

РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ



**Вестник Российского университета дружбы народов.
Серия: МЕДИЦИНА**

2022 Том 26 № 3

Тема номера: ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

DOI: 10.22363/2313-0245-2022-26-3

<http://journals.rudn.ru/medicine>

**Научный журнал
Издается с 1997 г.**

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-61206 от 30.03.2015 г.

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

КОБАЛАВА Жанна Давидовна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра пропедевтики внутренних болезней РУДН, Москва, Россия;

Ответственный секретарь

ГУРЬЯНОВА Светлана Владимировна, к.б.н., доцент, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

Члены редакционной коллегии

АБРАМОВ Алексей Юрьевич д.м.н., профессор, директор Медицинского института, Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;
АЗОВА Мадина Мухамедовна, д.б.н., профессор, кафедра биологии и общей генетики, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

АҚДИС Мубацел, профессор, Научно-исследовательский институт по аллергии и астме, Давос, Швейцария;

АНИСИМОВ Владимир Николаевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела канцерогенеза и онкогеронтологии, лаборатории канцерогенеза и старения, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия;

БАХНА Сами, профессор, Университет Луизианны, Шreveпорт, США;

БЛАГОНРАВОВ Михаил Львович, д.м.н., профессор, кафедра общей патологии и патологической физиологии им. В.А. Фролова, Медицинский институт, РУДН, Москва, Россия;

БЫКОВ Илья Михайлович, д.м.н., профессор, кафедра фундаментальной и клинической биохимии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия;

ВАЛЕНТА Рудольф, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия;

ВЕСЕЛКИН Николай Петрович, д.м.н., профессор, академик РАН, лаборатория 9, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия;

ВУКСАНОВИЧ Александр, д.м.н., профессор, профессор Медицинского факультета Университета г. Белград, Белград, Сербия;

ГАБИБОВ Александр Габирович, академик РАН, д.х.н, профессор, директор Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

ДЕЕВ Сергей Михайлович, д.б.н., профессор, академик РАН, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

ДРАПКИНА Оксана Михайловна, д.м.н., профессор, академик РАН, директор Национального медицинского исследовательского центра терапии и профилактической медицины, Москва, Россия;

ЕЛЬЧАНИНОВ Андрей Владимирович, д.м.н., профессор, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, Москва, Россия;

ЕФРЕМОВ Анатолий Васильевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра патологической физиологии и клинической патофизиологии, Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия;

КАНОНИКА Вальтер, д.м.н., профессор, Директор Центра персонализированной медицины в исследовательской больнице, Роззано, Милан, Италия;

КОСТИН Андрей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра урологии с курсами онкологии, радиологии и андрологии, Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

КУСТОВИЧ Аднан, профессор, Имперский колледж Лондона, Лондон, Великобритания;

МЕРКЭЛИ Бела, профессор, директор Кардиоцентра Университета Земмельвейса, Будапешт, Венгрия;

НАПАРСТЕК Яаков, профессор, Университет Хадасса, Иерусалим, Израиль;

НОЙХАУС Йохен, д.б.н., профессор, Лейпцигский университет, заведующий научно-исследовательской лабораторией кафедры урологии, г. Лейпциг, Германия;

ПОЛЕВЩИКОВ Александр Витальевич, д.б.н., профессор, заведующий отделом иммунологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

РЕЙМЮЛЛЕР Райнер, д.м.н., профессор, Медицинский университет, кафедра радиологии, Грац, Австрия;

РОДИН Сергей Александрович, д.б.н., профессор, старший научный сотрудник отделения хирургических наук Университета г. Уппсала, Уппсала, Швеция;

РОЩЕВСКИЙ Михаил Павлович, д.м.н., профессор, академик РАН, отдел сравнительной кардиологии Коми НИЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия;

ТИМАНН Маркус, д.м.н., профессор, Институт гематопатологии, г. Гамбург, Германия;

ФАТХУДИНОВ Тимур Хайсамудинович, д.м.н., профессор, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

ХАВИНСОН Владимир Хацкелевич, д.м.н., профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;

ХЕ Джи, д.м.н., профессор, Онкологический институт и больница, Китайская академия медицинских наук и Медицинский колледж Пекинского союза, Пекин, Китай.

RUDN University



RUDN JOURNAL OF MEDICINE

2022 Volume 26 No. 3

Theme of the issue: PHYSIOLOGY OF STRESS INFLUENCES

DOI: 10.22363/2313-0245-2022-26-3

<http://journals.rudn.ru/medicine>

Founded in 1997

Founder: Peoples' Friendship University of Russia

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Zhanna D. KOBALAVA, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Executive Secretary

Svetlana V. GURYANOVA, Ph.D., Associate Professor, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

Members of Editorial Board

Aleksey Y. ABRAMOV, MD, Professor, Director of the Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Mubacel AKDIS, MD, Professor, Research Institute for Allergy and Asthma, Davos, Switzerland;

Vladimir N. ANISIMOV, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Carcinogenesis and Oncogerontology and the Laboratory of Carcinogenesis and Aging of the Research Institute of Oncology n.a. N.N. Petrov, St. Petersburg, Russia;

Madina M. AZOVA, D. Sc., Professor, Department of Biology and General Genetics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Sami BAHNA, MD, Professor, University of Louisiana, Shreveport, USA;

Mikhail L. BLAGONRAVOV, MD, Professor, Frolov Department of General Pathology and Pathological Physiology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Ilya M. BYKOV, MD, Professor, Head of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia;

Walter CANONICA, MD, Professor, Director of the Center for Personalized Medicine at the Research Hospital Humanitas IRCCS, Rozzano, Milan, Italy

Adnan CUSTOVIC, MD, Professor, Imperial College of London, London, Great Britain;

Sergey M. DEEV, D. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

Oksana M. DRAPKINA, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Moscow, Russia;

Anatoly V. EFREMOV, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Pathological Physiology and Clinical Pathophysiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

Andrey V. E LCHANINOV, MD, Professor, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia;

Timur Kh. FATKHUDINOV, MD, Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Alexander G. GABIBOV, D. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

Jie HE, MD, Professor, Cancer Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, China

Jochen NEUHAUS, PhD, Professor, University of Leipzig, Head of Research Laboratory, Department of Urology, Leipzig, Germany

Vladimir Kh. KHAVINSON, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology RAS, St. Petersburg, Russia;

Andrei A. KOSTIN, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Urology with courses oncology, radiology and andrology, the Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Bela MERKELY, MD, PhD, Professor and Chairman of Heart and Vascular Center, Rector of the University of Semmelweis, Budapest, Hungary;

Yakov NAPARSTEK, MD, Professor, Director of the Hadassah Center for Clinical Immunology and Rheumatology at the Hadassah University Medical Center, Jerusalem, Israel;

Alexander V. POLEVSHCHIKOV, D.Sc, Professor, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

Rainer RIENMUELLER, MD, Professor Medical University, Department of Radiology, Graz, Austria;

Sergey A. RODIN, PhD, Professor, Senior Researcher, Department of Surgical Sciences, Uppsala. University, Uppsala, Sweden;

Mikhail P. ROSHCHEVSKY, MD, Professor, RAS Academician, Comparative Cardiology Department, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia;

Markus TIEMANN, MD, Professor, Institute of Hematopathology, Hamburg, German;

Rudolph VALENTA, MD, Professor MD, Medical University of Vienna, Vienna, Austria;

Nikolai P. VESELKIN, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Laboratory 9, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, St. Petersburg, Russia;

Alexander VUKSANOVICH, MD, Professor, Professor of the Medical Faculty of the University, Belgrade, Serbia.

Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: МЕДИЦИНА

ISSN 2313-0261 (online); 2313-0245 (print)

Периодичность: 4 выпуска в год (ежеквартально).

Входит в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ.

Языки: русский, английский.

Материалы журнала размещаются на платформе РИНЦ Российской научной электронной библиотеки, Научная электронная библиотека КиберЛенинка, Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCOhost.

Цели, задачи и тематика журнала

Научный рецензируемый медицинский журнал «Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина» выходит ежеквартально с 1997 года.

Цель журнала – интегрировать результаты научных исследований и богатый опыт отечественных и зарубежных специалистов в области клинической медицины и медико-биологических проблем, в первую очередь в области онкологии, физиологии и нейробиологии, аллергологии и иммунологии, медицинской генетики и микробиологии, инфекционных болезней.

Каждый выпуск является тематическим. Тематика каждого выпуска объявляется заранее. Для публикаций принимаются оригинальные статьи, обзоры, а также описание клинических случаев и современных методов диагностики.

Публикации в журнале принимаются по отдельности как на русском или английском языках, так и на двух языках одновременно.

Авторы должны гарантировать, что статья не была опубликована раньше, в том числе частично и на других языках, и не находится на рассмотрении в других научных журналах.

Журнал ориентирован на ученых и преподавателей, аспирантов и молодых ученых, практических врачей, ведущих поисковые работы по разработке новых и по усовершенствованию существующих профилактических, диагностических, лечебных и реабилитационных методов.

На основании решения ВАК Министерства образования и науки РФ журнал входит в «Перечень периодических изданий, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук».

Редакционная коллегия журнала приглашает к сотрудничеству ученых и научные коллективы по подготовке специальных тематических выпусков журнала: <http://journals.rudn.ru/medicine/announcement/view/327>

Электронный адрес: medj@rudn.ru

Литературный редактор: К.В. Зенкин
Компьютерная верстка: М.В. Рогова

Адрес издательства:
115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3
Тел.: (495) 955-07-16; e-mail: publishing@rudn.ru

Почтовый адрес редакции
ул. Миклухо-Маклая, д. 8, Москва, Россия, 117198
Тел.: +7 (910) 465-15-37
e-mail: medj@rudn.ru

Подписано в печать 20.09.2022. Выход в свет 29.09.2022. Формат 70×100/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Tinos, Roboto».
Усл. печ. л. 11,5. Тираж 500 экз. Заказ № 821. Цена свободная.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский университет дружбы народов» (РУДН)
117198, Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
Отпечатано в типографии ИПК РУДН
115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3,
тел. +7 (495) 952-04-41; publishing@rudn.ru

RUDN Journal of Medicine

ISSN 2313-0261 (online); 2313-0245 (print)

Publication frequency: 4 issues per year (quarterly)

Included in the list of peer-reviewed scientific publications of the higher attestation Commission of the Russian Federation.

Languages: Russian, English.

The journal articles are posted at databases: Russian Index of Science Citation, Electronic Journals Library Cyberleninka, Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCOhost.

Aim, tasks and topics of the journal

The “RUDN JOURNAL OF MEDICINE” is a quarterly journal that publishes peer-reviewed medical research papers since 1997.

A major goal of the journal is to integrate the results of basic and clinical research and rich experience of domestic and foreign experts in the field of clinical medicine and biomedical problems. Primary areas covered range from oncology, physiology and neurobiology, allergology and immunology, to medical genetics and microbiology, as well as infectious diseases.

