

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-289-303

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Прогностическое значение аутоантител к белкам кардиомиоцитов в диагностике хронического физического перенапряжения

Э.Д. Лёвочкина¹ , Н.Г. Беляев¹ , В.А. Батулин² , И.В. Ржепаковский¹ ,
Т.В. Абасова^{2,3} , К.М. Смышнов¹ , С.И. Писков¹  

¹Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

²Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

³Городская клиническая поликлиника № 1, г. Ставрополь, Российская Федерация

 piskovsi77@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* В условиях постоянно растущего объема тренировочных нагрузок растет частота случаев хронического физического перенапряжения (ХФП) среди спортсменов. Это определяет важность ранней диагностики формируемой патологии сердечно-сосудистой системы с целью предупреждения дальнейшего ее развития. *Цель исследования* — изучить на экспериментальной модели ХФП динамику аутоантител к белкам кардиомиоцитов и определить перспективность лабораторного метода по определению аутоантител для раннего диагностирования патоморфологических изменений в сердце. *Материалы и методы.* Исследование проводилось на самцах белых крыс. Для моделирования ХФП использовался тредмил. У животных измерялась частота сердечных сокращений, регистрировались электрические явления в сердце. В крови определялось содержание гемоглобина, эритроцитов. Измерялся уровень кардиоспецифических аутоантител (ауто-АТ) к тропонину I, к альфа-актину 1, к тяжелой цепи бетамиозина 7В. Проводились измерение массы сердца и гистоморфологическая оценка состояния кардиомиоцитов. *Результаты и обсуждение.* При моделировании ХФП регистрировалось падение массы тела животных, развитие анемии, гипертрофия сердца. Снижение массы тела более чем на 30 % регистрировалось с 25 по 35 дни моделируемого ХФП. Уменьшение количества эритроцитов в крови отмечалось на 25 день с пиком падения на 30—35 дни. Масса сердца животных в динамике 0—15—35 дней составляла 0,39±0,003; 0,41±0,001; 0,44±0,005 г/100 г. соответственно. На 25 день у 2 % животных регистрировалась синусовая тахикардия. На 30 и 35 дни у 10 % исследованных крыс фиксировалось нарушение процессов реполяризации левого желудочка по типу субэпикардиальной ишемии. На 25-й день визуализировался фиброз периваскулярной области, переходящий в интерстициальное поле между миофибрилл. Обнаруживались сетчатые структуры соединительнотканых волокон между кардиомиоцитами. Период 30—35 дней характеризовался еще большей выраженностью патоморфологических изменений: гипертрофия миокарда, умеренные миокардиодистрофия, интерстициальный и периваскулярный фиброз. Рост количества определяемых ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов отмечался на 10 день эксперимента. Многократное увеличение аутоантител к белкам кардиомиоцитов регистрировалось раньше, чем выявлялись функциональные наруше-

© Лёвочкина Э.Д., Беляев Н.Г., Батулин В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В. Смышнов К.М., Писков С.И., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

ния в сердце и морфологические изменения кардиомиоцитов. *Заключение.* Лабораторный метод определения ауто-АТ к белкам миокарда может выступать наиболее ранним из комплекса методов диагностики формируемых нарушений в организме в условиях адаптации к интенсивным и продолжительным физическим нагрузкам.

Ключевые слова: тренировка, хроническое физическое перенапряжение, сердце, аутоантитела, белки кардиомиоцитов

Информация о финансировании. Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (№ 14876 ГУ/2019 от 17.12. 2019).

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования — Беляев Н.Г., Лёвочкина Э.Д., Батуринов В.А.; сбор и обработка материалов — Лёвочкина Э.Д., Ржепаковский И.В., Писков С.И., Абасова Т.В.; анализ полученных данных, написание текста — все авторы; подготовка и редактирование рукописи: Беляев Н.Г., Смышнов К.И. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочитали и согласились с представленной версией рукописи.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Эксперименты выполнены в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), а также Хельсинской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция 2000 г.). Проводимые исследования одобрены комиссией по биоэтике Северо-Кавказского федерального университета (протокол № 002).

Благодарности. Участники исследования выражают благодарность персоналу, осуществлявшему уход за животными.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 21.07.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Лёвочкина Э.Д., Беляев Н.Г., Батуринов В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В. Смышнов К.И., Писков С.И. Прогностическое значение аутоантител к белкам кардиомиоцитов в диагностике хронического физического перенапряжения // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 289—303. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-289-303

Prognostic value of autoantibodies to cardiomyocyte proteins in the diagnosis of chronic physical overexertion

Elvira D. Levochkina¹ , Nikolay G. Belyaev¹ , Vladimir A. Baturin² ,
Igor V. Rzhepakovsky¹ , Tatyana V. Abasova^{2,3} , Konstantin M. Smyshnov¹ , Sergey I. Piskov¹  

¹ North Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

² Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

³ City Clinical Polyclinic No.1, Stavropol, Russian Federation

✉ piskovsi77@mail.ru

Abstract. Relevance. In conditions of ever-increasing volume of training loads, the frequency of cases of chronic physical overstrain (CPO) among athletes is increasing. It determines the importance of early diagnosis of the formed pathology of the cardiovascular system in order to prevent its further development. *The aim of the study* was to study the dynamics of autoantibodies to cardiomyocyte proteins using an experimental model of CPO and to determine the prospects of a laboratory

method for the determination of autoantibodies for early diagnosis of pathomorphological changes in the heart. *Materials and Methods*. The study was conducted on male white rats. A treadmill was used to model CPO. In animals, the heart rate was measured, electrical phenomena in the heart were recorded. The content of hemoglobin and erythrocytes was determined in the blood. The level of cardiospecific autoantibodies (auto-AB) to troponin I, to alpha-actin 1, and to the heavy chain of beta-myosin 7B was measured. Heart mass was measured and histomorphological assessment of the state of cardiomyocytes was carried out. *Results and Discussion*. While modeling CPO, a decrease in body weight of the animals, the development of anemia, and cardiac hypertrophy were recorded. A decrease in body weight by more than 30 % was recorded from days 25 to 35 of the modeled CPO. A decrease in the number of erythrocytes in the blood was noted on day 25 with a peak fall on days 30—35. The mass of heart of animals in the dynamics of 0—15—35 days was 0.39 ± 0.003 ; 0.41 ± 0.001 ; 0.44 ± 0.005 g/100 g, respectively. On day 25, sinus tachycardia was recorded in 2 % of the animals. On days 30 and 35, in 10 % of the studied rats, a violation of the processes of repolarization of the left ventricle by the type of subepicardial ischemia was recorded. On the 25th day, fibrosis of the perivascular region was visualized, passing into the interstitial field between the myofibrils. Reticulate structures of connective tissue fibers between cardiomyocytes were found. The period of 30—35 days was characterized by even greater severity of pathomorphological changes: myocardial hypertrophy, moderate myocardial dystrophy, interstitial and perivascular fibrosis. An increase in the number of detectable auto-ABs to cardiomyocyte proteins was noted on the 10th day of the experiment. A multiple increase in autoantibodies to cardiomyocyte proteins was recorded earlier than functional disorders in the heart and morphological changes in cardiomyocytes were detected. *Conclusion*. The laboratory method for determining auto-ABs to myocardial proteins can be the earliest of the complex methods for diagnosing disorders that are formed in the body in conditions of adaptation to intense and prolonged physical exertion.

