



DOI: 10.22363/2313-0245-2024-28-1-114-122

EDN: VWJQPU

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Структурно-клеточный состав белой пульпы селезенки при экспериментальной фуросемид-индуцированной гипомagneмией

М.В. Сметанина , Н.Н. Чучкова ✉, Н.В. Кормилина , К.А. Пазиненко 

Ижевская государственная медицинская академия, г. Ижевск, Российская Федерация

✉ mig05@inbox.ru

Аннотация. *Актуальность.* Дефицит магния в крови (гипомagneмия) обусловлен множеством причин, среди которых важное место занимают петлевые диуретики (фуросемид). Роль селезенки в этом процессе не определена. Цель работы состояла в выяснении влияния фуросемид-индуцированной гипомagneмией на иммунные структуры белой пульпы селезенки крыс. Материалы и методы. Опытной группе белых беспородных крыс в течение 6 дней ежедневно внутрибрюшинно в дозе 30 мг/кг вводили фуросемид (Lasix® Авентис Фарма Лтд, Индия), животные контрольной группы получали инъекцию 0,9% NaCl. Исследовали: сыворотку крови на содержание магния, кальция, натрия и железа; серийные срезы белой пульпы селезенки после окраски гематоксилином и эозином для оценки структуры и азур-П-эозином для оценки клеточного состава. При 280-кратном увеличении микроскопа подсчитывали соотношение (в %) первичных (ПЛУС) и вторичных лимфоидных узелков селезенки (ВЛУС), измеряли (мкм): диаметр герминативного центра (ГЦ), ширину мантийной и маргинальной зоны, диаметр периартериолярной лимфоидной муфты (ПАЛМ). В ГЦ, периферической зоне лимфоидных узелков, ПАЛМ при увеличении 1500 крат в расчете на поле зрения (100 мкм²) подсчитывали и представляли в процентах количество лимфоцитов; макрофагов; клеток, митотических и апоптотических элементов. Морфометрический анализ осуществлялся при помощи программ Image ProPlus 6.0 (Media Cybernetics, США). Статистическая обработка осуществлялась при помощи пакета программ Statistica 10.0 с определением средней арифметической (M) и ее ошибки (m). Результаты и обсуждение. Введение фуросемида привело к снижению магния в сыворотке крови в 1,6 раз ($p < 0,05$). В белой пульпе селезенки животных опытной группы снижалась доля ПЛУС на 18,14%, увеличивалось количество ВЛУС на 42,5% ($p < 0,05$). Диаметр ВЛУС незначимо возрастал, диаметр ГЦ и ширина маргинальной зоны достоверно увеличивались на 27,1 и 24,8%, соответственно. В ГЦ ВЛУС увеличивалась доля макрофагов на 20,6%, в составе ПАЛМ — на 17,0%. Наиболее высокий прирост доли клеток с признаками апоптоза был обнаружен в периартериолярной лимфоидной муфте экспериментальных животных — 34,6% ($p < 0,05$). Выводы. Нагрузка фуросемидом обуславливает развитие биоэлементоза, с наиболее значимой потерей магния (гипомagneмией) и оказывает выраженное влияние на иммунные параметры селезенки, представленные структурами белой пульпы.

© Сметанина М.В., Чучкова Н.Н., Кормилина Н.В., Пазиненко К.А., 2024



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

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

Следовательно, коррекция элементного статуса и мониторинг состояния селезенки при гипомагниемии, вызванной применением петлевых диуретиков, являются необходимым элементом в предупреждении осложнений, связанных с использованием мочегонных препаратов.

Ключевые слова: фуросемид-индуцированная гипомагниемия, диуретик, белая пульпа селезенки, клеточный состав селезенки

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования — Н.Н. Чучкова, М.В. Сметанина; эксперимент — Н.В. Кормилина, М.В. Сметанина, К.А. Пазиненко; написание и оформление текста — Н.Н. Чучкова, М.В. Сметанина; статистический анализ — К.А. Пазиненко. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава РФ (апликационный № 610), г. Ижевск, Россия.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 28.06.2023. Принята 27.07. 2023.