Each issue is devoted to a specific medical topic that is announced in advance. We accept original research including important new tools and techniques, reviews, and clinical cases.

Papers may be submitted in Russian and/or English.

Authors must ensure that the article was not published elsewhere before, either as a whole or in part, in Russian or other languages. They should also guarantee that the paper submitted is not under consideration in other scientific journals.

The journal is intended for researchers, lecturers, graduate students and young scientists, practitioners who do research to develop new and improve existing preventive, diagnostic, therapeutic and rehabilitation methods.

The Editorial Board of the journal encourages individual researches and research teams to collaborate in preparing issues devoted to specific topics: <http://journals.rudn.ru/medicine/announcement/view/327>

Contact e-mail: medj@rudn.ru

Review editor *K.V. Zenkin*
Computer design *M.V. Rogova*

Address of the Publishing House

3 Ordzhonikidze str., 115419 Moscow, Russian Federation
Ph. +7 (495) 952-04-41
e-mail: publishing@rudn.ru

Postal Address of the Editorial Board:

Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198
Ph. +7 (495) 434-70-07; e-mail: medj@rudn.ru

Printing run 500 copies. Open price.

Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)
6 Miklukho-Maklaya str., 117198 Moscow, Russian Federation

Printed at RUDN Publishing House:

3 Ordzhonikidze str., 115419 Moscow, Russian Federation,
Ph. +7 (495) 952-04-41; e-mail: publishing@rudn.ru

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕМА НОМЕРА: ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

- Эльбекьян К.С., Маркарова Е.В., Унанян Л.С., Дискаева Е.И., Первушин Ю.В., Биджиева Ф.А.**
Сукцинатдегидрогеназа как новая мишень для связывания мелатонина в комплексном лечении сахарного диабета 221
- Самотруева М.А., Ажикова А.К.**
Морфологические особенности супраоптического ядра гипоталамуса в динамике ожоговой травмы кожи.... 232
- Guseynov N.A., Hammouri M.H., Muraev A.A., Ivanov S.Y., Lukianova E.A., Klimenko A.S., Noerazlighi M.A.**
Local hardware hypothermia influence on the physiological processes (Влияние локальной аппаратной гипотермии на физиологические процессы организма)..... 243
- Kemoklidze K.G., Tyumina N.A.**
Rat adrenal medulla modular organization (Модульная организация мозгового вещества надпочечника крысы) 259
- Ажикова А.К., Самотруева М.А.**
Интенсивность окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса крыс при ожоговом повреждении кожи 274
- Лёвочкина Э.Д., Беляев Н.Г., Батурин В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В., Смышнов К.М., Писков С.И.**
Прогностическое значение аутоантител к белкам кардиомиоцитов в диагностике хронического физического перенапряжения..... 289

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ

- Abramov A.Yu., Koshkina E.A., Kicha D.I., Alekseyenko A.O.**
Drug dependence analysis in young adults living in Moscow and across Russia for the years 2010–2020 (Анализ наркологической ситуации среди подростков Москвы и России за 2010–2020 годы) 304
- Kostin A.A., Abramov A.Yu., Tsvetkov A.I., Kicha D.I., Rukodaynyy O.V., Goloshchapov-Aksenov R.S.**
Development and application experience of the clinical and organizational management algorithm for tuberculosis medical care at the regional level (Опыт разработки и применения алгоритма клинично-организационного управления при туберкулезе на региональном уровне)..... 316

АНАТОМИЯ. ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

- Кондратюк Р.Б., Греков И.С., Селезнёв Е.А.**
Влияние микроокружения на развитие эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке легкого 325
- Chawla M., Sinsinwar P., Mishra A., Sorout J., Rao A.**
Suprascapular notch morphometric study (Морфометрическое исследование лопаточной вырезки)..... 338

CONTENTS

THEME OF THE ISSUE: PHYSIOLOGY OF STRESS INFLUENCES

- Elbekyan K.S., Markarova E.V., Unanyan L.S., Diskaeva E.I., Pervushin Yu.V., Bidzhieva F.A.**
Succinate dehydrogenase as a new target for melatonin binding in the complex diabetes mellitus treatment 221
- Samotrueva M.A., Azhikova A.K.**
Supraoptic nucleus morphological features of the hypothalamus in the skin burn injury dynamics 232
- Guseynov N.A., Hammouri M.H., Muraev A.A., Ivanov S.Y., Lukianova E.A., Klimenko A.S., Noerazlighi M.A.**
Local hardware hypothermia influence on the physiological processes 243
- Kemoklidze K.G., Tyumina N.A.**
Rat adrenal medulla modular organization 259
- Azhikova A.K., Samotrueva M.A.**
Redox intensity and psychoemotional status of rats in burn skin injury 274
- Levochkina E.D., Belyaev N.G., Baturin V.A., Rzhepakovsky I.V., Abasova T.V., Smyshnov K.M., Piskov S.I.**
Prognostic value of autoantibodies to cardiomyocyte proteins in the diagnosis of chronic physical overexertion .. 289

HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

- Abramov A.Yu., Koshkina E.A., Kicha D.I., Alekseyenko A.O.**
Drug dependence analysis in young adults living in Moscow and across Russia for the years 2010–2020 304
- Kostin A.A., Abramov A.Yu., Tsvetkov A.I., Kicha D.I., Rukodaynyy O.V., Goloshchapov-Aksenov R.S.**
Development and application experience of the clinical and organizational management algorithm for tuberculosis medical care at the regional level..... 316

ANATOMY. PATHOLOGICAL ANATOMY

- Kondratyuk R.B., Grekov I.S., Seleznev E.A.**
Microenvironment influence on the development of epithelial-mesenchymal transformation in lung cancer..... 325
- Chawla M., Sinsinwar P., Mishra A., Sorout J., Rao A.**
Suprascapular notch morphometric study..... 338

ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ PHYSIOLOGY OF STRESS INFLUENCES

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-221-231


ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Сукцинатдегидрогеназа как новая мишень для связывания мелатонина в комплексном лечении сахарного диабета

К.С. Эльбекьян¹  , Е.В. Маркарова¹, Л.С. Унанян² ,

Е.И. Дискаева¹ , Ю.В. Первушин¹, Ф.А. Биджиева¹

¹Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

²Российско-Армянский университет, Институт биомедицины и фармации,
лаборатория структурной биоинформатики, г. Ереван, Армения
 karinasgma@inbox.ru

Аннотация. *Актуальность.* Аллоксан, разрушая β -клетки поджелудочной железы, провоцирует гипергликемию, что становится причиной гипоэнергетического состояния. В патогенезе диабета важную роль играет дисфункция митохондриальной сукцинатдегидрогеназы. Фармакотерапия сахарного диабета была и остается предметом многочисленных исследований. В последнее время внимание исследователей все чаще привлекает гормон шишковидной железы — мелатонин, благодаря своим биологическим и фармакологическим свойствам. *Целью исследования* являлось изучение влияния мелатонина на активность сукцинатдегидрогеназы как новой мишени при экспериментальном аллоксан-индуцированном сахарном диабете. *Материалы и методы.* Исследования проводили на самцах крыс линии Wistar массой 120—150 г, которые содержались на стандартной диете. Животные были разделены на 4 группы. Контрольной группе вводили физиологический раствор, второй группе вводили мелатонин в дозе 1 мг/кг ежедневно в течение 14 дней, экспериментальный диабет у животных моделировали внутрибрюшинным введением аллоксана в дозе 150 мг/кг диабетом. Четвертая группа животных получала мелатонин на фоне аллоксана. Активность сукцинатдегидрогеназы определяли в тканях печени и поджелудочной железы фотометрическим методом. Для проведения докинг-анализа использовались пакеты программ AutoDock Vina и AutoDock Tools. *Результаты и обсуждение.* Согласно полученным результатам под влиянием аллоксана в активности СДГ печени и поджелудочной железе возникают реципрокные отношения. Аллоксан вызывает увеличение активности СДГ в печени в 1,9 раза, а в ткани подже-

© Эльбекьян К.С., Маркарова Е.В., Унанян Л.С., Дискаева Е.И., Первушин Ю.В., Биджиева Ф.А., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

лудочной железы наблюдается достоверное снижение в 5 раз. Использование же мелатонина для животных с аллоксановым диабетом привело к снижению активности сукцинатдегидрогеназы в печени в полтора раза в сравнении с показателями крыс с аллоксановым диабетом. В поджелудочной железе, наоборот, активность фермента повышалась в 3,3 раза, что может указывать на восстановление функции β -клеток Лангерганса. **Выводы.** Мелатонин, блокируя домен А сукцинатдегидрогеназы, снижает гиперактивность фермента в печени, а в поджелудочной железе через свои специфические рецепторы (MP1 и MP2), присутствующие на поверхности мембран β - и α -клеток, оказывает прямое вмешательство в функцию клеточных элементов островков Лангерганса, восстанавливая их.

Ключевые слова: сахарный диабет, мелатонин, сукцинатдегидрогеназа, СДГ, молекулярный докинг

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов. Эльбекьян К.С., Первушин Ю.В. — концепция и дизайн исследования; Унанян Л.С., Маркарова Е.В. — сбор и обработка материалов; Эльбекьян К.С., Унанян Л.С., Первушин Ю.В., Маркарова Е.В., Дискаева Е.И., Биджиева Ф.А. — анализ полученных данных, написание текста. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение. Работа с животными осуществлялась в соответствии с положениями Хельсинкской декларации о гуманном отношении к лабораторным животным (1964—2013).





Благодарности — неприменимо.


Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 26.04.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Эльбекьян К.С., Маркарова Е.В., Унанян Л.С., Дискаева Е.И., Первушин Ю.В., Биджиева Ф.А. Сукцинатдегидрогеназа как новая мишень для связывания мелатонина в комплексном лечении сахарного диабета // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 221—231. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-221-231

Succinate dehydrogenase as a new target for melatonin binding in the complex diabetes mellitus treatment

Karine S. Elbekyan¹  , Evgenia V. Markarova¹, Lernik S. Unanyan² ,
Elena I. Diskaeva¹ , Yurii V. Pervushin¹, Fatima A. Bidzhieva¹

¹Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation
²Russian-Armenian University, Institute of Biomedicine and Pharmacy,
Laboratory of Structural Bioinformatics, Yerevan, Armenia
 karinasgma@inbox.ru

Abstract. Relevance. Alloxan, destroying the beta cells of the pancreas, provokes hyperglycemia, which causes a hypoenergetic state. Mitochondrial succinate dehydrogenase dysfunction plays an important role in the pathogenesis of diabetes. Pharmacotherapy of diabetes mellitus has been and remains the subject of numerous studies. Recently, the attention of researchers is increasingly attracted

by the hormone of the pineal gland — melatonin, due to its biological and pharmacological properties. *The aim of the study* was to study the effect of melatonin on the activity of succinate dehydrogenase as a new target in experimental alloxan-induced diabetes mellitus. *Materials and methods*. The studies were carried out on male Wistar rats, with an average mass of 120—150 g, which were kept on a standard diet. The animals were divided into 4 groups. The control group was injected with saline solution, the second group was injected with melatonin at a dose of 1 mg/kg daily for 14 days, experimental diabetes in animals was simulated by intraperitoneal administration of alloxan at a dose of 150 mg/kg with diabetes. The fourth group of animals received melatonin on the background of alloxan. Succinate dehydrogenase activity was determined in liver and pancreatic tissues by photometric method. For the docking analysis, the AutoDock Vina and AutoDock Tools software packages were used. *Results and Discussion*. According to the results obtained, reciprocal relationships arise under the influence of alloxan in the activity of SDH in the liver and pancreas. Alloxan causes an increase in the activity of SDH in the liver by 1.9 times, and in the pancreatic tissue there is a significant decrease — by 5 times. The use of melatonin for animals with alloxan diabetes led to a decrease in the activity of succinate dehydrogenase in the liver by one and a half times in comparison with the indicators of rats with alloxan diabetes. In the pancreas, on the contrary, the activity of the enzyme increased by 3.3 times, which may indicate the restoration of the function of Langerhans beta cells. *Conclusion*. Melatonin blocking succinate dehydrogenase domain A reduces the hyperactivity of the enzyme in the liver, and in the pancreas through its specific receptors (MR1 and MR2) present on the surface of the membranes of β - and α -cells directly interferes with the function of the cellular elements of the islets of Langerhans, restoring them.

Keywords: diabetes, melatonin, succinate dehydrogenase (SDH), molecular docking.

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

Author contributions. K.S. Elbekyan, Yu.V. Pervushin — concept and design of the study; L.S. Unanyan, E.V. Markarova — collection and processing of materials; K.S. Elbekyan, L.S. Unanyan, Yu.V. Pervushin, E.V. Markarova, E.I. Diskaeva, F.A. Bidzhieva — analysis of the received data, writing the text. All authors have made significant contributions to the manuscript writing, read and approved final version before publication.

Conflicts of interest statement. Authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. Work with animals was carried out in accordance with the recommendations of the Declaration of Helsinki on the Humane Treatment of Laboratory Animals (1964—2013).

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 26.04.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Elbekyan KS, Markarova EV, Unanyan LS, Diskaeva EI, Pervushin YuV, Bidzhieva FA. Succinate dehydrogenase as a new target for melatonin binding in the complex diabetes mellitus treatment. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):221—231. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-221-231

Введение

Сахарный диабет продолжает оставаться актуальной проблемой современного здравоохранения. В связи с широким распространением заболевания за последние несколько десятилетий необходимо принимать меры, направленные на решение тех амфиболических путей, которые возникают на метаболических перекрестках [1]. Согласно литературным данным на сегодняшний день изучение сахарного

диабета ведется по различным направлениям, одним из которых является изучение образования активных форм кислорода [1—4].

На сегодняшний день накоплено достаточное количество экспериментальных и клинических данных, подчеркивающих также тесную связь между энергетическими и обменными нарушениями [5]. В свете этих суждений изучение митохондриальных ферментов играет особую роль. Для оценки вклада

сдвигов в энергетическом обмене, при описании характера протекания болезни, была проведена оценка показателей активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в печени и поджелудочной железе.

СДГ является уникальным ферментом. С одной стороны, принимая участие в цикле трикарбоновых кислот, в ходе которой осуществляется прямой перенос водорода с субстрата на флавопротеин без участия НАД, с другой стороны, фермент локализован на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий, где участвует в передаче восстановленных эквивалентов дыхательной цепи на уровне убихинона [6]. Однако в современной литературе имеется ограниченное количество работ, изучающих сдвиги в активности СДГ с изменением биоэнергетики клетки при сахарном диабете. С другой стороны, рациональная фармакотерапия сахарного диабета была и остается предметом многочисленных научных и клинических исследований. По мнению ряда авторов, наиболее перспективным по биологическим и фармакологическим свойствам является гормон шишковидной железы — мелатонин. Возможно, это объясняется, с одной стороны, способностью гормона регулировать функции многих органов и систем организма, а с другой — проявлением универсальных терапевтических свойств самим мелатонином. Существующие в литературе экспериментальные данные свидетельствуют о том, что мелатонин способен успешно инактивировать свободные радикалы кислорода, азота, ограничивать процессы перекисного окисления липидов и нормализовать окислительно-восстановительное состояние клетки при сахарном диабете [7, 8]. Есть огромное количество работ, подтверждающих, что мелатонин способен повысить антиоксидантный статус организма в целом, обладая адаптогенным, иммуномодуляторным [8] и другими эффектами.

Сегодня в клинической практике мелатонин не применяется в лечении сахарного диабета. Однако, из выше изложенного, вытекает актуальность исследования возможности применения мелатонина в качестве нового терапевтического направления при лечении сахарного диабета.

Цель данного исследования заключалась в изучении влияния мелатонина на активность сукцинатдегидрогеназы как новой мишени при экспериментальном аллоксан-индуцированном сахарном диабете.

Материалы и методы

Исследования проводили на самцах крыс линии Вистар с массой тела 120—150 г, которые находились на стандартной диете в условиях вивария Центра экспериментального моделирования научно-инновационного объединения Ставропольского государственного медицинского университета. Изучали четыре группы животных в каждой по 10 особей (самцы массой 150—160 г). Все эксперименты выполнены в соответствии с Женевской конвенции “International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals” (Geneva, 1990), а также Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении человека к животным (редакция 2000 г.) [8]. Исследования одобрены этическим комитетом Ставропольского государственного медицинского университета (протокол № 91 от 30.09.2020 г.).

Первая группа — контрольная группа (физиологический раствор), вторая группа — животные с аллоксаном (150 мг/кг) диабетом (ДИАЭМ, Россия), третьей группе вводили мелатонин (China) в дозе 1 мг/кг. Четвертая группа животных получала мелатонин на фоне аллоксана. Взаимодействие мелатонина и СДГ устанавливали с помощью молекулярного докинга. Для проведения докинг анализа использовались пакеты программ AutoDock Vina и AutoDock Tools.

Течение заболевания мониторировали по клиническим симптомам (снижение веса, полиурия, полидипсия) и по количеству глюкозы в крови.

Активность сукцинатдегидрогеназы определяли в тканях печени и поджелудочной железы фотометрически (UNICO-2100, USA) при длине волны 420 нм [10].

Для проведения докинг анализа использовались пакеты программ AutoDock Vina и AutoDock

Tools [11]. Пятикратная повторяемость двадцати начальных конформаций для каждого соединения, с объемом виртуального бокса, не более 27000 Å, что подтверждает достоверность результатов докинга [1]. Величину континуума исчислений приняли равной 500. Созданная нами программа на основе алгоритма FOREL в среде Python [12] позволяла провести процесс кластеризации и визуализации результатов докинг анализа. Проводился с использованием программы, созданной нами на основе алгоритма.

Константа связывания мелатонина и сукцинат-дегидрогеназы со своими мишенями определялась уравнением:

$$\Delta G_{exp} = -RT \ln \left(\frac{1}{K} \right),$$

где ΔG — энергия Гиббса; R — универсальная газовая постоянная; T — абсолютная температура; K — константа связывания.

Статистическая обработка результатов экспериментального исследования была проведена с помощью программного пакета Statistica 12. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Q_1 и Q_3). Две независимые группы сравнивались с помощью U-критерия Манна — Уитни, три и более с помощью рангового анализа вариаций по Краскелу — Уоллису с последующим парным сравнением групп тестом Манна — Уитни с применением поправки Бонферрони при оценке значения. Различия считали статистически значимыми при.

Результаты и их обсуждение

Для создания модели сахарного диабета в наших экспериментах был использован аллоксан. Проявление клинической картины позволяет предположить, что аллоксан в дозе 150 мг/кг приводит к развитию экспериментального диабета (Таб. 1).

Интегральные показатели состояния животных и содержания глюкозы в крови у здоровых крыс и с экспериментальным диабетом (n = 10, Me (Q1/Q3))

Таблица 1.

Параметр	Масса тела, г	Потребление воды, мл/сут	Диурез мл/сут	Глюкоза, ммоль/л
Контрольная группа	192 188/200	14 13.5/19	10 6/15	4,4 4,1/4,9
Аллоксан (150 мг/кг)	149* 145/159	29* 25/35	36.5* 34/40	6,88* 6,79/6,93

Примечание: * — статистически значимые отличия группы А от группы 1 ($p < 0,05$)

Integral indicators of animal health and blood glucose of normal rats and experimental diabetes (n = 10, (Me (Q1/Q3))

Table 1.

Parameter	body weight	water consumption, ml/day	Diuresis ml/day	Glucose mmol / l
Control group animals	192 188/200	14 13.5/19	10 6/15	4,4 4.1/4.9
Alloxan (150 mg/kg)	149* 145/159	29* 25/35	36.5* 34/40	6,88* 6.79/6.93

Note: * — statistically significant differences between Group A and Group 1 ($p < 0,05$)

Внутрибрюшинное введение аллоксана и мелатонина привело к изменению активности СДГ как в печени, так и в поджелудочной железе (Рис. 1).

Введение токсина способствовало повышению активности фермента в гомогенате печени до 0,75 нмоль/мг белка (в сравнении с данными контрольной группы крыс — 0,4 нмоль/мг белка,

$p < 0,05$). При изучении активности СДГ в ткани поджелудочной железы после введения аллоксана регистрировался выраженный спад активности фермента (0,12 нмоль/мг белка, у крыс в контроле — 0,6 нмоль/мг белка, $p < 0,05$), что может провоцировать падение интенсивности работы цикла Кребса в результате гибели β — клеток Лангерганса.