Key words: training, chronic physical overstrain, heart, autoantibodies, cardiomyocyte proteins

Funding. The work was supported financially by the Foundation for the Promotion of the Development of Small Forms of Enterprises in the Scientific and Technical Sphere (No. 14876 GU/2019 dated December 17, 2019).

Author contributions. The concept and design of the study—Belyaev N.G., Levochkina E.D., Baturin V.A.; collection and processing of materials—Rzhepakovsky I.V., Levochkina E.D., Piskov S.I., Abasova T.V.; analysis of the data obtained, writing the text—all authors; preparation and editing of the manuscript—Belyaev N.G., Smyshnov K.I. All authors have made significant contributions to the development concepts, research and manuscript preparation, read and agreed with the submitted version of the manuscript.

Conflicts of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. The experiments were performed in accordance with the Geneva Convention «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990). The Declaration of Helsinki on the Humane Treatment of Animals of the World Medical Association (2000 edition) has been observed. The ongoing research was approved by the Commission on Bioethics of the North Caucasus Federal University (protocol No. 002).

Acknowledgements. Participants in the study express their gratitude to the staff cared for the animals.

Consent for publication—not applicable.

Received 21.07.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Levochkina ED, Belyaev NG, Baturin VA, Rzhepakovsky IV, Abasova TV, Smyshnov KM, Piskov SI. Prognostic value of autoantibodies to cardiomyocyte proteins in the diagnosis of chronic physical overexertion. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):289—303. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-289-303

Введение

Систематические и правильно организованные тренировочные нагрузки динамического характера сопровождаются рядом положительных адаптивных изменений в сердечно-сосудистой системе, обеспечивающих удовлетворение возросших потребностей организма в кислороде. Но формирование «спортивного сердца» с рациональными морфологическими и функциональными адаптивными возможностями происходит постепенно. В то же время современный профессиональный спорт как особый вид социальной деятельности, сопряженной с колоссальными физическими и эмоциональными нагрузками, часто несоответствующими функциональным возможностям организма атлета, может сопровождаться состоянием перетренированности и хронического физического перенапряжения (ХФП) сердечно-сосудистой системы. Патология сердца спортсмена некоранарогенного и невоспалительного генеза, обусловленная чрезмерными физическими и эмоциональными нагрузками, обозначается как стрессорная кардиомиопатия или перенапряжение сердца [1, 2].

Частота патологий со стороны сердечно-сосудистой системы в зависимости от вида спорта, возраста и пола, по мнению ряда авторов, может составлять от 7—17 % до 30 % [3—5]. Нарушения могут быть настолько серьезными, что являются причиной риска остановки сердца и внезапной сердечной смерти спортсмена [6—11].

Сегодня под внезапной сердечной смертью в спорте понимают смерть, наступившую непосредственно во время нагрузок, а также в течении 24-х часов с момента появления первых симптомов, заставивших изменить или прекратить спортивную деятельность. В настоящее время существующие данные позволяют считать, что перенапряжение сердца у спортсменов во время физических нагрузок является одним из основных предшественников дальнейшего формирования патологии миокарда в виде гипертрофической и дилатационной кардиомиопатий, которые и рассматриваются как ведущие причины внезапной сердечной смерти [12—14].

В спорте высоких достижений, с его колоссальными физическими и психоэмоциональными нагрузками разработка методов ранней диагностики перенапряжения сердца и своевременное предупреждение дальнейших патологических изменений остается важнейшей социальной и медицинской проблемой. К сожалению, несмотря на огромное количество работ, проводимых в данном направлении, частота случаев патологии сердца в связи с физическими нагрузками имеет тенденцию к постоянному росту. До 70 % спортсменов высокого класса, профессиональная деятельность которых связана с развитием общей выносливости, хотя бы раз в процессе своей спортивной карьеры испытывали состояние ХФП.

В то же время диагностика ХФП на самых ранних этапах представляет собой сложную задачу в связи с многообразием клинических проявлений, лабораторных и инструментальных показателей. К тому же лабораторные маркеры на сегодняшний день малоинформативны. А изменения на ЭКГ могут отсутствовать вследствие диффузного или очагового характера дистрофии миокарда. Все это не позволяет выявить стрессорную кардиомиопатию на донологическом этапе. Ключом к решению проблемы могут стать новые методы ранней диагностики стрессорной кардиомиопатии, которые позволят своевременно выявлять патологию миокарда, когда еще отсутствуют изменения на ЭКГ и сохранена физическая работоспособность.

Одним из перспективных и практически неизученных направлений в этой области выступает определение высокоспецифичных и высокочувствительных биомаркеров — аутоантител (ауто-АТ) к белкам кардиомиоцитов [15, 16]. Установление количественных показателей присутствия ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов в крови, соответствующих разным степеням развития патологии сердца, может иметь диагностическое и диагностико-дифференциальное значение. Анализ динамики количественного изменения ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов в процессе тренировочных занятий может позволить объективно оценить характер адаптивных реакций и своевременно регламентировать объем

тренировочных нагрузок. Актуальность проведения подобных исследований и определила **цель работы** — изучить на экспериментальной модели ХФП динамику аутоантител к белкам кардиомиоцитов и определить перспективность лабораторного метода по определению аутоантител для раннего диагностирования патоморфологических изменений в сердце.