Для цитирования: Сметанина М.В., Чучкова Н.Н., Кормилина Н.В., Пазиненко К.А. Структурно-клеточный состав белой пульпы селезенки при экспериментальной фуросемид-индуцированной гипомагниемии // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2024. Т. 28. № 1. С. 114–122. doi: 10.22363/2313–0245–2024–28–1–114–122

Spleen white pulp structural and cellular composition in experimental furosemide-induced hypomagnesemia

Marina V. Smetanina , Natalya N. Chuchkova ✉,
Natalya V. Kormilina , Ksenia A. Pazinenko 

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation
✉ mig05@inbox.ru

Abstract. Relevance. Magnesium deficiency in the blood (hypomagnesemia) is due to many reasons, among which loop diuretics (furosemide) occupy a certain place. The role of the spleen in this process has not been determined. *The aim* of the work was to elucidate the effect of furosemide-induced hypomagnesemia on the immune structures of the white pulp of rat spleen. *Materials and Methods.* Furosemide (Lasix® Aventis Pharma Ltd, India) was injected daily intraperitoneally at a dose of 30 mg/kg to the experimental group of white outbred rats for 6 days, animals of the control group received an injection of 0.9% NaCl. Investigated: blood serum for the content of magnesium, calcium, sodium and iron; serial sections of the white pulp of the spleen after staining with hematoxylin and eosin to assess the structure and azure-II-eosin to assess the cellular composition. With a microscope magnification of 280 times, the ratio (in %) of primary (PLNS) and secondary lymphoid nodules of the spleen (SLNS) was calculated, the following

were measured (μm): the diameter of the germinal center (GC), the width of the mantle and marginal zone, the diameter of the periarteriolar lymphoid sheath (PALS). In GC, the peripheral zone of lymphoid nodules, PALS at a magnification of 1500 times per field of view ($100 \mu\text{m}^2$) was counted and presented as a percentage of the number of lymphocytes; macrophages; cells, mitotic and apoptotic elements. Morphometric analysis was carried out using Image ProPlus 6.0 software (Media Cybernetics, USA). Statistical processing was carried out using the Statistica 10.0 software package with the determination of the arithmetic mean (M) and its error (m). **Results and Discussion.** The administration of furosemide led to a decrease in magnesium in the blood serum by 1.6 times ($p < 0.05$). In the white pulp of the spleen of animals of the experimental group, the proportion of SLNS decreased by 18.14 %, the number of SLNS increased by 42.5 % ($p < 0.05$). The diameter of SLNS increased insignificantly, the diameter of GC and the width of the marginal zone significantly increased by 27.1 and 24.8 %, respectively. The proportion of macrophages increased by 20.6 % in GC SLNS, and by 17.0 % in PALS. The highest increase in the proportion of cells with signs of apoptosis was found in the periarteriolar lymphoid sheath of experimental animals — 34.6 % ($p < 0.05$). **Conclusion.** Furosemide loading causes the development of dyselementosis, with the most significant loss of magnesium (hypomagnesemia) and has a pronounced effect on the immune parameters of the spleen, represented by white pulp structures. Therefore, correction of the elemental status and monitoring of the state of the spleen in hypomagnesemia caused by the use of loop diuretics is a necessary element in the prevention of complications associated with the use of diuretic drugs.

Keywords: furosemide-induced hypomagnesemia, diuretics, white pulp of the spleen, cellular composition of the spleen

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contributions. Natalya N. Chuchkova, Marina V. Smetanina — concept and design of the study; Natalya V. Kormilina, Marina V. Smetanina, Ksenia A. Pazinenko — experiment; Natalya N. Chuchkova, Marina V. Smetanina — writing and design of the text; Ksenia A. Pazinenko — statistical analysis. All authors made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the manuscript, read and approved the final version before publication.

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

Ethics approval. The study was approved by the Biomedical Ethics Committee of the Izhevsk State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation (application No. 610), Izhevsk, Russia.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 28.06.2023. Accepted 27.07.2023.

For citation. Smetanina MV, Chuchkova NN, Kormilina NV, Pazinenko KA. Spleen white pulp structural and cellular composition in experimental furosemide-induced hypomagnesemia. *RUDN Journal of Medicine*. 2024;28(1):114–122. doi: 10.22363/2313–0245–2024–28–1–114–122

Введение

Петлевые диуретики, к которым относится фуросемид, широко используются во всем мире для лечения сердечной недостаточности, артериальной гипертензии, осложнений, связанных с острым повреждением почек, почечной недостаточностью и т.п. [1–4]. В то же время достаточно много фактов свидетельствуют о применении мочегонных средств с немедицинскими целями (в спорте, например), что может вызвать нежелательные последствия после