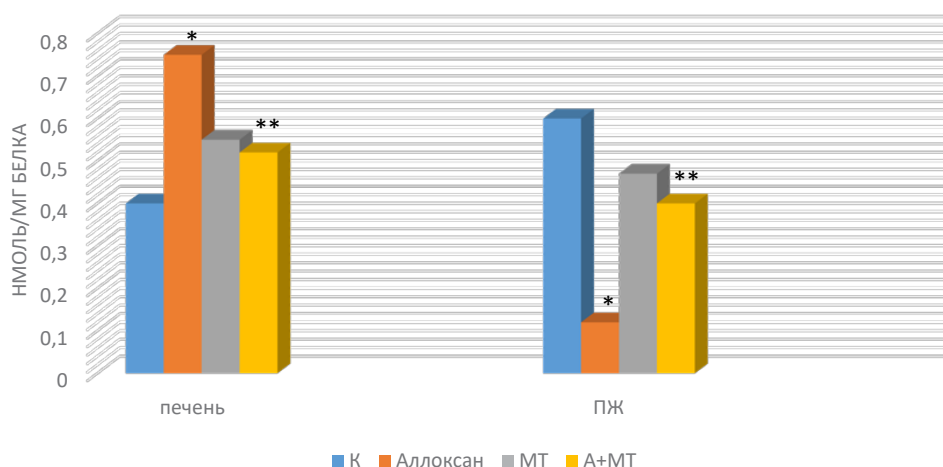


Рис.1. Изменение активности фермента сукцинатдегидрогеназы при введении аллоксана и мелатонина

* – статистически значимые отличия от показателя контрольной группы ($p < 0,05$)

** – статистически значимые отличия ($p < 0,01$) между показателями группы М+А в сравнении группой А

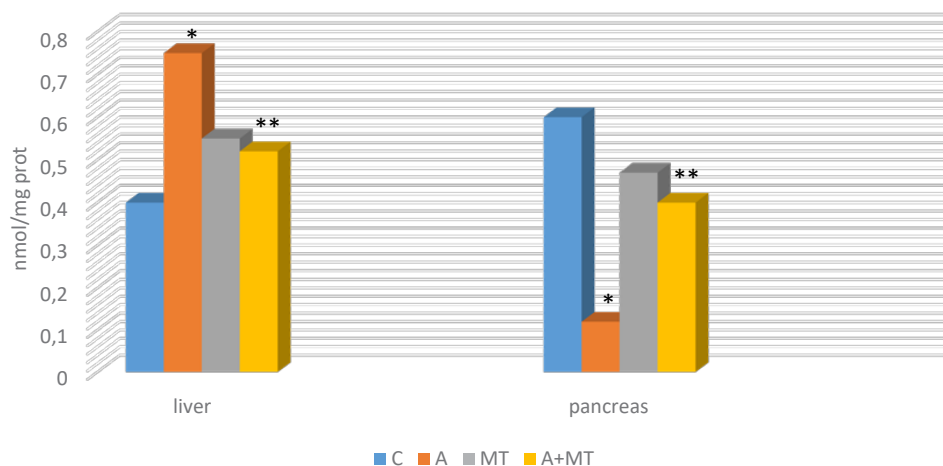


Fig.1. Change in the activity of the enzyme succinate dehydrogenase with the introduction of alloxan and melatonin

* – statistically significant differences from the indicator of the control group ($p < 0.05$)

** – statistically significant differences ($p < 0.01$) between the indicators of the M+A group in comparison with the group A

В группе животных, которым вводили только мелатонин в дозе 1 мг/кг в вечернее время суток, активность СДГ и в ткани печени, и в поджелудочной железе соответствовала средним значениям контрольной группы. Использование же мелатонина для животных с аллоксановым диабетом привело к снижению ($p < 0,01$) активности сукцинатдегидрогеназы в печени до 0,5 нмоль/мг белка в сравнении с показателями крыс с аллоксановым диабетом (0,75 нмоль/мг белка). В поджелудочной железе, наоборот, активность фермента повышалась с 0,12 нмоль/мг до 0,4 нмоль/мг белка, что может указывать на восстановление функции β -клеток Лангерганса.

Таким образом, согласно полученным результатам под влиянием аллоксана в активности СДГ печени и поджелудочной железе возникают реципрокные отношения. Аллоксан вызывает резкое увеличение активности СДГ в печени, а в ткани поджелудочной железы наблюдается достоверное снижение. Если учитывать, что концентрация АТФ способна регулировать высвобождение инсулина β -клетками поджелудочной железы, то нарушение их целостности способно привести к разобщению процессов окислительного фосфорилирования, что

может способствовать синтезу концентрации АТФ ниже порогового. Следствием этого может являться нарушение процесса высвобождения инсулина и развития диабета [6].

С другой стороны, повышение активности фермента в тканях печени крыс указывает на ускорение функционирования цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). Возможно, что такая активация цикла Кребса в условиях токсического действия аллоксана необходима для адаптации клеточного метаболизма в гепатоцитах.

С помощью молекулярного докинга нам впервые удалось установить взаимодействие мелатонина и СДГ.

СДГ представляет собой гетеротетрамерный мембранно-протеиновый комплекс, у которого ключевую роль в процессе метаболизма играет субъединица А, где формируется основной каталитический центр — FAD (флавин-адениндинуклеотид) домен, обеспечивающий цепь переноса электронов Fe-S.

Результаты докинг-анализа показывают связывание мелатонина в каталитическом домене SDHA (Рис. 2). Кластерный анализ полученных мест связывания мелатонина с субъединицей SDHA указывает, что все полученные конформеры формируют единый кластер, с отклонением $\leq 0,04$ нм друг относительно друга.

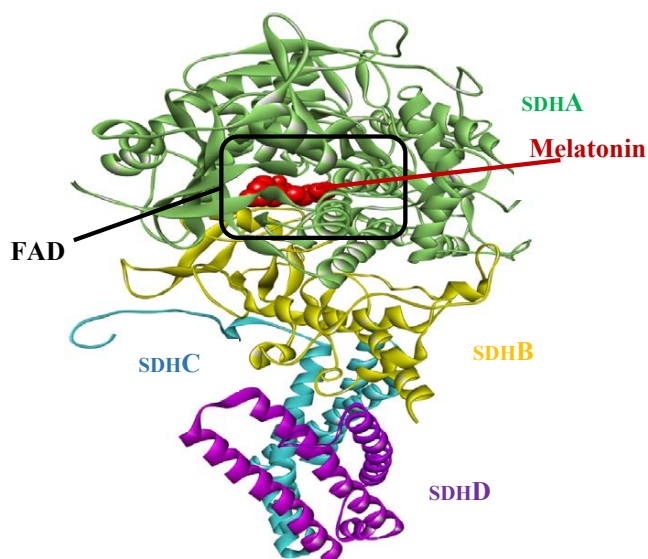


Рис. 2. Расположение молекулы мелатонина в FAD домене цепи SDHA
Fig. 2. Location of the melatonin molecule in the FAD domain of the SDHA chain

Конформационная карта взаимодействия мелатонина с сукцинатдегидрогеназой была построена на основе величин свободной энергии Гиббса ккал/моль и константы связывания комплексообразования равной (при среднеквадратическом отклонении $\leq 0,2$ нм). Результаты анализа подтверждают, что при комплексообразовании вовлекаются аминокислотные остатки, образующие FAD домен (Рис. 3А) за счет водородных и Ван-дер-Ваальсовых сил (Рис. 3В). Первая водородная связь установлена между карбонильной группой Тир 202 и аминогруппой пентозного кольца мелатонина с дистанци-

ей 2,11 Å. Вторая водородная связь образовывалась между карбоксильной группой фенольного кольца мелатонина и цианогруппой Gly14 с расстоянием 3,51 Å [1].

Наблюдались также единичные гидрофобные взаимодействия с Lys 38. Необходимо отметить, что мелатонин практически блокирует каталитический домен, о чем свидетельствует полученная карта энергетической оболочки мелатонина и сопряженных аминокислотных остатков, вовлеченных в комплексообразование (Рис. 4).

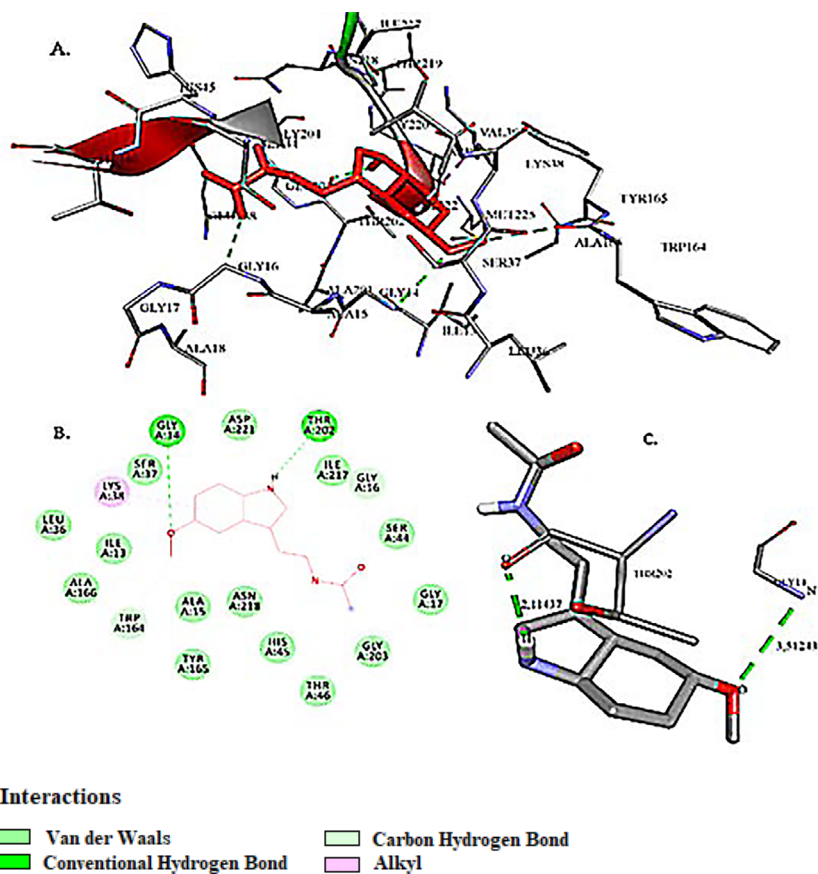


Рис. 3. Визуализация взаимодействия мелатонина в каталитическом центре сукцинатдегидрогеназы. (А) пространственное расположение мелатонина (мелатонин обозначен красным цветом); (В) конформационная карта комплексообразования; (С) наблюдаемые водородные связи

Fig.3. Visualization of melatonin interaction in the catalytic center of succinate dehydrogenase. (A) spatial location of melatonin (melatonin is indicated in red); (B) conformational map of complexation; (C) observed hydrogen bonds