Материалы и методы

В экспериментальной модели использовались половозрелые самцы крыс линии Вистар. У животных моделировалось состояние ХФП. Учитывая, что перетренированность и ХФП, как правило, удел высокотренированных атлетов, до начала моделирования состояния ХФП животных предварительно тренировали. Тренировка крыс заключалась в выполнении мышечных нагрузок циклического характера в течение 9-ти недель [17]. Для моделирования мышечных нагрузок использовался тредмил. Состояния ХФП формировалось по разработанной нами схеме [18]. Начальная продолжительность нагрузки для предварительно тренированных животных составляла 40 минут при скорости движения ленты 20 м/мин. В последующем каждый день продолжительность нагрузки увеличивалась на 10 минут, а скорость движения ленты на 1 м/мин. И так до тех пор, пока животные были в состоянии выполнять заданный объем нагрузок. В последующие дни животные выполняли бег по ленте до появления явных признаков утомления (бег до отказа).

В процессе постановки эксперимента соблюдались основные принципы в сфере биоэтики [19]. Все эксперименты выполнялись в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), а также Хельсинской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция 2000 г.). Проводимые исследования одобрены комиссией по биоэтике Северо-Кавказского федерального университета (протокол № 002). В эксперимент брались животные с предварительно выработанным рефлексом выполнения моделируемой мышечной нагрузки

и с приблизительно одинаковым уровнем физической работоспособности.

Показателем тренированности животных и последующего моделируемого ХФП служили данные общей физической работоспособности, гематологические показатели, а также результаты гистологического исследования кардиомиоцитов, динамика ауто-АТ к кардиоспецифическим белкам актину миозину и тропонину.

В процессе постановки эксперимента осуществлялось взвешивание животных, определение массы сердца с использованием прецизионных весов ML203E (MettlerToledo, Китай) с точностью до 1 мг. Кардиоспецифические ауто-АТ определялись количественно, методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью высокочувствительного и высокоспецифичного набора фирмы Cloud-CloneCorp (США): к тропонину I (Anti-cTnI), к альфа-актину 1 (Anti-АСТС 1), к тяжелой цепи бета-миозина 7В (Anti-МУН7В). Использовался фотометр микропланшетного формата Multiskan FC (ThermoScientific, США) с функцией автоматической калибровки, термостатируемый шейкер ST-3L (Elmi, Латвия), автоматический микропланшетный промыватель (ThermoScientific, США).

Определение уровня гемоглобина и количества эритроцитов осуществлялось с использованием ветеринарного гематологического анализатора Medonik M16 (BouleMedical AB, Швеция), с использованием специализированных наборов фирмы Boule (Швеция), в лаборатории «Центра клинической фармакологии и фармакотерапии» (г. Ставрополь).

При регистрации ЭКГ и ЧСС использовалась система оценки кардиореспираторной системы мелких лабораторных животных КОКС-1 (Изготовитель Государственный научно-исследовательский институт военной медицины министерства обороны Российской Федерации).

Для проведения гистологических исследований кардиомиоцитов образцы тканей сердца фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина на протяжении 72 часов с последующим промыванием водопроводной водой в течение 24 часов, обезвоживанием в изопропиловом спирте и заклю-

чением в медицинский парафин Histomix (Biovitrum, Россия). Гистологические срезы толщиной 5—6 мкм производились на ротационном микротоме НМ 325 (Термо, Германия). Готовые срезы окрашивались гематоксилином и эозином, трихромом по Массону. Оценка микропрепаратов проводилась с использованием лабораторного микроскопа Axio Imager 2 (A2) оснащенного системой визуализации изображений Axio Cam MRC5 и программным обеспечением Zen Pro (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Germany).

Полученные данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики с использованием статистического пакета Biostat (version 4.03). Для оценки статистической значимости различий применяли t-критерий Стьюдента. Полученные результаты фиксировали в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего арифметического ($M \pm m$). О достоверности различий величин исследуемых показателей судили при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Моделирование хронического физического перенапряжения осуществлялось у предварительно тренированных животных путем ежедневного увеличения объема и интенсивности выполнения физических нагрузок. Критерием формирующегося

патологического состояния являлось падение работоспособности животных, снижение массы тела, возникновение анемии.

При моделировании ХФП животные способны были выполнять постоянно возрастающую по объему и интенсивности нагрузку в течение первых 20 дней. К концу указанного срока максимальная продолжительность бега животных по ленте тредмила составила $215 \pm 6,4$ мин при скорости движения ленты 40 м/мин и угле наклона 10° (Табл. 1).

На 25 день эксперимента продолжительность бега соответствовала $200,6 \pm 8,4$ м/мин. В последующие дни отмечено прогрессирующее падение работоспособности животных. Так, к 30-му дню эксперимента максимальная продолжительность бега животных составила $96,6 \pm 6,2$ мин, к 35-му дню — $60,1 \pm 2,9$ мин. Таким образом, пик работоспособности животных приходится на 20 и 25 дни эксперимента. Можно полагать, что на данном этапе экспериментальной модели животные находились в состоянии «спортивной формы».

Динамика массы тела животных на данном этапе эксперимента характеризовалась слабо выраженной цикличностью: снижением — первые 5 дней моделируемого ХФП, с последующим повышением к 10 дню и очередным снижением к 15 дню наблюдений (Рис. 1).

Таблица 1

Динамика работоспособности животных в процессе моделирования хронического физического перенапряжения

Дни наблюдений	Параметры бега		
	Продолжительность, мин	Скорость движение ленты, м/мин	Угол наклона ленты
1	40,0	20	10
5	80,0	25	15
10	130,0	30	20
15	180,0	35	25
20	$215 \pm 6,4$	40	25
25	$200,6 \pm 8,4$	30	20
30	$96,6 \pm 6,2$	30	15
35	$60,1 \pm 2,9$	25	10

Table 1

Dynamics of animal performance in the process of modeling chronic physical overstrain

Observation days	Параметры бега		
	Duration, min	Belt speed, m/min	Tape Angle
1	40.0	20	10
5	80.0	25	15
10	130.0	30	20
15	180.0	35	25
20	215±6.4	40	25
25	200.6±8.4	30	20
30	96.6±6.2	30	15
35	60.1±2.9	25	10