их длительного (или чрезмерного) употребления. Петлевые диуретики ингибируют резорбцию Na^+ (и, следовательно, воды) из восходящего отдела петли Генле в почечных канальцах, увеличивают экскрецию с мочой K^+ , Mg^{2+} , H^+ и Cl^- , что приводит к дисбалансу электролитов и чревато осложнениями [5]. Петлевой диуретик фуросемид — часто используемый мочегонный препарат, его использование нередко вызывает вопросы, трактующиеся очень разнообразно, однако при этом выявлено, что при его

применении вероятность развития гипомagneмии может достигать 50 % [6, 7]. Более того, клинически важное значение имеет тот факт, что даже в условиях отсутствия регистрации нарушений электролитного состава крови длительная терапия диуретиками ведет к дисбалансу элементов (гипо- либо гиперэлементозы) [7–10]. В ряде экспериментов на животных показано, что введение фуросемида сопровождается биоэлементозом не только в крови, но и в ряде органов, в т. ч. обеспечивающих иммунные функции [9, 10]. Последствия гипомagneмии, поражающей несколько органов, могут быть явными или скрытыми проявлениями [11].

Дефицит и/или дисбаланс основных жизненно-необходимых (эссенциальных) элементов неизбежно провоцирует нарушение функционирования органов и систем организма, включая систему иммунного гомеостаза. Данные ряда авторов свидетельствуют о том, что именно гипомagneмия является предиктором смерти от сердечно-сосудистых заболеваний, повышает смертность от COVID-19 [12, 13]. Состояние иммунной системы может быть во многих случаях решающим фактором при развитии самых разнообразных патологических состояний [14]. На роль селезенки в процессах иммуномодуляции при измененном составе элементов (дефиците магния, в частности) указывают единичные работы [10, 15].

Цель исследования — выяснить влияние фуросемид-индуцированной гипомagneмии на иммунные структуры белой пульпы селезенки крыс.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на лабораторных крысах (*Rattus norvegicus* Berk) обоего пола, массой $180 \pm 12,6$ г в осенний период. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава РФ (апликационный № 610), г. Ижевск.

Животные были разделены на 2 группы: контрольная группа (10 особей) и опытная группа (15 особей). Животным опытной группы в течение 6 дней ежедневно внутрибрюшинно в дозе 30 мг/кг (объем препарата для этой дозировки со-

ставлял 0,2 л) вводили фуросемид (Lasix® Авентис Фарма Лтд, Индия) [16]. Животным контрольной группы ежедневно в аналогичном объеме (0,2 мл) внутрибрюшинно вводили 0,9 % раствор натрия хлорида. Все 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.). Животные получали стандартный сухой корм, имели свободный доступ к воде.

Кровь для анализа на микроэлементы забирала транскардиальной пункцией под эфирным наркозом непосредственно перед умерщвлением с последующим выведением из эксперимента дополнительной летальной дозой эфирного наркоза. Исследование сывороточного магния, кальция, натрия и железа проводили в лаборатории «МедЛаб Экспресс» (г. Ижевск) на автоматическом анализаторе XL-200. В общем клиническом анализе крови на автоматическом анализаторе XL-200 оценивали количественный состав клеток белой крови. После вскрытия селезенку извлекали, фиксировали в 10 % нейтральном формалине, обезжировали в батарее спиртов восходящей концентрации и заливали в парафиновую среду для заливки гистологического материала Histomix (BioVitrum, Россия). Серийные срезы органа (5–7 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином для оценки структуры белой пульпы и азури-II-эозином для оценки ее клеточного состава. При увеличении микроскопа в 70 и 280 крат подсчитывали соотношение (в %) первичных (ПЛУС) и вторичных (ВЛУС) лимфоидных узелков селезенки (ЛУС). Для ВЛУС измеряли диаметр герминативного центра (ГЦ), ширину мантийной зоны (МаЗ), ширину маргинальной зоны (МарЗ), диаметр периартериальной лимфоидной муфты (ПАЛМ). Морфометрический анализ структурных компонентов селезенки осуществлялся при помощи морфометрических программ Image ProInsite 8.0, Image ProPlus 6.0 (Media Cybernetics, США).

Для дополнительной оценки интегрального иммунного ответа селезенки определяли индекс

сы, отражающие иммуноморфологию органа: герминативно-фолликулярный индекс (ГФИ), рассчитываемый из соотношения диаметров ГЦ и ВЛУС (%) и лимфоидный коэффициент (ЛК), рассчитываемый из диаметров ВЛУС и ПАЛМ (%) [17].

