжелое, обусловленное площадью и степенью поражения.

Неповрежденный кожный покров, видимые слизистые обычной окраски, чистые. Температура тела 36,7°C. В легких патологии не выявлено. Тоны сердца приглушены, ритмичные, пульс 88 ударов в минуту, артериальное давление 130/90 мм рт. ст. Живот мягкий, безболезненный во всех отделах. Физиологические отправления в норме. Моча выведена катетером в количестве 300 мл светло-желтого цвета.

В области промежности, половых органов, ягодиц, задней поверхности бедер, пояснице имелись раны, представленные сухой белой дермой с обугливанием, а на ягодицах – местами с выворотом подкожной клетчатки. На передней поверхности бедер были раны с множественными пузырями со светлым содержимым. В области влагалища наблюдались отек и рваные раны слизистой половых губ. На входе в анус имелась гематома, при пальцевом исследовании прямой кишки повреждений не



Рис. 1. Ожоги промежности и половых органов II-III степени.

обнаружено. Чувствительность пораженных участков снижена. Общая площадь ран составляла 18% поверхности тела (п.т.) (рис.1).

В клиническом анализе крови наблюдался лейкоцитоз со сдвигом влево ($Le-17,0 \times 10^9/l$, п/я -3%, с/я-79%, м-5%, л-10%, э-2%, б-1%). В сыворотке крови отмечены умеренная гипопroteinемия (общий белок-59,1г/л) и гипербилирубинемия (30,1-9,8-20,3 ммоль/л). Показатели коагулограммы были в пределах нормы. ЭКГ: синусовый ритм с ЧСС 75 в минуту; обменные изменения в миокарде.

Рентгенологическое исследование органов грудной клетки: патологии нет.

При компьютерной томографии (КТ) головного мозга патологии не выявлено. КТ органов брюшной полости: травматических повреждений органов брюшной полости и свободного газа не выявлено.

Ультразвуковое исследование почек: повышена эхогенность паренхимы, уплотнение почечного синуса обеих почек.

Экспресс-тест на наркотические средства: положительный тест на каннабис.

Осмотрена гинекологом: повреждения внутренних половых органов не выявлены. Консультирована проктологом: прямая кишка не повреждена.

Диагностирован термический ожог (пламенем) спины, ягодиц, бедер, промежности, половых органов II-III степени S 18 % площади тела. Ожоговый шок I степени. Наркотическое опьянение.

В лечении пациентка получала противошоковую, дезинтоксикационную, антикоагулянтную (гепарин 5000 ЕД 6 раз в сутки), антибактериальную (согласно чувствительности к микрофлоре), обезболивающую, трансфузионную терапию (свежезамороженная плазма (4750мл), альбумин 10%-100 мл № 8, эритроцитарная масса (633мл)), нутритивную поддержку (Изосурс). Был установлен уретральный катетер. Регулярно делались перевязки с растворами-антисептиками и мазями-репаратантами, раневыми покрытиями (Воскопран, Бранолинд Н, Парапран). Пациентке выполнялись хирургические операции в виде этапных некрэктомий.

Лечение проходило с использованием флюидизирующей кровати «Редактрон» в пульсирующем режиме. Неоднократно осуществлялись консультации фармаколога и психиатра для коррекции лечения.

После подготовки гранулирующих ран спины, ягодиц, половых органов, промежности, бедер в три этапа были сделаны операции аутодермопластики расщепленным кожным трансплантатом на 30-е, 37-е, 51-е сутки после травмы (рис. 2).

Послеоперационный период протекал без особенностей. Продолжалась консервативная терапия, физиолечение,



Рис. 2. Состояние кожного покрова при выполнении трех этапов аутодермопластики расщепленным кожным трансплантатом. Состояние на 51 сутки после травмы.

лечебная физкультура. Кожный покров восстановлен полностью за счет самостоятельной эпителизации по передней поверхности бедер и аутопластики вышеуказанных областей. Донорские раны зажили самостоятельной эпителизацией.

При выписке оставались небольшие дермальные раны в области ануса и межъягодичной складки. Донорские раны на голенях и спине зажили самостоятельной эпителизацией.

Показатели крови нормализовались. Уретральный катетер удален на 60-е сутки, мочеиспускание восстановилось.

Пациентка была выписана на 72-е сутки с момента травмы в удовлетворительном состоянии под наблюдение хирурга по месту жительства. При контрольном осмотре спустя три месяца с момента выписки целостность кожного покрова полностью восстановлена (рис. 3).



Рис. 3. Послеожоговые рубцы спустя три месяца после выписки.

Во врачебной практике впервые встретились с ожогами от пиротехнических средств столь редкой локализации по площади и глубине поражения. Данный клинический случай показал, что ожоги пиротехникой вызывают глубокие повреждения кожи. Особенность лечения этой травмы заключалась в комплексном подходе с применением этапных некрэтомий и аутодермопластик. Такая лечебная тактика позволила полностью восстановить кожный покров пациентки, сохранив функции половых органов и анального канала.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Список литературы:

1. Кромф К. Травма от фейерверков. 2018. URL: <https://medach.pro/post/1824> (дата обращения: 12.03.21). [Kromf K. *Travma ot feyerverkov* (In Russ).] URL: <https://medach.pro/post/1824> (Accessed March 12, 2021).
2. Мельников В.Э. Современная пиротехника. М.: Наука, 2014, 480 с. [Melnikov V.Ye. *Sovremennaya pirotekhnika*. М.: Nauka, 2014, 480 p. (In Russ).]
3. Статистика случаев при неправильном использовании пиротехники. URL: https://sch902.mskobr.ru/files/statistika_neschastnyh_sluchaev_pri_ispol_zovanii_pirotehniki.pdf (дата обращения 12.03.21). [Statistika sluchaev pri nepravilnom ispolzovanii pirotekhniki (In Russ.).] URL: https://sch902.mskobr.ru/files/statistika_neschastnyh_sluchaev_pri_ispol_zovanii_pirotehniki.pdf (Accessed March 12, 2021).