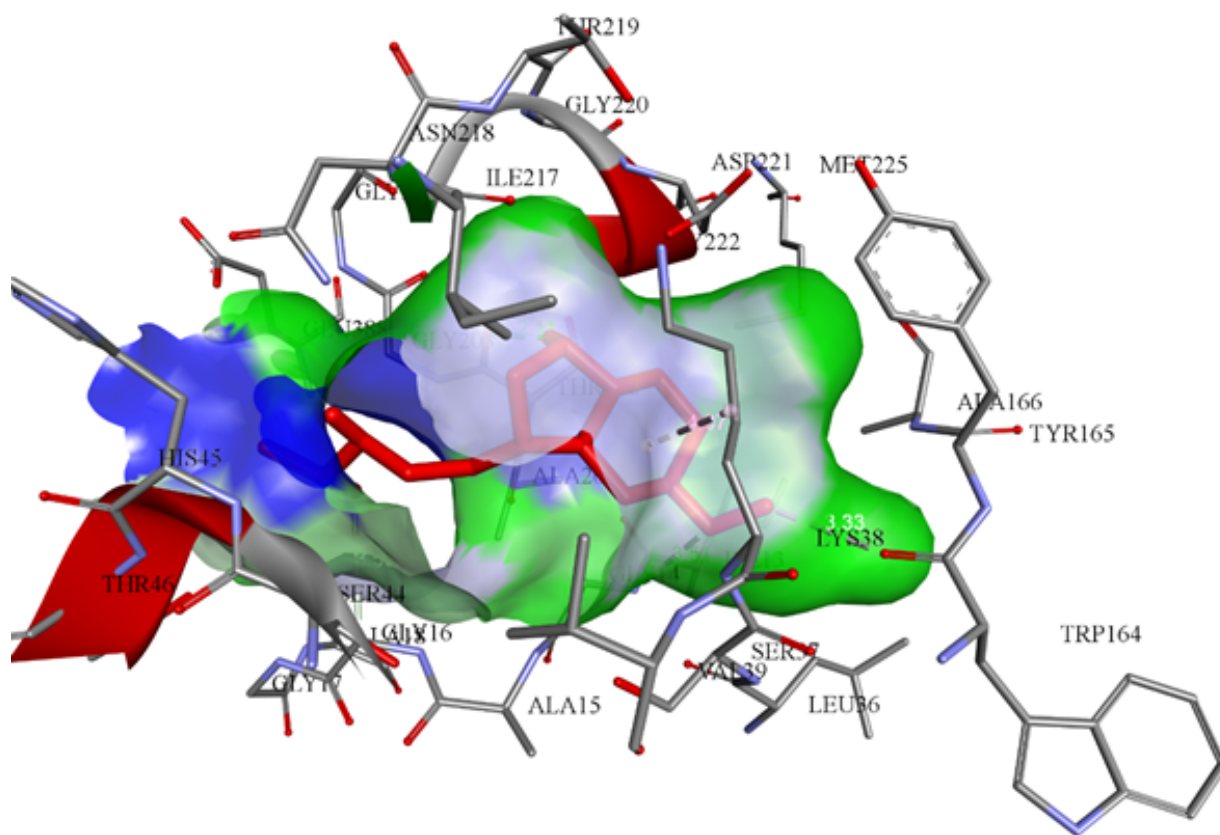


Рис. 4. Визуализация энергетической оболочки мелатонина в FAD домене SDHA субъединицы (мелатонин обозначен красным цветом)

Fig. 4. Visualization of the melatonin energy envelope in the FAD domain of the SDHA subunit (melatonin is indicated in red)

Анализ взаимодействия гормона в каталитическом центре фермента, а также пространственное расположение мелатонина и ее конформационная карта комплексообразования позволили прийти к выводу о том, что мелатонин приводит к блокированию каталитического домена А субъединицы сукцинатдегидрогеназы.

Заключение

Резюмируя полученные нами данные, можно утверждать, что адаптация организма к условиям аллоксанового диабета осуществляется на нескольких уровнях. Аллоксан, разрушая β-клетки поджелудочной железы, разобщает процесс окислительного

фосфорилирования, клетки поджелудочной железы не способны к созданию пороговой концентрации АТФ. Возникшее гипоэнергетическое состояние способствует нарушению процесса высвобождения инсулина, что в дальнейшем приводит к развитию гипергликемии. С другой стороны, в печени при компенсации гипоэнергетического состояния наблюдается активация так называемого гена ChREBP (белок, связывающий элемент углеводного обмена), являющегося фактором транскрипции, реагирующим на глюкозу [13—16]. Данный белок имеет 5 доменов, реагирующих на глюкозу. Если содержание глюкозы низкое, то активируются 1—4 домены. Гипергликемия способствует активации домена MRC5, который дефосфорилирует белок ChREBP

и способствует транслокации в ядро клетки. Под влиянием этого белка активируются гены, кодирующие гликолитические ферменты, которые играют роль в регуляции метаболического и энергетического гомеостаза. К таким генам относится и ген сукцинатдегидрогеназы [17—21]. Последняя, являясь единственным ферментом, участвующим и в ЦТК и в ЦПЭ, способствует энергизации метаболизма. Стимуляция активности сукцинатдегидрогеназы в печени крыс указывает на активацию цикла Кребса в гепатоцитах в условиях аллоксанового, что необходимо для усиления поставок НАДН. Мелатонин, благодаря своим плейотропным свойствам, блокируя домен А сукцинатдегидрогеназы, способствует снижению гиперактивности фермента в печени. В поджелудочной железе через свои специфические рецепторы (MP1 и MP2), присутствующие на поверхности мембран β - и α -клеток как грызунов, так и человека, гормон оказывает прямое вмешательство в функцию клеточных элементов островков Лангерганса, восстанавливает их [8].

Библиографический список

1. Биджиева Ф.А. Особенности течения экспериментального аллоксан-индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции. Диссертация на соискание кандидата медицинских наук: 1.5.4. Ставрополь. 2021. 24 с.
2. Lee H., Jose P.A. Coordinated Contribution of NADPH Oxidase- and Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species in Metabolic Syndrome and Its Implication in Renal Dysfunction // *Front Pharmacol.* 2021. № 12. P. 670076. doi: 10.3389/fphar.2021.670076
3. Pitocco D., Francesco Zaccardi, Enrico Di Stasio, Federica Romitelli, Stefano A Santini, Cecilia Zuppi, Giovanni Ghirlanda. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud.* // 2010. V. 7. № 1. P. 15—25. doi: 10.1900/RDS.2010.7.15
4. Гриненко Т.Н., Баллюзек М.Ф., Кветная Т.В. Мелатонин как маркер выраженности структурно-функциональных изменений сердца и сосудов при метаболическом синдроме // *Клиническая медицина.* 2012. № 2. С. 30—34.
5. Koliaki C., Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *MolCellEndocrinol.* 2013. V. 379. № 1—2. P. 35—42. doi: 10.1016/j.mce.2013.06.002
6. Гати М.А., Семенова Е.В., Епринцев А.Т. Функционирование ферментов глиоксилатного цикла в клетках печени крыс в условиях экспериментального диабета // *Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов.* 2013. № 15. С. 53—59.
7. Ren B., Zhang W., Zhang W., Ma J., Pei F., Li B. Melatonin attenuates aortic oxidative stress injury and apoptosis in STZ-diabetes

rats by Notch1/Hes1 pathway // *J Sterid Biochem Mol Biol.* 2021. № 212. P. 105948. doi: 10.1016/j.jsbmb.2021.105948

8. Арушанян Э.Б. Универсальные терапевтические возможности мелатонина // *Клиническая медицина.* 2013. № 2. С. 4—8.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. 53 p.
10. Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г. Определение активности сукцинатдегидрогеназы // *Методы биохимических исследований.* Ленинград. ЛГУ. 1982. С. 210—212.
11. Ruth Huey, Garrett M Morris, Stefano Forli. Using AutoDock 4 and Vina with AutoDockTools: A Tutorial. Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory 10550 N. Torrey Pines Rd. La Jolla. California. 92037—1000USA 2012.
12. Саммерфилд М. Программирование на Python 3. Подробное руководство. СПб. СимволПлюс. 2009. 608 с.
13. Моханнад Г., Гати А., Федорин Д.Н., Полякова-Семенова Н.Д., Вашанов Г.А., Епринцев А.Т. Физиолого-биохимические механизмы адаптации крыс к условиям аллоксанового диабета // *Фундаментальные исследования.* 2013. № 1. С. 1256—1262.
14. Katz L.S., Baumel-Alterzon S. Adaptive and maladaptive roles for ChREBP in the liver and pancreatic islets // *J Biol Chem.* 2021. № 296. P. 100623. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100623
15. Uyeda K. Carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP): a key regulator of glucose metabolism and fat storage. *Biochem Pharmacol.* 2002. V. 63. № 12. P. 2075—80. doi: 10.1016/s0006-2952(02)01012-2
16. Iizuka K. The Roles of Carbohydrate Response Element Binding Protein in the Relationship between Carbohydrate Intake and Diseases // *Int J Mol Sci.* 2021. V. 22. № 21. P. 12058 doi: 10.3390/ijms222112058
17. Postic C., Dentin R., Denechaud P., Girard J. ChREBP, a transcriptional regulator of glucose and lipid metabolism // *Annu Rev Nutr.* 2007. № 27. P. 179—92. doi: 10.1146/annurev.nutr.27.061406.093618
18. Lee S., Xu H., Van Vleck A., Mawla A.M., Mao Li A., Ye J., Huising M.O., Annes J.P. β -Cell Succinate Dehydrogenase Deficiency Triggers Metabolic Dysfunction and Insulinopenic Diabetes // *Diabetes.* 2022. V. 71. № 7. P. 1439—1453. doi: 10.2337/db21-0834
19. Brière J.-J., Favier J., Ghouzzi V.E., Djouadi F., Bénit P., Gimenez A.-P., Rustin P. Succinate dehydrogenase deficiency in human // *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2005. № 62. P. 2317—2324. doi.org/10.1007/s00018-005-5237-6
20. Fu Z., Gilbert E.R., Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes // *Curr Diabetes Rev.* 2013. V. 1. № 9. P. 25—53.
21. Kanamoto R., Su Y., Pitot H.C. Effects of glucose, insulin, and cAMP on transcription of the serine dehydratase gene in rat liver // *Arch Biochem Biophys.* 1991. V. 288. № 2. P. 562—6. doi: 10.1016/0003-9861(91)90236-c

References

1. Bidzhieva FA. Features of the course of experimental alloxan-induced diabetes mellitus and methods of its correction. Dissertation for Candidate of Medical Sciences: 1.5.4. Stavropol. 2021. (in Russian).