В герминативных центрах и периферической зоне ЛУС (мантейная и маргинальная зоны), ПАЛМ подсчитывали и представляли в процентах количество лимфоцитов; макрофагов; клеток, находящихся в состоянии митотического деления; апоптотических элементов. Количество клеток рассчитывалось на поле зрения (100 мкм²). Статистическую обработку данных осуществляли при помощи пакета программ Statistica 10.0 с определением средней арифметической (М) и ее ошибки (m). Результаты исследования были проверены на нормальность распределения с использовани-

ем критерия Шапиро-Уилка. Сравнения данных двух групп из совокупностей анализировали при помощи двухфакторного дисперсионного анализа с использованием программного обеспечения SPSS. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Воздействие фуросемида на организм животных, вводимого в течение 6 дней, привело к изменению концентрации биоэлементов в сыворотке крови (таблица 1). Наиболее выражено снижались показатели магния (в 1,6 раз, $p < 0,05$) и кальция — на 14,8 % ($p < 0,05$), повышалось количество железа (на 32,8 %, $p < 0,05$), не изменялись натрия и калия.

Таблица 1/ Table 1

Массовая концентрация элементов в сыворотке крови интактных и экспериментальных животных /
Mass concentration of elements in the blood serum of intact and experimental animals

Группы животных, Показатели / Animal Groups, Indicators	Интактные животные / Intact animals n = 10	Опытные животные / Experimental animals n = 15
Mg (ммоль/л) / Mg (mmol/l)	1,75 ± 0,08	1,11 ± 0,18*
Интервальные значения / Interval values	(1,1 – 1,89)	(0,66 – 1,40)
Fe (мкмоль/л) / Fe (μmol/l)	30,8 ± 6,21	40,9 ± 8,62*
Интервальные значения / Interval values	(18,9 – 35,2)	(20,9 – 50,1)
Ca (ммоль/л) / Ca (mmol/l)	16,2 ± 2,3	13,8 ± 2,8*
Интервальные значения / Interval values	15,4 – 20,0	13,5 – 20,8
Na (ммоль/л) / Na (mmol/l)	143,95 ± 0,21	142,8 ± 0,8
Интервальные значения / Interval values	140 – 145 (σ=0,44)	140 – 145 (σ=0,16)
K (ммоль/л) / K (mmol/l)	4,86 ± 0,90	4,39 ± 1,52
Интервальные значения / Interval values	3,1 – 6,7 (σ = 1,79)	2,9 – 5,9 (σ = 3,03)

Примечание: * — различия достоверны при $p < 0,05$.

Note: * $p < 0,05$.

Гипомагниемия возникает быстро, потому что обмен внеклеточного магния с более крупными костными и клеточными запасами незначителен [8]. Механизм действия петлевых диуретиков связан с блокадой работы натрий-калий-хлоридного котранспортера, в результате чего не происходит формирования электрохимического градиента между

полостью просвета канальцев и перитубулярным пространством, магний не реабсорбируется (возникает магнийурия). С уменьшением трансэпителиального потенциала, снижается и парацеллюлярный транспорт магния [18, 19]. Нарушение этих механизмов обратного поступления магния и приводит к его значительным потерям в крови. Изменения

концентрации кальция в сыворотке крови были менее выражены, чем магния. Однако важно, что соотношение этих элементов (Mg/Ca) играет даже большую роль, чем просто их количество. Так, у контрольных животных соотношение Mg/Ca составило $0,09 \pm 0,02$ у.е., а в опытной группе — $0,06 \pm 0,02$ у.е. В статье F. Guerrero-Romero et al. представлены данные о том, что снижение этого соотношения у лиц этого COVID-19 связано с высоким риском смертности от заболевания [12].

Общий анализ крови у экспериментальных животных показал достоверное увеличение количества лейкоцитов 1,5 раза (с $11,2 \pm 1,81$ до $16,96 \pm 5,0$ ед/л), лимфоцитов в 1,7 раза (с $5,9 \pm 1,3$ до $10,02 \pm 1,3$ ед/л), некоторое снижение моноцитов (с $1,75 \pm 0,08$ до $1,54 \pm 0,05$ ед/л). Подобная цитологическая картина свидетельствует о развитии воспалительного процесса в организме при гипомагнемии.

Однако в крови присутствует лишь незначительное количество магния (около 1%), большая часть этого иона находится в костях (53%), мышцах (27%) и мягких тканях (19%). Кроме того, применение лекарств может снижать концентрацию магния в сыворотке за счет его перемещения в клетки [10, 20]. При морфометрическом анализе белой пульпы селезенки в условиях сформированной под влиянием фуросемида гипомагнемии (ФГ), было выяснено, что у животных с ФГ в селезенке снижалась доля ПЛУС на 18,14%, ($p < 0,05$) при одновременном возрастании количества ВЛУС на 42,5%, ($p < 0,05$). Диаметр ВЛУС незначимо возрастал, но диаметр ГЦ и ширина маргинальной зоны изменялись достоверно ($p < 0,05$), увеличиваясь на 27,1 и 24,8%, соответственно. Диаметр Т-зависимых зон селезенки имел тенденцию к уменьшению ($p < 0,1$) (таблица 2).