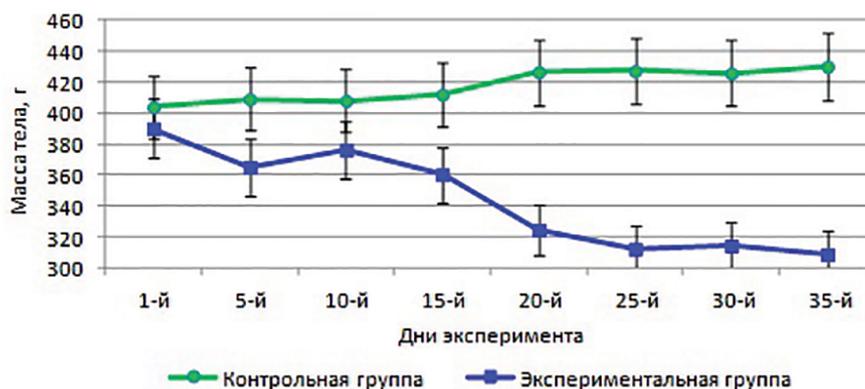


Рис. 1. Динамика массы тела животных (г) в процессе моделирования хронического физического перенапряжения

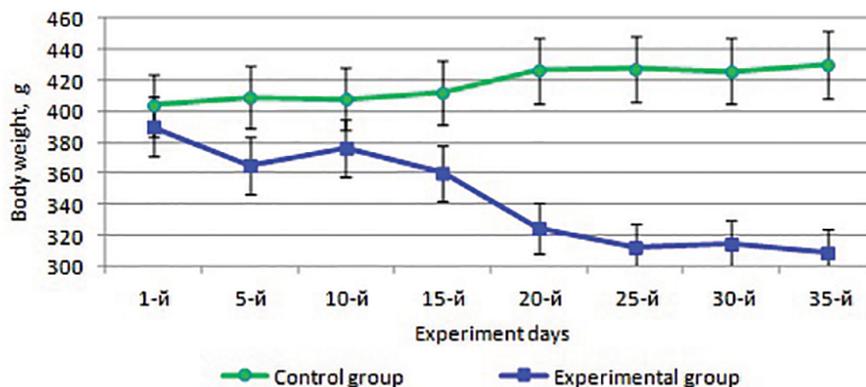


Fig. 1. Dynamics of body weight of animals (g) in the process of modeling chronic physical overstrain

Однако данные колебания в массе тела животных в указанные временные периоды не превышали 8 % и не оказались статистически значимыми. Снижение массы тела животных более чем на 30 % регистрировалось в период с 25 по 35 дни эксперимента, что является одним из показателей развившегося состояния ХФП. Масса тела крыс контрольной группы (интактные животные) характеризовалась постоянным увеличением веса, что закономерно для животных данного биологического вида, размер и масса тела которых увеличиваются в течение всей жизни.

Достоверно значимое снижение количества эритроцитов в крови отмечено на 25 день эксперимента с пиком падения на 30—35 дни моделируемого ХФП (Табл. 2).

Снижение концентрации эритроцитов более чем на 50 % в сравнении с данными, регистрируемыми на начало моделирования ХФП, свидетельствует о развивающейся анемии и подтверждается значительным уменьшением количества гемоглобина и уровня гематокрита.

Таблица 2

Морфофункциональная характеристика эритроцитов животных в условиях моделирования хронического физического перенапряжения (M±m)

Дни	Содержание гемоглобина, г/л	Эритроциты, 10 ¹² /л	Гематокрит, %	Ср. объём эритроцитов, fl
1 (n=56)	134,7±8,4	7,24±0,24	42,3±1,4	48,9±2,4
5 (n=56)	114,2±6,3	6,40±0,16	36,7±2,1*	50,3±1,3
10 (n=56)	126,3±7,5	6,48±0,14	36,3±3,3	51,4±2,8
15 (n=56)	135,0±0,25	6,85±0,23	40,1±2,9	53,4±0,15
20 (n=46)	126,8± 6,0	6,69±0,45	36,9±2,7	53,4±1,4
25 (n=46)	121,2±5,9	5,47±0,20*	36,9±2,7	53,4±1,9
30 (n=36)	117,0 ±8,2	3,63±0,18*	33,7±1,9*	53,7±1,8
35 (n=36)	102,4 ±9,6*	3,20±0,15*	31,2±2,1*	50,3±2,5

Примечание: * — достоверность отличий по сравнению с данными первого дня эксперимента.

Table 2

Morphofunctional characteristics of animal erythrocytes under conditions of modeling chronic physical overstrain (M±m)

Days	Content hemoglobin, g/L	Erythrocytes, 10 ¹² /l	Hematocrit,%	Wed erythrocyte volume, fl
1 (n=56)	134.7±8.4	7.24±0.24	42.3±1.4	48.9±2.4
5 (n=56)	114.2±6.3	6.40±0.16	36.7±2.1*	50.3±1.3
10 (n=56)	126.3±7.5	6.48±0.14	36.3±3.3	51.4±2.8
15 (n=56)	135.0±0.25	6.85±0.23	40.1±2.9	53.4±0.15
20 (n=46)	126.8± 6.0	6.69±0.45	36.9±2.7	53.4±1.4
25 (n=46)	121.2±5.9	5.47±0.20*	36.9±2.7	53.4±1.9
30 (n=36)	117.0 ±8.2	3.63±0.18*	33.7±1.9*	53.7±1.8
35 (n=36)	102.4 ±9.6*	3.20±0.15*	31.2±2.1*	50.3±2.5

Note: * — significance of differences compared to the data of the first day of the experiment.

Масса сердца на период начала моделирования ХФП соответствовала $0,39 \pm 0,003$ г/100 г массы тела, через 15 дней эксперимента увеличилась

и составила $0,41 \pm 0,001$ г/100 г, к 35 дню наблюдений — $0,44 \pm 0,005$ г/100 г.

Данные ЭКГ животных приведены в таблице 3.

Таблица 3

ЧСС и величина R-R интервала у крыс в условиях моделирования ХФП (M±m)

Дни	Исследуемый показатель	
	ЧСС, уд/мин	R-R интервал, м/сек
1 (n=56)	440,0± 12,2	136,0± 5,2
5 (n=56)	464,7± 4,3	136,0± 5,2
10 (n=56)	452,7± 19,4	132,7± 5,7
15 (n=56)	457,7±21,0	126,2± 5,6
20 (n=46)	456,1± 25,39	132,2± 7,4
25 (n=46)	497,4± 51,9*	124,2± 13,3*
30 (n=36)	436,8± 15,43	137,5± 4,9
35 (n=36)	438,0± 16,81	137,0±5,1

Примечание: * — достоверность отличий по сравнению с данными первого дня эксперимента.