2. Lee H, Jose PA. Coordinated Contribution of NADPH Oxidase- and Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species in Metabolic Syndrome and Its Implication in Renal Dysfunction. *Front Pharmacol*. 2021;12:670076. doi: 10.3389/fphar.2021.670076
3. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, Ghirlanda G. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud*. 2010;7(1):15—25. doi: 10.1900/RDS.2010.7.15
4. Grinenko TN, Balluzek MF, Kvetnaya TV. Melatonin as a marker of the severity of structural and functional changes of the heart and blood vessels in metabolic syndrome. *Clinical medicine*. 2012;2:30—34. (in Russian).
5. Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;379(1—2):35—42. doi: 10.1016/j.mce.2013.06.002
6. Gati MA, Semenova EV, Eprintsev AT. Functioning of glyoxylate cycle enzymes in rat liver cells under conditions of experimental diabetes. *Organization and regulation of physiological and biochemical processes*. 2013. Issue 15. pp. 53—59. (in Russian).
7. Bin-Cheng Ren, Wen Zhang, Wei Zhang, Jian-Xing Ma, Fei Pei, Bu-Ying Li Melatonin attenuates aortic oxidative stress injury and apoptosis in STZ-diabetes rats by Notch1/Hes1 pathway. *J Sterid Biochem Mol Biol*. 2021 Sep; 212:105948. doi: 10.1016/j.jsbmb.2021.105948
8. Arushanyan E.B. Universal therapeutic possibilities of melatonin. *Clinical Medicine*, No. 2, 2013. pp. 4—8. (in Russian).
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. coun. of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
10. Eshchenko N.D., Volsky G.G. Determination of succinate dehydrogenase activity. *Methods of biochemical research*. L: LSU, 1982. pp. 210—212. (in Russian).
11. Ruth Huey, Garrett M Morris, Stefano Forli Using AutoDock 4 and Vina with AutoDockTools: A Tutorial. Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory 10550 N. Torrey Pines Rd. La Jolla, California 92037—1000USA 2012.
12. Summerfield M. Programming in Python 3. Detailed guide. — Translated from English — St. Petersburg: Symbol Plus, 2009. 608 p. (in Russian).
13. Gati Mohammad Abdulrazzak Gati, Fedorin D.N., Polyakova-Semenova N.D., Vashanov G.A., Eprintsev A.T. Physiological and biochemical mechanisms of adaptation of rats to the conditions of alloxan diabetes. *Fundamental research*. 2013. No. 1. — pp.1256—1262. (in Russian).
14. Katz LS, Baumel-Alterzon S. Adaptive and maladaptive roles for ChREBP in the liver and pancreatic islets. *J Biol Chem*. 2021;296:100623. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100623
15. Uyeda K. Carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP): a key regulator of glucose metabolism and fat storage. *Biochem Pharmacol*. 2002;63(12):2075—80. doi: 10.1016/s0006-2952(02)01012-2
16. Iizuka K. The Roles of Carbohydrate Response Element Binding Protein in the Relationship between Carbohydrate Intake and Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(21):12058 doi: 10.3390/ijms222112058
17. Postic C, Dentin R, Denechaud P, Girard J. ChREBP, a transcriptional regulator of glucose and lipid metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2007;27:179—92. doi: 10.1146/annurev.nutr.27.061406.093618
18. Lee S, Xu H, Van Vleck A, Mawla AM, Mao Li A, Ye J, Huising MO, Annes J.P. Annes β -Cell Succinate Dehydrogenase Deficiency Triggers Metabolic Dysfunction and Insulinopenic Diabetes. *Diabetes*. 2022 Apr 26; doi: 10.2337/db21—0834
19. Brière JJ, Favier J, Ghouzzi VE, Djouadi F, Bénit P, Gimenez AP, Rustin P. Succinate dehydrogenase deficiency in human. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2005; 62:2317—2324. doi.org/10.1007/s00018-005-5237-6
20. Fu Z, Gilbert ER, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2013;9(1):25—53.
21. Kanamoto R, Su Y, Pitot HC. Effects of glucose, insulin, and cAMP on transcription of the serine dehydratase gene in rat liver. *Arch Biochem Biophys*. 1991;288(2):562—6. doi: 10.1016/0003—9861(91)90236-c

Ответственный за переписку: Эльбекьян Карине Сергеевна — доктор биологических наук, доцент, зав. кафедрой общей и биологической химии, Ставропольский государственный медицинский университет, Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310. E-mail: karinasgma@inbox.ru
 Эльбекьян К.С. SPIN-код 4449-1250; ORCID 0000-0003-2403-8663
 Унанян Л.С. ORCID 0000-0002-6913-0175
 Дискаева Е.И. SPIN-код 5348-4934; ORCID 0000-0002-6095-7010
 Первушин Ю.В. SPIN-код 9557-0420


Corresponding author: Elbekyan Karine Sergeevna — PhD, MD, Associate Professor, Head of the Department of General and Biological Chemistry, Stavropol State Medical University, 355017, Mira str., 310, Stavropol, Russian Federation. E-mail: karinasgma@inbox.ru
 Elbekyan K.S. ORCID 0000-0003-2403-8663
 Unanyan L.S. ORCID 0000-0002-6913-0175
 Diskaeva E.I. ORCID 0000-0002-6095-7010

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-232-242

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Морфологические особенности супраоптического ядра гипоталамуса в динамике ожоговой травмы кожи

М.А. Самотруева , А.К. Ажикова  

Астраханский государственный медицинский университет, г. Астрахань, Российская Федерация
 alfia-imacheva@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Актуальность исследования крупноклеточного ядра переднего гипоталамуса при повреждении кожи обусловлена важной ролью сопровождающих реактивных изменений нейроэндокринного регуляторного комплекса при стрессе. Поскольку гипоталамус является частью нейроэндокринной кооперации, в нем наблюдаются выраженные признаки структурной дезорганизации нейронов. *Цель исследования* — изучение структурных изменений в супраоптическом ядре гипоталамуса крыс в динамике термической ожоговой травмы кожи. *Материалы и методы.* Исследование проводили на лабораторных половозрелых крысах мужского пола. Для оценки морфологических особенностей супраоптического ядра гипоталамуса в динамике ожоговой травмы кожи были проведены гистологические методы исследования. В ходе морфологического анализа оценивали нейротопографическую организацию ядра и его структурную организацию. О структурных преобразованиях судили по форме и расположению нейронов, по форме перикарионов нейронов, по наличию очагового глиоза, отечности, спонгиоза. *Результаты и обсуждение.* Результаты морфологического анализа показали, что в условиях ожогового повреждения кожи в супраоптическом ядре гипоталамуса выраженные деструктивные изменения в виде очагового глиоза, отечности, спонгиоза, обратимого и необратимого повреждения нервных клеток происходили в начальный посттравматический период (на 2—4 сутки). Слабовыраженные структурные преобразования ткани на 7—10 сутки после ожогового воздействия отражали динамику восстановления поврежденных нервных клеток, свидетельствующей о частичной дезорганизации нервных клеток, носящей восстановительный характер. *Выводы.* Таким образом, выявленные структурные нарушения в супраоптическом ядре гипоталамуса могут быть расценены как незначительные, что свидетельствует о сложной внутренней организации супраоптического ядра гипоталамуса и его высокой резистентности к повреждающим экзогенным воздействиям. Морфологические особенности супраоптического ядра гипоталамуса подтверждает вовлеченность нейросекреторного аппарата в процессе адаптации к стрессу на фоне ожогового воздействия, селективное участие их нейрогормонов в регуляции нормальных и патологических состояний, оказывая широкий спектр физиологических влияний в развитии защитно-приспособительных механизмов.

Ключевые слова: морфология, гипоталамус, супраоптическое ядро, нейроны, клетки глии, ожоговая рана

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

© Самотруева М.А., Ажикова А.К., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Вклад авторов. Самотруева М.А.— концепция и дизайн исследования, коррекция текста; Ажигова А.К.— сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста. 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. При работе с животными придерживались гуманного отношения согласно положениям Комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального Комитета по биоэтике при Российской академии наук и рекомендациям Этического комитета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

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

Информированное согласие на публикацию— неприменимо.


Поступила 01.08.2021. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Самотруева М.А., Ажигова А.К. Морфологические особенности супраоптического ядра гипоталамуса в динамике ожоговой травмы кожи // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 232—242. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-232-242

Supraoptic nucleus morphological features of the hypothalamus in the skin burn injury dynamics

Marina A. Samotrueva , Alfiya K. Azhikova  

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation

 alfiya-imacheva@mail.ru

Abstract. Relevance. The relevance of the study of the large cell nucleus of the anterior hypothalamus in case of skin damage is due to the important role of accompanying reactive changes in the neuroendocrine regulatory complex in stress. Since the hypothalamus is part of neuroendocrine cooperation, it shows pronounced signs of structural disorganization of neurons. The purpose of the study is to study structural changes in the supraoptic nucleus of the hypothalamus of rats in the dynamics of thermal burn injury of the skin. **Materials and Methods.** The study was conducted in laboratory mature male rats. To assess the morphological features of the supraoptic nucleus of the hypothalamus in the dynamics of skin burn injury, histological examination methods were carried out. The morphological analysis evaluated the neurotopographic organization of the nucleus and its structural organization. Structural transformations were judged by the shape and location of neurons, by the shape of neuronal pericarions, by the presence of focal gliosis, swelling, spongiosis. **Results and Discussion.** The results of morphological analysis showed that in the conditions of burn damage to the skin in the supraoptic nucleus of the hypothalamus, pronounced destructive changes in the form of focal gliosis, swelling, spongiosis, reversible and irreversible damage to nerve cells occurred in the initial post-traumatic period (on days 2—4). Weak structural tissue transformations on days 7—10 after burn exposure reflected the dynamics of repair of damaged nerve cells, testifying to of partial disorganization of nerve cells of a restorative nature. **Conclusion.** Thus, the revealed structural disorders in the supraoptic nucleus of the hypothalamus can be regarded as insignificant, which indicates the complex internal organization of the supraoptic nucleus of the hypothalamus and its high resistance to damaging exogenous influences. The morphological features of the supraoptic nucleus of the hypothalamus confirm the involvement of the neurosecretory apparatus in the process of adaptation to stress against the background of burn

exposure, the selective participation of their neurohormones in the regulation of normal and pathological conditions, exerting a wide range of physiological influences in the development of protective and adaptive mechanisms.

Key words: morphology, hypothalamus, supraoptic nucleus, neurons, glia cells, burn wound

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

Author contributions. Samotrueva M.A.—concept and design of the study, text correction; Azhikova A.K.—collection and processing of materials, analysis of the received data, writing the text. All authors have made significant contributions to the development concepts, research and manuscript preparation, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval. Work with animals was carried out in accordance with the provisions of the Commission on the Ethics of Attitudes towards Animals of the Russian National Committee on Bioethics at the Russian Academy of Sciences and the recommendations of the Ethics Committee of Astrakhan State Medical University.

Acknowledgements. Study participants express their gratitude to the staff cared for the animals.

Consent for publication—not applicable.

Received 01.08.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Samotrueva MA, Azhikova AK. Supraoptic nucleus morphological features of the hypothalamus in the skin burn injury dynamics. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):232—242. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-232-242

Введение

В основе патогенеза послеожоговых поражений кожи лежит нарушение межорганной морфофункциональной организации. Известно, что в ходе посттравматической репарации тканей восстановление гомеостаза осуществляется посредством сложных взаимосвязанных нейроэндокринных и иммунных взаимодействий. Во все фазы посттравматического периода осуществляется реализация реакций нервной системы и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси к повреждающим факторам, сопровождающихся дизрегуляторными и защитно-адаптационными механизмами в головном мозге [1, 2].