Таблица 2 / Table 2

Гистоструктурные характеристики белой пульпы селезенки контрольных и экспериментальных животных при нагрузке фуросемид-индуцированной гипомагнемии / Histostructural characteristics of the white pulp of the spleen of control and experimental animals under load of furosemide-induced hypomagnesemia

Показатели Группы животных / Animal groups Indicators	Интактные животные Intact animals n=10	Опытные животные Experimental animals n=15
Доля первичных лимфоидных узелков (%) / Proportion of primary lymphoid nodules (%)	84,78 ± 3,21	68,55 ± 5,23*
Доля вторичных лимфоидных узелков (%) / Proportion of secondary lymphoid nodules (%)	15,22 ± 1,54	31,45 ± 10,12*
Диаметр первичных лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of primary lymphoid nodules (µm)	339,13 ± 38,58	333,05 ± 44,96
Диаметр вторичных лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of secondary lymphoid nodules (µm)	377,27 ± 28,94	391,84 ± 32,71
Диаметр герминативного центра (мкм) / Germinal center (diameter, µm)	88,34 ± 12,44	112,25 ± 13,76*
Ширина мантийной зоны (мкм) / Mantle zone (width, µm)	186,23 ± 46,76	159,63 ± 42,98
Ширина маргинальной зоны (мкм) / Marginal zone of white pulp (width, µm)	100,37 ± 7,03	125,29 ± 8,16*
Диаметр периартериолярной лимфоидной муфты (мкм) / Periarteriolar lymphoid sheath (diameter, µm)	235,12 ± 77,75	199,21 ± 28,85
Герминативно-фолликулярный индекс (%) / Germinal-follicular index (%)	23,42 ± 1,4	28,65 ± 2,1*
Лимфоидный коэффициент (%) / Lymphoid coefficient (%)	160,46 ± 12,68	196,17 ± 15,47*

Примечание: * – различия достоверны при $p < 0,05$

Note: * $p < 0,05$

В связи полученными результатами иммуноморфологические показатели, выявляющие интенсивность функционирования В-клеточного звена иммунитета (герминативно-фолликулярный индекс), а также лимфоидный коэффициент (ЛК), определяющий соотношение В- и Т-клеточных зон иммунитета, увеличивались в 1,2 раза ($p < 0,05$). ГФИ объективно отражает степень развития ГЦ [17], где образуются плазматические клетки, составляющие основу для формирования гуморального звена иммунитета. Напряженность указанного звена сопряжена с развитием Т-клеточного звена иммунитета, что отражается в увеличении коэффициента ЛК. Результаты отражают несомненную включенность иммунных структур селезенки в функциональную систему иммунного гомеостаза [21] при развивающемся биоэлементозе.

Изменялся при ФГ и клеточный состав лимфоидных узелков селезенки (таблица 3). В основном изменения касались процентных долей, приходящихся на макрофаги и апоптотические элементы (в расчете на поле зрения соответствующих структурных зон). Так, в герминативных центрах ВЛУС доля макрофагов увеличивалась на 20,6 %, в МаЗ и МаРЗ — на 22,6 %, ПАЛМ — на 17,0 %. Процент апоптотических элементов в ГЦ ВЛУС был выше, чем у интактных животных на 20,9 %, в мантийной и маргинальной зонах — на 16 %. Наиболее высокий прирост доли клеток с признаками апоптоза был обнаружен в периартериолярной лимфоидной муфте экспериментальных животных — 34,6 %.