Table 3

Heart rate and R-R interval in rats under CFP simulation (M±m)

Days	Researched indicator	
	Heart rate, beats/min	R-R interval, m/s
1 (n=56)	440.0 ± 12.2	136.0 ± 5.2
5 (n=56)	464.7 ± 4.3	136.0 ± 5.2
10 (n=56)	452.7 ± 19.4	132.7 ± 5.7
15 (n=56)	457.7 ± 21.0	126.2 ± 5.6
20 (n=46)	456.1 ± 25.39	132.2 ± 7.4
25 (n=46)	497.4 ± 51.9*	124.2 ± 13.3*
30 (n=36)	436.8 ± 15.43	137.5 ± 4.9
35 (n=36)	438.0 ± 16.81	137.0 ± 5.1

Note: * — significance of differences compared to the data of the first day of the experiment.

В период с 5 по 20 день наблюдений ЧСС и величина интервала R-R статистически не изменялись. Выявлено увеличение ЧСС и уменьшение величины интервала R-R у животных на 25 день моделируемого состояния ХФП. При этом в последующие 30 и 35 дни в показателях ЧСС и интервала R-R по сравнению с таковыми на начало моделирования ХФП зарегистрировано не было.

С начала моделирования ХФП по 20 день эксперимента отмечен 100 % синусовый ритм с ЧСС

от $440,0 \pm 12,2$ уд/мин до $456,1 \pm 25,4$ уд/мин. Синусовый ритм регуляции сохраняется и в последующие дни, но на 25 день у 2 % животных наблюдается синусовая тахикардия с ЧСС $544,0 \pm 27,2$ уд/мин. А на 30 и 35 дни эксперимента у 10 % исследованных крыс фиксировалось нарушение процессов реполяризации левого желудочка по типу субэпикардиальной ишемии с ЧСС $472,0 \pm 23,6$ мин.

Количество аутоантител к белкам миокарда (альфа актину-1, тяжелой цепи бета-миозина 7В,

тропонину I) в крови животных в течение первых 5 дней наблюдений не имело достоверных отличий в сравнении с данными, регистрируемыми на начало моделируемого ХФП (Табл. 4).

Рост количества определяемых аутоантител к белкам кардиомиоцитов отмечен на 10 день эксперимента. Наиболее значимое увеличение ауто-АТ происходило по истечении 15 дней постоянно расту-

щего объема выполняемых беговых нагрузок. Так, к тропонину I количество ауто-АТ возросло более чем в 5 раз. Увеличение ауто-АТ к белкам актину и миозину было в 2,4 и 2,8 раза соответственно.

К моменту окончания эксперимента количество ауто-АТ к тропонину I возросло 8,4 раза, к белкам актину и миозину в 5,7 и 4,7 раза, соответственно.

Таблица 4

Динамика ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов в процессе моделирования хронического физического перенапряжения ($M \pm m$)

Дни наблюдений	Исследуемые показатели (нг/мл)		
	Тропонин I	Актин	Миозин
1 (n=56)	2,7±0,04	15,1±1,6	5,6±0,9
5 (n=56)	2,6±0,05	15,4±0,8	5,9±1,1
10 (n=56)	3,9±0,08*	20,4±1,2*	9,7±1,4*
15 (n=56)	13,5±0,2*	36,1±2,7*	15,6±3,3*
20 (n=46)	12,3±1,4*	35,2±2,9*	15,6±2,1*
25 (n=46)	17,2±0,51*	90,3±2,4*	23,7±5,3*
30 (n=36)	16,5±0,35*	89,4±2,7*	23,1±4,4*
35 (n=36)	22,7±2,6*	86,2±2,8*	26,5±2,4*

Примечание: * — достоверность отличий по сравнению с данными первого дня эксперимента.

Table 4

Dynamics of auto-AT to cardiomyocyte proteins in the process of modeling chronic physical overstrain ($M \pm m$)

Observation days	Investigated parameters (ng/ml)		
	Troponin I	Actin	Myosin
1 (n=56)	2.7±0.04	15.1±1.6	5.6±0.9
5 (n=56)	2.6±0.05	15.4±0.8	5.9±1.1
10 (n=56)	3.9±0.08*	20.4±1.2*	9.7±1.4*
15 (n=56)	13.5±0.2*	36.1±2.7*	15.6±3.3*
20 (n=46)	12.3±1.4*	35.2±2.9*	15.6±2.1*
25 (n=46)	17.2±0.51*	90.3±2.4*	23.7±5.3*
30 (n=36)	16.5±0.35*	89.4±2.7*	23.1±4.4*
35 (n=36)	22.7±2.6*	86.2±2.8*	26.5±2.4*

Note: * — significance of differences compared to the data of the first day of the experiment.

Гистопатологическая оценка состояния миокарда крыс опытной группы в течение первых 20 дней наблюдений патоморфологических изменений в кардиомиоцитах не выявила. На последующих этапах моделируемого ХФП (25 дней) обнаруживается утолщение миокарда за счет кровенаполне-

ния сосудов, при этом отдельные кардиомиоциты в состоянии гипертрофии, местами неравномерно прокрашиваются, плохо визуализируется поперечная исчерченность. Толщина адвентиции некоторых сосудов миокарда составляет больше 50 % меди и интима без изменений (Рис. 2).

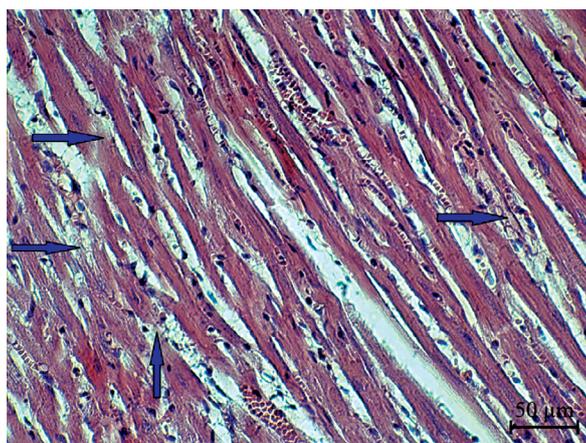


Рис. 2. ХФП (25 дней). Миокард. Кардиомиоциты. Признаки дистрофии миокарда в виде чередования в срезах небольших групп кардиомиоцитов в состоянии слабо выраженных гипертрофии и атрофии (выделено стрелками). Окраска гематоксилин и эозин $\times 200$

Fig. 2. CFP (25 days). Myocardium. Cardiomyocytes. Signs of myocardial dystrophy in the form of alternation in sections of small groups of cardiomyocytes in a state of mild hypertrophy and atrophy (highlighted by arrows). Hematoxylin and eosin stain $\times 200$.