Актуальность исследования структурно-функциональных особенностей мозговых структур в условиях ожоговой травмы обусловлена их прямой вовлеченностью в формирование адаптивных реакций организма. При этом важную роль играет гипоталамус, как один из основных нейроэндо-

кринных регуляторов гомеостаза. Обеспечивая сложные нейрогуморальные взаимодействия в ходе физиологических и патофизиологических процессов, гипоталамус участвует в обеспечении защитно-приспособительных реакций при различных видах стресса. Значима роль гипоталамуса в процессе коротко- и долгосрочной адаптации к стрессу—путем нейроэндокринного механизма регуляции в кровь секретируются адаптогены. В свою очередь, нейросекреторные клетки по-особенному реагируют на локальные и системные раздражители: от наращивания секреции адаптогенов до физиологической дегенерации, приводящей к их декомпенсации [3].

Среди крупноклеточных образований переднего гипоталамуса, участвующих в поддержании гомеостаза, выделяют паравентрикулярное и супраоптическое ядра [4, 5]. К числу ядер, наиболее реактивных и одновременно уязвимых при стрессе, относится супраоптическое ядро гипоталамуса (SO).

На сегодняшний день остается малоизученным вопрос о структурно-функциональных изменениях в супраоптическом ядре гипоталамуса на фоне ожоговой травмы кожи. В частности, при стрессе ожогового характера не определены пределы возможной обратимости изменений нейросекреторных органов, что имеет важное значение при поиске средств коррекции и прогнозе течения послеожогового процесса. Кроме того, литературные данные не отражают изменения гипоталамических структур в динамике ожогового процесса [6—10]. В данном аспекте интерес представляет выявление морфологических изменений нейросекреторных клеток супраоптического ядра гипоталамуса в условиях ожоговой травмы.

Для изучения репаративного потенциала кожи во взаимосвязи с интегральными системами необходимо понимать защитно-адаптационные механизмы в динамике посттравматического периода. После воздействия патогенного фактора в организме запускаются механизмы воспаления, которые направлены на восстановление или замещение поврежденных тканевых структур (репаративную регенерацию). Поскольку воспалительно-регенеративные процессы имеют стадийно-временной характер, важным является изучение изменений в динамике ожоговой раны. Определение сроков наблюдения проводили в соответствии со стадиями посттравматической реакции: 2—4 сутки — фаза альтерации, 7 сутки — фаза экссудации, 10 сутки — фаза пролиферации.

Цель исследования — изучение структурно-функциональных особенностей супраоптического ядра гипоталамуса в динамике ожоговой травмы кожи.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали белых нелинейных крыс, мужского пола, 6—8 мес., массой 230—250 г. Животных содержали в соответствии с требованиями комиссии Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук и рекомендациями Этического комитета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 21.11.2016 г.). Животные были

разделены на группы, по 7 особей в каждой: 1 группа «Контрольная» — интактные особи, 4 опытные группы — «Ожог 2 сутки», «Ожог 4 сутки», «Ожог 7 сутки», «Ожог 10 сутки» — животные, которым на межлопаточную депилированную зону спины был нанесен термический ожог. Моделирование термического ожога проводили в условиях слабой эфирной наркотизации путем 5-секундного прикладывания на кожу спины медного круглого предмета, опущенного на 10 мин. в кипящую воду (100 °С).

Декапитацию животных проводили на 2, 4, 7, 10 сутки после ожогового воздействия под эфирным наркозом. Вскрывали черепную коробку, извлекали головной мозг и быстро погружали его в 10 %-й забуференный нейтральный раствор формальдегида. Фиксацию проводили в течение 2 суток. После этого образцы головного мозга промывали под проточной водой, подвергали обезвоживанию, помещая их в растворы этилового спирта восходящей концентрации (50—70 %, 80 %, 96 %, 100 %), просветляли в хлороформе, помещали в парафиновую среду Histomix® (Биовитрум, Россия), потом заливали в парафиновые блоки. На ротационном микротоме HM340E (MICROM, Германия) были приготовлены срезы толщиной 4 мкм. Депарафинирование срезов осуществляли ксилолом. Смонтированные на предметные стекла срезы опускали в краситель толуидиновый синий по методу Ниссля [8].

Проводили морфологический анализ супраоптического ядра гипоталамуса. Исследование микропрепаратов проводилось с помощью микроскопа «Axio Lab. A1», фотодокументирование осуществляли камерой «AxioCam 105 color».

Результаты и обсуждение

Супраоптическое ядро гипоталамуса животных контрольной группы представлено крупными (крупноклеточная часть) и мелкими нейронами (мелкоклеточная часть) и клетками глии. При морфологическом исследовании супраоптического ядра интактных животных обнаружены в основном нейроны больших размеров нормальной формы. Форма перикариона нейрона была эллипсоидной.

Расположение нейронов плотное. В центральной области перикариона нейрона наблюдали темно-окрашенные ядра. Ядра нейронов имели слабо выраженную базофильную окраску цитоплазмы.

Определяли локализацию ядрышек и в центральной, и в периферийной областях ядер. В ядрах нейронов наблюдали ядрышки, имеющие круглую форму (рис. 1, 2).

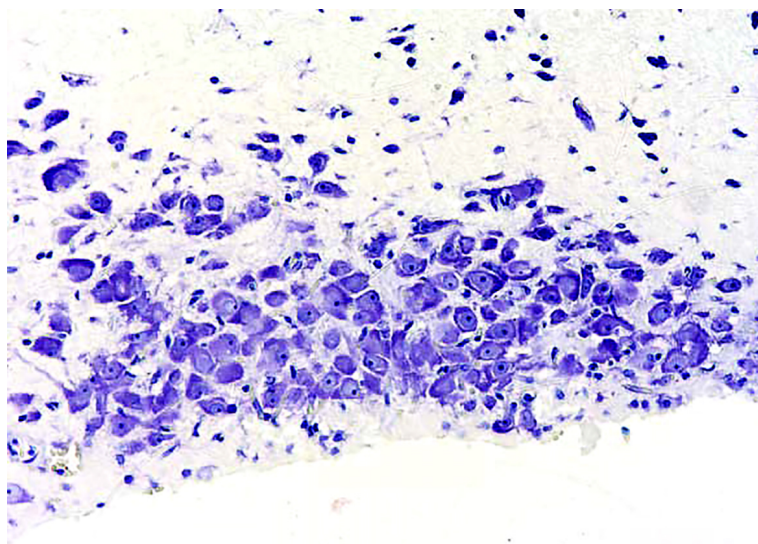


Рис 1. Нейротопографическая организация супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных контрольной группы; Ув.х100, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля
Fig. 1. Neurotopographic organization of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus in an intact rat; Microscope magnification.x100, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

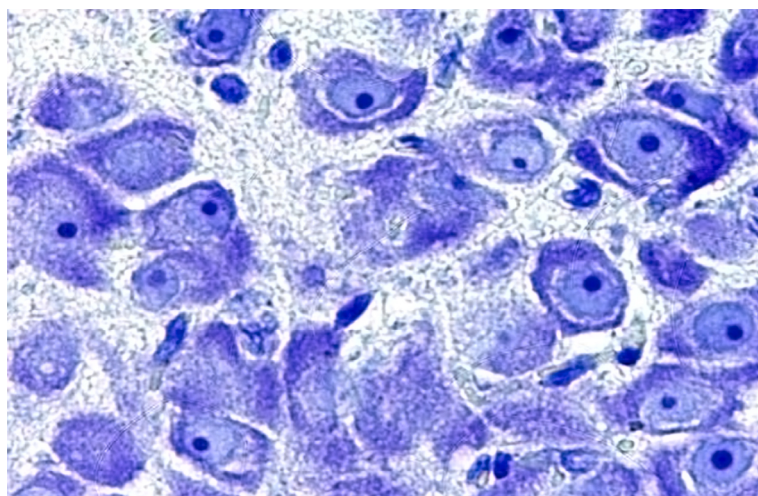


Рис. 2. Морфологическая характеристика супраоптического ядра (SO) животных контрольной группы; Ув.х400, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля
Fig. 2. Morphological characteristics of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of an intact animal; Magnification of the microscope, x400, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

При морфологическом исследовании супраоптического ядра животных группы «Термический ожог, 2 сутки» обнаружены в большом объеме вакуолевидные полости, но встречались также крупные и средние поврежденные гетероморфные нейроны. Расположение нейронов не плотное по сравнению с интактными животными. Перикарионы нейронов

выглядели отечными, напряженными. Кроме того, отмечался лизис цитоплазмы, проявляющийся в виде светлого ободка вокруг ядра. В центральной области перикариона нейрона наблюдали мелкие ядра. Ядрышки локализованы беспорядочно. Отмечали большое число эктопированных ядрышек, прилежащих к ядерной оболочке (рис. 3, 4).

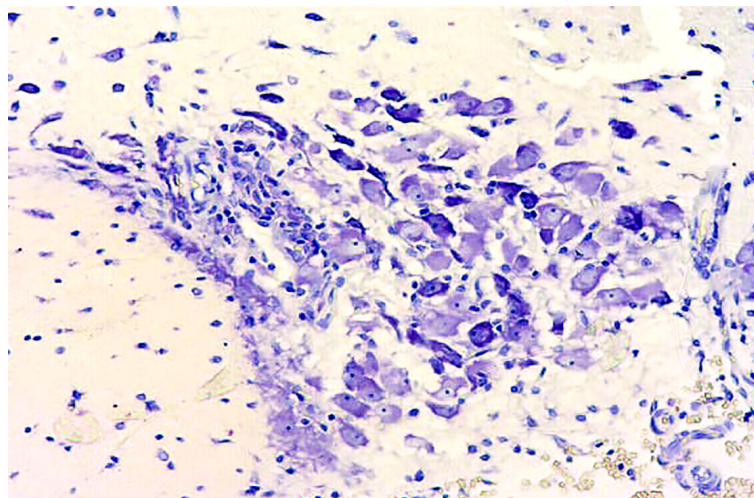


Рис. 3. Нейротопографическая организация супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 2 сутки»; Ув.х100, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 3. Neurotopographic organization of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 2 days»; Microscope magnification.x100, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

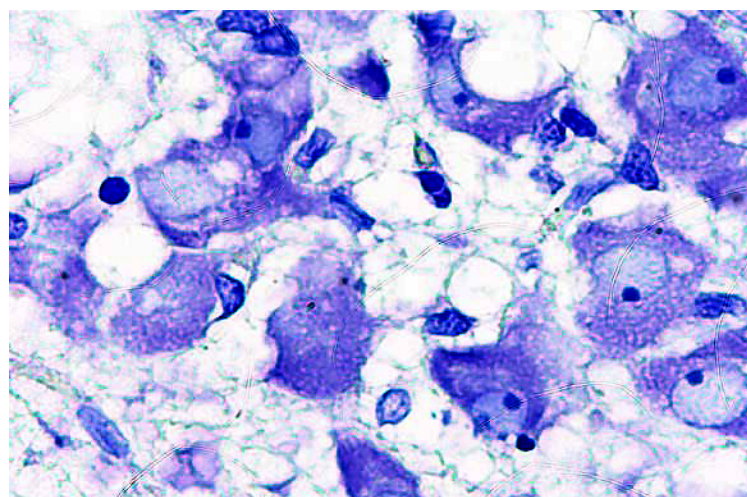


Рис. 4. Морфологическая характеристика супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 2 сутки»; Ув.х400, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 4. Morphological characteristics of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 2 days»; Magnification of the microscope, x400, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method.