Таблица 3 / Table 3

Клеточные элементы (%), входящие в состав структурных зон вторичных лимфоидных узелков селезенки и периартериолярных лимфоидных муфт интактных и экспериментальных животных/ Cellular elements (%), which are part of the structural zones of secondary lymphoid nodules of the spleen and periarteriolar lymphoid clutches of intact and experimental animals

Интактные животные / Intact animals (n = 10)			
Показатели (%) на поле зрения микроскопа 100 мкм ² / Indicators (%) in the microscope field of view 100 μm ²	Вторичные лимфоидные узелки селезенки / Secondary splenic lymphoid nodules		Периартериолярная лимфоидная муфта / Periarteriolar lymphoid sheath
	Герминативный центр / Germinal center	Периферическая зона лимфоидного узелка (Мантийная и маргинальная зоны) / Peripheral zone of the lymphoid nodule (Mantle and marginal zones of white pulp)	
Лимфоциты / Lymphocytes	47,4 ± 2,6	69,3 ± 10,5	72,1 ± 12,2
Макрофаги / Macrophages	6,8 ± 1,5	6,2 ± 1,3	4,7 ± 0,9
Митозы / Mitoses	1,34 ± 0,9	0,2 ± 0,08	0,7 ± 0,2
Апоптотические элементы / Apoptotic elements	15,8 ± 1,4	7,5 ± 1,2	8,1 ± 0,6
Экспериментальные животные / Experimental animals (n=15)			
Лимфоциты / Lymphocytes	41,6 ± 1,2*	68,7 ± 7,8	72,6 ± 8,8
Макрофаги / Macrophages	8,2 ± 1,1*	7,6 ± 1,1	5,5 ± 0,8*
Митозы / Mitoses		0,2 ± 0,09	0,7 ± 0,06
Апоптотические элементы / Apoptotic elements		8,7 ± 0,6*	10,9 ± 0,8*

Примечание: * — различия достоверны при $p < 0,05$

Note: * $p < 0,05$

Вполне возможно, что увеличение макрофагов обусловлено увеличением количества апоптотических элементов, поскольку эти процессы взаимосвязаны между собой. Косвенным подтверждением является обнаруженный факт снижения количества моноцитов в периферической крови, мигрирующих в орган и являющихся предшественниками макрофагов. Апоптотический механизм иммунной регуляции характерен для многих процессов. Анализ иммунокомпетентных клеток на этапе активации и последующих процессов избыточного и недостаточного апоптоза может быть важным как для понимания иммунопатогенеза многих заболеваний, так и поиска новых средств иммунореабилитации [14].

Фуросемид-индуцированное состояние биоэлемента с преобладанием гипомagneмии, оказывает выраженное влияние на иммунноморфологические параметры селезенки, представленные структурами белой пульпы и их клеточным составом. Известно, что разнообразные эффекты магния обеспечивают целый ряд иммунологических функций многочисленных субпопуляций иммунных клеток [22], оказывают влияние на развитие, дифференцировку и пролиферацию лимфоцитов, функцию макрофагов и выделения ими цитокинов [22–25], обеспечивают модуляцию гемопоэтических стволовых клеток [26–28]. Снижение магния может провоцировать воспалительные процессы, существенно изменяя иммунологический статус [2, 13, 29, 30].

Выводы

- 1) Петлевой диуретик фуросемид вызывает биоэлементный дисбаланс, с преобладанием дефицита Mg^{++} .
- 2) Гипомagneмия сопровождается нарушением иммунного гомеостаза: увеличением количества лимфоцитов и снижением числа моноцитов крови, изменением структурных параметров белой пульпы селезенки и ее цитоархитектоники.
- 3) Коррекция элементного статуса и мониторинг состояния селезенки являются необходимым элементом в предупреждении осложнений, связанных с длительным использованием диуретиков.