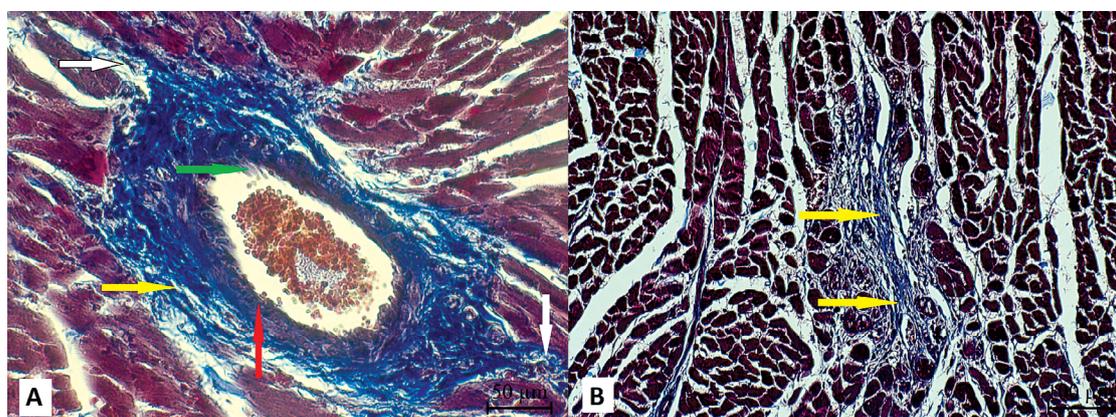


Рис. 3. ХФП (25 дней). А – Фиброз периваскулярной области, переходящий в интерстициальное поле между миофибрилл (отмечено белыми стрелками). Адвентиция (отмечено желтой стрелкой), Медиа (отмечено красной стрелкой), Интима (отмечено зеленой стрелкой). Окраска трихромом по Массону $\times 200$. В – Сетчатые структуры соединительнотканых волокон между кардиомиоцитами (отмечено желтыми стрелками) Окраска трихромом по Массону $\times 100$

Fig. 3. CFP (25 days). A – Fibrosis of the perivascular region, passing into the interstitial field between myofibrils (marked with white arrows). Adventitia (marked with a yellow arrow), Media (marked with a red arrow), Intima (marked with a green arrow). Trichrome staining according to Masson $\times 200$. B – Mesh structures of connective tissue fibers between cardiomyocytes (marked with yellow arrows). Trichrome staining according to Masson $\times 100$

Периоды 30 и 35 дни эксперимента характеризуются большей выраженностью патоморфологических изменений: гипертрофия миокарда,

умеренная миокардиодистрофия, умеренный интерстициальный фиброз миокарда, периваскулярный фиброз (Рис. 4, 5).

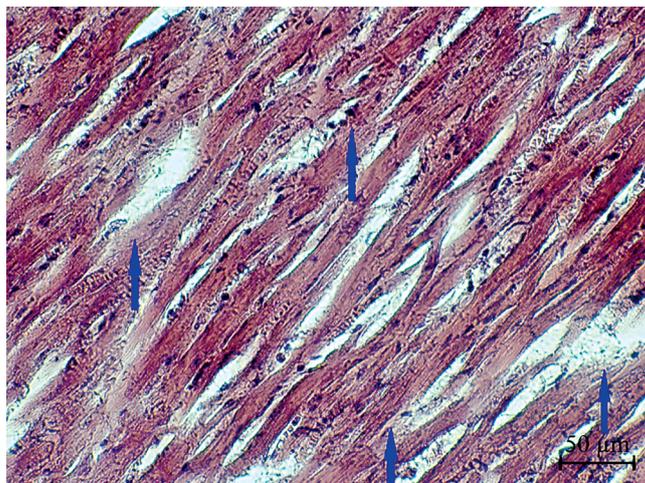


Рис. 4. ХФП (35 дней). Миокард. Кардиомиоциты. Признаки дистрофии миокарда, нарушение поперечной исчерченности и неравномерность окраски, кардиомиоциты в состоянии выраженной гипертрофии (выделено стрелками). Окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

Fig. 4. CFP (35 days). Myocardium. Cardiomyocytes. Signs of myocardial dystrophy, violation of transverse striation and uneven coloration, cardiomyocytes in a state of pronounced hypertrophy (highlighted by arrows). Stained with hematoxylin and eosin $\times 200$

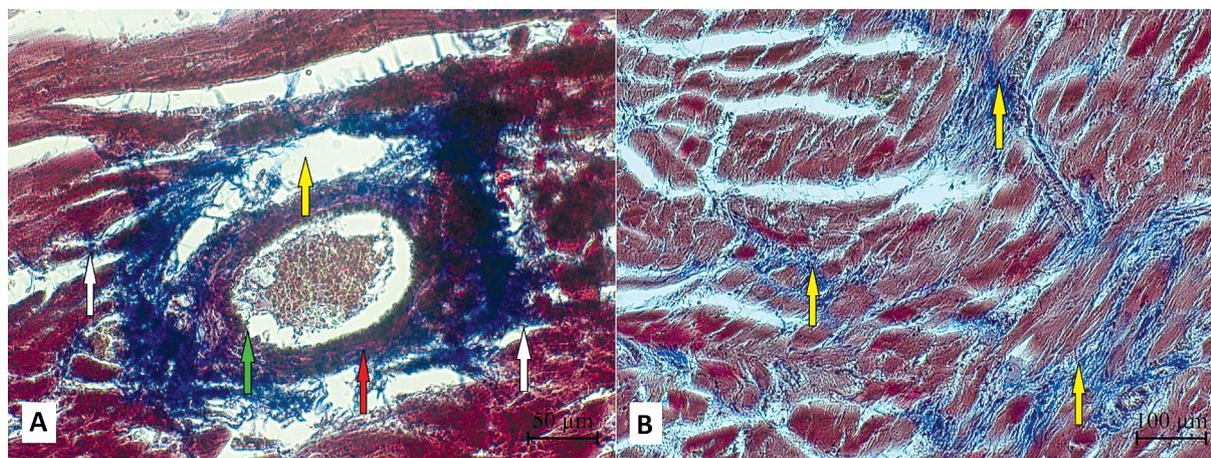


Рис. 5. ХФП (35 дней). А — Фиброз периваскулярной области, переходящий в интерстициальное поле между миофибрилл (отмечено черными стрелками). Адвентиция (отмечено желтой стрелкой), Медиа (отмечено красной стрелкой), Интима (отмечено зеленой стрелкой). Окраска трихромом по Массону $\times 200$. В — Выраженные сетчатые структуры соединительнотканых волокон между кардиомиоцитами (отмечено желтыми стрелками) Окраска трихромом по Массону $\times 100$

Fig. 5. CFP (35 days). A — Fibrosis of the perivascular region, passing into the interstitial field between the myofibrils (marked with black arrows). Adventitia (marked with a yellow arrow), Media (marked with a red arrow), Intima (marked with a green arrow). Trichrome staining according to Masson $\times 200$. B — Pronounced mesh structures of connective tissue fibers between cardiomyocytes (marked with yellow arrows) Masson's trichrome staining $\times 100$

Представленные данные свидетельствуют, что развитие ХФП носило волнообразный характер, а не являлось однонаправленным ухудшением. Так, в течение первых 20 дней эксперимента животные были способны выполнять постоянно возрастающую по продолжительности и интенсивности беговую нагрузку. На последующих этапах эксперимента работоспособность животных быстро снижалась. В пике работоспособности не зарегистрировано значимых морфофункциональных нарушений в системах организма. Снижение массы тела, концентрации эритроцитов и уровня гемоглобина не имели достоверно значимых величин. Патоморфологические изменения не выявлены и при гистологическом исследовании кардиомиоцитов. При этом 20 и 25 дни эксперимента характеризовались многократным повышением количества ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов. Подобная динамика концентрации ауто-АТ к специфическим белкам кардиомиоцитов в период, когда у животных отмечается высокая работоспособность и отсутствуют явные признаки перенапряжения, свидетельствует о начинающихся патологических процессах в кардиомиоцитах. Эти процессы начинают регистрироваться на 30—35 дни эксперимента при гистологических исследованиях и снятии ЭКГ.

Заключение

Таким образом, выявленные реакции ауто-АТ к повреждению белков кардиомиоцитов (альфа-актину-1, тяжелой цепи бета-миозина 7В, тропонину I) могут использоваться как специфические маркеры, отражающие самые незначительные патофизиологические изменения, что позволяет судить о возникающих нарушениях в миокарде на самых ранних этапах. Уровни ауто-АТ к специфическим белкам кардиомиоцитов (Anti-АСТС1, Anti-МУН7В, AntiсTnI) могут использоваться как предикторы начинающихся патологических процессов до того, как это отразится во внешних факторах: физической работоспособности, признаках переутомления, а в сердце разовьются деструктивные изменения. Однако отсутствие установленных норм в содер-

жании ауто-АТ к специфическим белкам кардиомиоцитов в организме спортсменов не позволяет использовать данные маркеры в практике с целью ранней диагностики возникающих нарушений в сердечно-сосудистой системе спортсмена. Поэтому дальнейшая работа должна быть направлена на установление допустимых норм в содержании ауто-АТ к специфическим белкам кардиомиоцитов на этапе интенсификации тренировочных нагрузок представителей различных видов спорта, что позволит практическим врачам давать рекомендации в коррекции тренировочного процесса с целью предупреждения морфофункциональных нарушений в сердечно-сосудистой системе спортсмена.

Библиографический список

1. *Гаврилова Е.А.* Стрессорная кардиомиопатия у спортсменов // *European Researcher*. 2012. № 24. С. 961—963.
2. *Василенко В.С.* Факторы риска и заболевания сердечно-сосудистой системы у спортсменов. СПб.: СпецЛит, 2016.
3. *Агаджанян М.Г.* Электрокардиографические проявления хронического физического перенапряжения у спортсменов // *Физиология человека*. 2005. Т. 31. № 6. С. 60—64.
4. *Паценко А.В., Галонский В.Г., Кунгуров С.В., Черниченко А.А., Николаев В.М.* Синдром перетренированности: особенности влияния интенсивных физических и психоэмоциональных нагрузок на функциональное состояние организма спортсменов // *Вестник Авиценны*. 2016. № 1. С. 144—148.
5. *Алимсултанов И.И., Крайнюков И.П.* Внезапная смерть в спорте: причины, частота возникновения и профилактика // *Известия российской военно-медицинской академии*. 2020. Т. 39. № 2. С. 19. <https://doi.org/10.17816/rmmar43192>
6. *Ларинцева О.С.* Скрининг спортсменов на предмет внезапной сердечной смерти в разных странах. История и современность // *Спортивная медицина: наука и практика*. 2018. Т. 8. № 3. С. 96—102. <https://doi.org/10.17238/ISSN2223-2524.2018.3.96>
7. *Елфимова И.В., Елфимов Д.А., Белова А.А.* Перенапряжение сердечнососудистой системы у биатлонистов // *Медицинская наука и образование Урала*. 2018. № 2. С. 108—113.
8. *Дорофейков В.В., Смирнов М.С., Зырянова И.В., Кашкаров Ю.Ф.* Высококчувствительный тропонин — новая эра в диагностике повреждений сердца у спортсменов // *Мир спорта*. 2019. № 2. С. 20—23.
9. *Кузнецова И.А.* Нейрогуморальная регуляция сердечного ритма при различных электрокардиографических синдромах хронического физического перенапряжения у спортсменов // *Современные вопросы биомедицины*. 2018. Т. 2. № 1. С. 12—20.
10. *Макаров Л.М.* Спорт и внезапная сердечная смерть // *Неотложная кардиология*. 2018. № 2. С. 13—21.