References / Библиографический список

1. Redfield MM, Borlaug BA. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Review. *JAMA*. 2023;329(10):827–838. doi: 10.1001/jama.2023.2020
2. Kurlykina NV, Seredenina EM, Orlova Ia A. Use of loop diuretics in heart failure: Current aspects. *Terapevticheskii Arkhiv*. 2017;89(9):115–119. (In Russian). [Курлыкина Н.В., Середенина Е.М., Орлова Я.А. Современные аспекты применения петлевых диуретиков при сердечной недостаточности // *Терапевтический архив*. 2017. Т. 89. № 9. С. 115–119.]
3. Cheng HW, Sham MK, Chan KY, Li CW, Au HY, Yip T. Combination therapy with low-dose metolazone and furosemide: a «needleless» approach in managing refractory fluid overload in elderly renal failure patients under palliative care. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(9):1809–1813. doi: 10.1007/s11255-014-0724-z
4. McMahan BA, Chawla LS. The furosemide stress test: current use and future potential. *Ren Fail*. 2021;43(1):830–839. doi: 10.1080/0886022X.2021.1906701
5. Ellison DH, Maeoka Y, McCormick JA. Molecular Mechanisms of Renal Magnesium Reabsorption. *J Am Soc Nephrol*. 2021;32(9):2125–2136. doi: 10.1681/ASN.2021010042
6. Joannidis M, Klein SJ, Ostermann M. 10 myths about furosemide. *Intensive Care Med*. 2019;45(4):545–548. doi: 10.1007/s00134-018-5502-4
7. Gromova OA, Torshin IYu. Magnesium and «diseases of civilization.» Moscow: GEOTAR. 2018. 799 p. (In Russian). [Громова О.А. Торшин И.Ю. Магний и «болезни цивилизации». М.: ГЭОТАР, 2018. 799 с.]
8. Agus Z.S. Mechanisms and causes of hypomagnesemia. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2016;25(4):301–307. doi: 10.1097/MNH.0000000000000238. PMID: 27219040
9. Dos Santos LRSSR, de Freitas Santos A Júnior, das Graças Andrade Korn M. Effects of furosemide administration on the concentration of essential and toxic elements in Wistar rats by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *J Trace Elem Med Biol*. 2018;48:25–29. doi: 10.1016/j.jtemb.2018.02.029
10. Chuchkova NN, Kanunnikova OM, Smetanina MV. Bioelement composition of organs of experimental animals under furosemide load. *Trace elements in medicine*. 2019;20(4):51–56. (In Russian). [Чучкова Н.Н., Канунникова О.М., Сметанина М.В. Биоэлементный состав органов экспериментальных животных при фуросемидной нагрузке // *Микроэлементы в медицине*. 2019. Т. 20. № 4. С. 51–56.]
11. Tseng MH, Konrad M, Ding JJ, Lin SH. Clinical and genetic approach to renal hypomagnesemia. *Biomed J*. 2022;45(1):74–87. doi: 10.1016/j.bj.2021.11.002
12. Guerrero-Romero F, Mercado M, Rodriguez-Moran M, Ramirez-Renteria C, Martinez-Aguilar G, Marrero-Rodríguez D. Magnesium-to-Calcium Ratio and Mortality from COVID-19. *Nutrients*. 2022;14(9):1686. doi: 10.3390/nu14091686
13. Liu M, Dudley SC. Jr. Magnesium, Oxidative Stress, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(10):907. doi: 10.3390/antiox9100907
14. Sepiashvili RI, Shubich MG, Kolesnikova NV, Slavyanskaya TA, Lomtadidze LV. Apoptosis in immunological processes. *Allergology and Immunology*. 2015;16(1):101–107. (In Russian). [Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Колесникова Н.В., Славянская Т.А., Ломтатидзе Л.В. Апоптоз в иммунологических процессах // *Аллергология и иммунология*. 2015. Т. 16. № 1. С. 101–107.]