11. Sitges M., Merino B., Butakoff C., de la Garza M.S., Paré C., Montserrat S., ... Bijnens B.H. Characterizing the spectrum of right ventricular remodelling in response to chronic training // *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. 2016. Vol. 33. № 3. P. 331—339. doi:10.1007/s10554-016-1014-x
12. Гаврилова Е.А., Шеренков О.А., Давыдов В.В. Современные представления об адаптации аппарата кровообращения к физическим нагрузкам // *Рос. мед.биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова*. 2007. № 4. С. 133—139.
13. Kindermann W., Scharhag J. Die physiologische herzhypertrophie (sportherz) // *German Journal of Sports Medicine*. 2014. № 12. P. 327—332.
14. Schmie C., Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes // *J. Intern. Med*. 2014. Vol. 275. № 2. P. 93—103. DOI:10.1111/joim.12184
15. Мамцева Г.И., Батуринов В.А., Нерсисянц З.В. Диагностическое значение определения уровня антител к миозину при кардиомиопатии // *Российский аллергологический журнал*. 2012. № 1. С. 195—196.
16. Поletaev A.B. Антитела к антигенам нервной ткани при патологии нервной системы // *Вестник МЕДСИ*. 2011. № 13. С. 14—21.
17. Беляев Н.Г., Лёвочкина Э.Д., Батуринов В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В., Писков С.И. Динамика аутоантител к белкам кардиомиоцитов на разных этапах моделируемых мышечных нагрузок // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2022. Т. 26. № 1. С. 51—61. DOI: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-51-61
18. Беляев Н.Г. Структурные изменения в мышечном волокне в период адаптации к физическим нагрузкам различной интенсивности // *Наука. Инновации. Технологии. Научный журнал Северо-Кавказского федерального Университета*. 2014. № 2. С. 179—189.
19. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington, DC: National Academies Press (US). 2011. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/doi:10.17226/12910>
5. Alimsultanov II, Krainyukov IP. Sudden Death in Sports: Causes, Frequency of Occurrence and Prevention. *Izvestiya rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii*. 2020;39(2):19 (In Russian). <https://doi.org/10.17816/rmmar43192>
6. Larintseva OS. Screening of athletes for sudden cardiac death in different countries. History and modernity. *Sportivnaya meditsina: nauka i praktika*. 2018;8(3):96—102 (In Russian). <https://doi.org/10.17238/ISSN2223-2524.2018.3.96>
7. Elfimova IV, Elfimov DA, Belova AA. Overstrain of the cardiovascular system in biathletes. *Meditsinskaya nauka i obrazovanie Urala*. 2018;2:108—113 (In Russian).
8. Dorofeikov VV, Smirnov MS, Zyryanova IV, Kashkarov Yu F. High-sensitivity troponin—a new era in the diagnosis of heart damage in athletes. *Mir sporta*. 2019;2:20—23 (In Russian).
9. Kuznetsova IA. Neurohumoral regulation of heart rate in various electrocardiographic syndromes of chronic physical overstrain in athletes. *Sovremennye voprosy biomeditsiny*. 2018;2(1):12—20. (In Russ.).
10. Makarov LM. Sports and sudden cardiac death. *Neotlozhnaya kardiologiya*. 2018;2:13—21 (In Russian).
11. Sitges M, Merino B, Butakoff C, de la Garza MS., Paré C, Montserrat S, Bijnens BH. Characterizing the spectrum of right ventricular remodelling in response to chronic training. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. 2016;33(3):331—339. doi:10.1007/s10554-016-1014-x
12. Gavrilova EA, Sherenkov OA, Davydov VV. Modern ideas about the adaptation of the circulatory apparatus to physical activity. *Ros. med.biол. vestn. im. akad. I.P. Pavlova*. 2007;4:133—139 (In Russian).
13. Kindermann W, Scharhag J. Die physiologische herzhypertrophie (sportherz). *German Journal of Sports Medicine*. 2014;12:327—332.
14. Schmie C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. *J. Intern. Med*. 2014;275(2):93—103. doi:10.1111/joim.12184
15. Mamtseva GI., Baturin VA, Nersesyants ZV. Diagnostic value of determining the level of antibodies to myosin in cardiomyopathy. *Rossiiskii allergologicheskii zhurnal*. 2012;1:195—196 (In Russian).
16. Poletaev AB. Antibodies to nervous tissue antigens in the pathology of the nervous system. *Vestnik MEDSI*. 2011;13:14—21 (In Russian).
17. Belyaev NG, Lyovochkina ED, Baturin VA, Rzhepakovsky IV, Abasova TV, Piskov SI. Dynamics of autoantibodies to cardiomyocyte proteins at different stages of simulated muscle load. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):51—61 (In Russian). doi:10.22363/2313-0245-2022-26-1-51-61
18. Belyaev NG. Structural changes in the muscle fiber during the period of adaptation to physical activity of varying intensity. *Nauka. Innovatsii. Tekhnologii*. 2014;2:179—189 (In Russian).
19. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington, DC: National Academies Press (US), 2011. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/doi:10.17226/12910>

References

1. Gavrilova EA. Stress cardiomyopathy in athletes. *European Researcher*. 2012;24:961—963 (In Russian).
2. Vasilenko VS. Risk factors and diseases of the cardiovascular system in athletes. St. Petersburg: SpecLit; 2016 (In Russian).
3. Agadzhanian MG. Electrocardiographic manifestations of chronic physical overstrain in athletes. *Fiziologiya cheloveka*. 2005;31(6):60—64 (In Russian).
4. Patsenko A, Galonsky VG, Kungurov SV, Chernichenko AA, Nikolaev VM. Overtraining syndrome: features of the influence of intense physical and psycho-emotional loads on the functional state of the body of athletes. *Vestnik Avitsenny*. 2016;1:144—148 (In Russian).

Ответственный за переписку: Сергей Иванович Писков — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии Медико-биологического факультета, Северо-Кавказский федеральный университет, Российская Федерация, 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1. E-mail: piskovsi77@mail.ru

Лёвочкина Э.Д. SPIN-код 6883-6480; ORCID 0000-0002-1996-0920
Беляев Н.Г. SPIN-код 9666-2587; ORCID 0000-0003-1751-1053
Батурин В.А. SPIN-код 4015-4401; ORCID 0000-0001-6815-0767
Ржепаковский И.В. SPIN-код 4406-8285; ORCID 0000-0002-2632-8923
Абасова Т.В. SPIN-код 8199-6480; ORCID 0000-0003-0366-4446
Смышнов К.М. SPIN-код 7539-9920; ORCID 0000-0003-3890-3769
Писков С.И. SPIN-код 3861-8679; ORCID 0000-0002-5558-5486

Corresponding author: Sergey Piskov — PhD in Biology, Leading Researcher of the Interdepartmental Scientific and Educational Laboratory of Experimental Immunomorphology, Immunopathology and Immunobiotechnology of the Faculty of Medicine and Biology, North Caucasus Federal University, 355017, st. Pushkina, d. 1, Stavropol, Russian Federation. E-mail: piskovsi77@mail.ru

Lyovochkina E.D. ORCID 0000-0002-1996-0920
Belyaev N.G. ORCID 0000-0003-1751-1053
Baturin V.A. ORCID 0000-0001-6815-0767
Rzhepakovsky I.V. ORCID 0000-0002-2632-8923
Abasova T.V. ORCID 0000-0003-0366-4446
Smyshnov K.M. ORCID 0000-0003-3890-3769
Piskov S.I. ORCID 0000-0002-5558-5486