15. Smirnov AV, Schmidt MV, Panshin NG, Evsyukov OYu, Evtushenko AM. Morphological changes in the organs of the immune system of rats during experimental modeling of magnesium deficiency. *Volgograd Scientific Medical Journal*. 2011;32(4):8–10. (In Russian). [Смирнов А.В., Шмидт М.В., Панышин Н.Г., Евсюков О.Ю., Евтушенко А.М. Морфологические изменения в органах иммунной системы крыс при экспериментальном моделировании дефицита магния // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2011. Т. 32. № 4. С. 8–10.]
16. Spasov AA, Ozerov AA, Iezhitsa IN, Kharitonova MV, Kravchenko MS, Zheltova AA. Comparative correction of furosemide hypomagnesemia with various stereoisomers of organic magnesium salts. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2011; 3:308–310. (In Russian). [Спасов А.А., Озеров А.А., Иежица И.Н., Харитонов М.В., Кравченко М.С., Желтова А.А. Сравнительная коррекция фуросемидной гипомagneзиемии различными стереоизомерами органических солей магния // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 151. № 3. С. 308–310.]
17. Volkov VP. New algorithm for morphometric assessment of functional immunomorphology of the spleen. *Universum: medicine and pharmacology*. 2015;5–6(18). <https://cyberleninka.ru/article/n/novyy-algoritm-morfometricheskoy-otsenki-funktsionalnoy-immunomorfologii-selezyonki> (Date of access: 23.05.2023). (In Russian). [Волков В.П. Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезенки // Universum: медицина и фармакология. 2015. № 5–6 (18). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/novyy-algoritm-morfometricheskoy-otsenki-funktsionalnoy-immunomorfologii-selezyonki> (Дата обращения: 23.05.2023).]
18. Katopodis P, Karteris E, Katopodis KP. Pathophysiology of Drug-Induced Hypomagnesaemia. *Drug Saf*. 2020;43(9):867–880. doi: 10.1007/s40264-020-00947-y.
19. van Angelen AA, van der Kemp AW, Hoenderop JG, Bindels RJ. Increased expression of renal TRPM6 compensates for Mg²⁺ wasting during furosemide treatment. *Clin Kidney J*. 2012;5(6):535–544. doi: 10.1093/ckj/sfs140
20. Rosner MH, Ha N, Palmer BF, Perazella MA. Acquired Disorders of Hypomagnesemia. *Mayo Clin Proc*. 2023;98(4):581–596. doi: 10.1016/j.mayocp.2022.12.002.
21. Sepiashvili RI. Functional system of immune homeostasis. *Allergology and Immunology*. 2003;4(2):5–14. (In Russian). [Сепиашвили Р.И. Функциональная система иммунного гомеостаза // Аллергология и иммунология. 2003. Т. 4. № 2. С. 5–14.]
22. Weyh C, Krüger K, Peeling P, Castell L. The Role of Minerals in the Optimal Functioning of the Immune System. *Nutrients*. 2022;14(3):644. doi: 10.3390/nu14030644
23. Sugimoto J, Romani AM, Valentin-Torres AM, Luciano AA, Ramirez Kitchen CM. Magnesium decreases inflammatory cytokine production: a novel innate immunomodulatory mechanism. *J Immunol*. 2012;188(12): 6338–6346. doi: 10.4049/jimmunol.1101765
24. Bessa-Gonçalves M, Silva AM, Brás JP, Helmholz H, Luthringer-Feyerabend BJC, Willumeit-Römer R. Fibrinogen and magnesium combination biomaterials modulate macrophage phenotype, NF-κB signaling and crosstalk with mesenchymal stem/stromal cells. *Acta Biomater*. 2020;114:471–484. doi: 10.1016/j.actbio.2020.07.028
25. Hang R, Tian X, Qu G, Zhao Y, Yao R, Zhang Y. Exosomes derived from magnesium ion-stimulated macrophages inhibit angiogenesis. *Biomed Mater*. 2022;17(4). doi: 10.1088/1748-605X/ac6b03
26. Filipowska J, Tomaszewski KA, Niedźwiedzki Ł, Walocha JA, Niedźwiedzki T. The role of vasculature in bone development, regeneration and proper systemic functioning. *Angiogenesis*. 2017;20(3):291–302. doi: 10.1007/s10456-017-9541-1
27. Locatelli L, Fedele G, Castiglioni S, Maier J.A. Magnesium Deficiency Induces Lipid Accumulation in Vascular Endothelial Cells via Oxidative Stress-The Potential Contribution of EDF-1 and PPARγ. *Int J Mol Sci*. 2021;22(3):1050. doi: 10.3390/ijms22031050
28. Maier JA, Castiglioni S, Locatelli L, Zocchi M, Mazur A. Magnesium and inflammation: Advances and perspectives. *Semin Cell Dev Biol*. 2021;115:37–44. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.11.002
29. Fritzen R, Davies A, Veenhuizen M, Campbell M, Pitt SJ, Ajjan RA. Magnesium Deficiency and Cardiometabolic Disease. *Nutrients*. 2023;15(10):2355. doi: 10.3390/nu15102355
30. Vlieg-Boerstra B, de Jong N, Meyer R, Agostoni C, De Cosmi V, Grimshaw K. Nutrient supplementation for prevention of viral respiratory tract infections in healthy subjects: A systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2022;77(5):1373–1388. doi: 10.1111/all.15136

Ответственный за переписку: Чучкова Наталья Николаевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской биологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 426056, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281. E-mail: mig05@inbox.ru.
Сметанина М.В. SPIN 9437-0083; ORCID 0000-0002-1801-5353
Чучкова Н.Н. SPIN 7291-0160; ORCID 0000-0001-7777-6825
Кормилина Н.В. SPIN 4072-0220; ORCID 0000-0002-2885-5882
Пазиненко К.А. SPIN 4421-9206; ORCID 0000-0002-3390-4343

Corresponding author: Chuchkova Natalya Nikolaevna PhD, MD, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Medical Biology, Izhevsk State Medical Academy 426056, Kommunarov str., 281, Izhevsk, Russian Federation. E-mail: mig05@inbox.ru.

Smetanina M.V. ORCID 0000-0002-1801-5353
Chuchkova N.N. ORCID 0000-0001-7777-6825
Kormilina N.V. ORCID 0000-0002-2885-5882
Pazinenko K.A. ORCID 0000-0002-3390-4343