Морфологическая организация супраоптического ядра гипоталамуса животных группы «Термический ожог 4 сутки» представлена поврежденной нервной тканью, насыщенной вакуольными полостями. Обнаружены в большей степени нейроны неправильной формы. Расположение нейронов рассеянное, неравномерное. Нейропил в межклеточном

пространстве характеризовался спонгиозом. Перикарионы нейронов слабо визуализированы. Выявлено наличие перинуклеарных вакуолей в цитоплазме перикарионов. В центральной области перикариона нейрона наблюдали яркоокрашенные ядра. Ядрышки локализовать не удалось (рис. 5, 6).

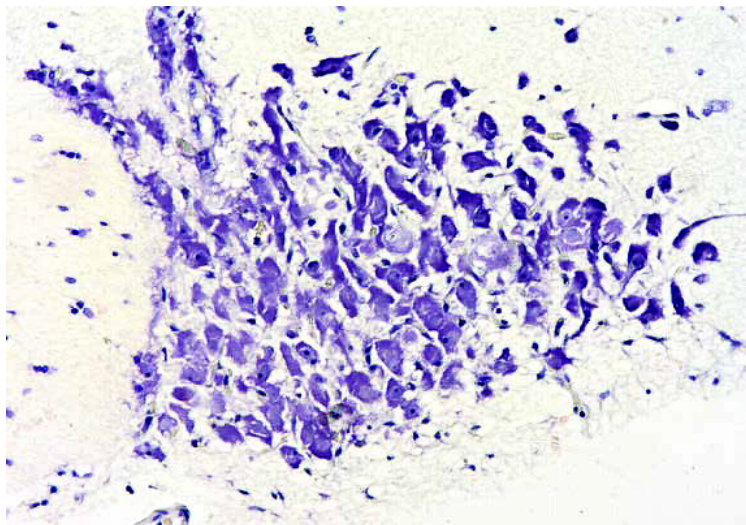


Рис. 5. Нейротопографическая организация супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 4 сутки»; Ув.х100, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 5. Neurotopographic organization of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 4 days»; Microscope magnification.x100, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

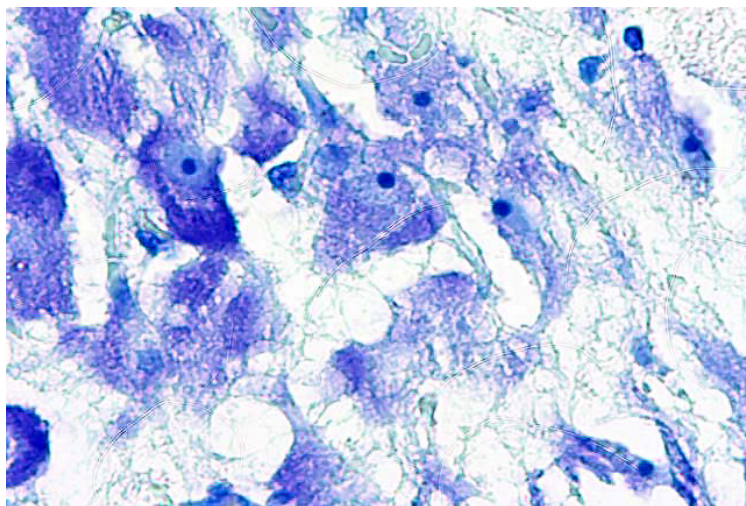


Рис. 6. Морфологическая характеристика супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 4 сутки»; Ув.х400, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 6. Morphological characteristics of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 4 days»; Magnification of the microscope, x400, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method.

При морфологическом исследовании животных группы «Термический ожог, 7 сутки» в супраоптическом ядре обнаружены крупные и мелкие нейроны. Расположение нейронов не плотное по сравнению с интактными животными, однако умеренно организованное. Нейропилъ выявляли со слабо выраженным спонгиозом. В мелкоклеточной части ядра животных группы «Термический ожог, 7 сутки» определяли нейроны неправильной

формы, с малым содержанием цитоплазмы в перикарионах. Цитоплазма перикарионов большинства нейронов характеризовалась умеренно выраженным гиперхроматозом. Перикарионы нейронов выглядели нормальными, реже обнаруживались нейроны со смещенными ядрами. В центральной области перикариона нейрона четко выражены мелкие ядра. Ядрышки локализованы упорядоченно (рис. 7, 8).

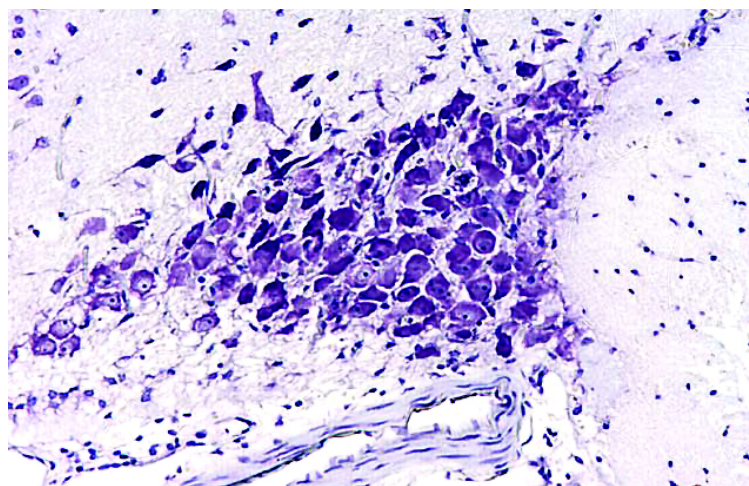


Рис. 7. Нейротопографическая организация супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 7 сутки»; Ув.х100, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 7. Neurotopographic organization of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 7 days»; Microscope magnification.x100, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

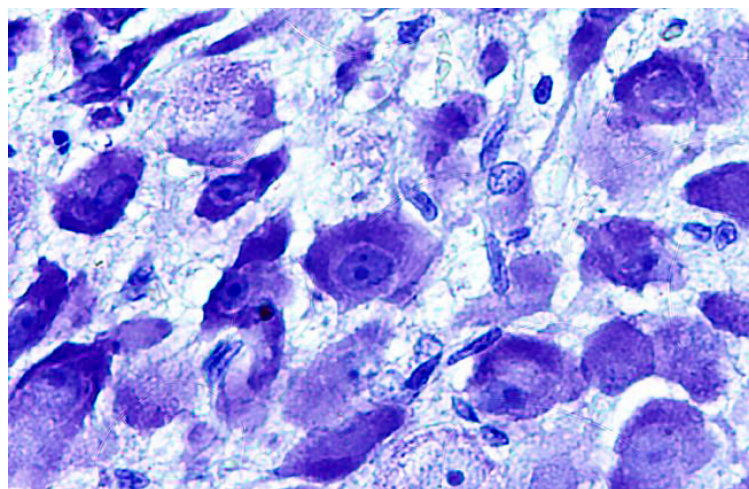


Рис. 8. Морфологическая характеристика супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 7 сутки»; Ув.х400, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 8. Morphological characteristics of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 7 days»; Magnification of the microscope, x400, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

При морфологическом исследовании супраоптического ядра крыс группы «Термический ожог 10 суток» выявлены крупноклеточные нейроны нормальной формы и размера. Ядра нейронов располагались в центральной части перикарионов и имели

круглую форму. Ядрышки имели правильное центральное расположение, нейроны со смещенными ядрами в поле зрения не попадали. Цитоплазма перикарионов нейронов представлена базофильноокрашенной (рис. 9, 10).

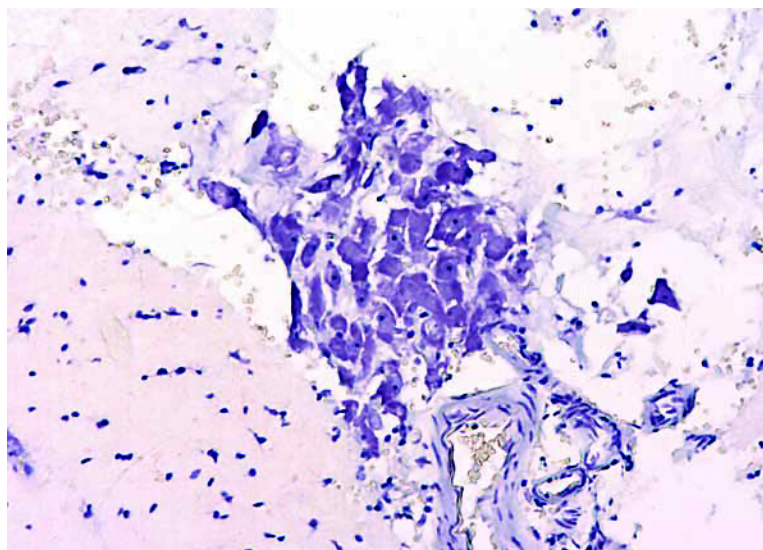


Рис. 9. Нейротопографическая организация супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 10 суток»; Ув.х100, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 9. Neurotopographic organization of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 10 days»; Microscope magnification.x100, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

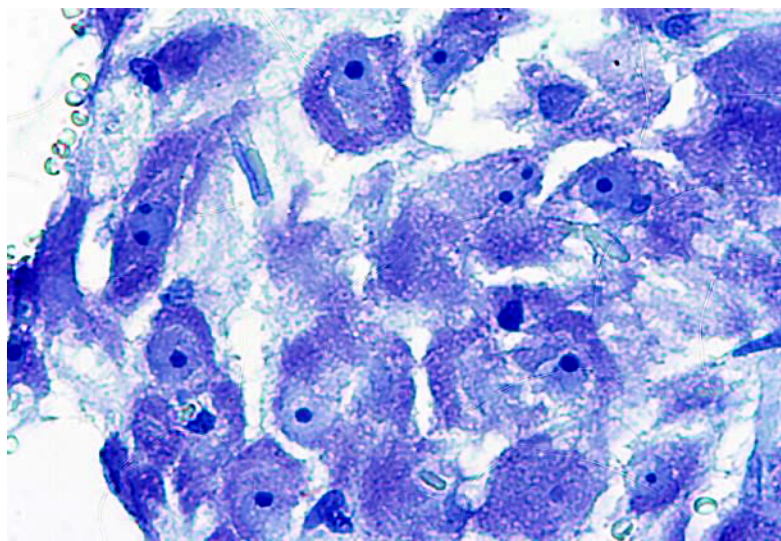


Рис. 10. Морфологическая характеристика супраоптического ядра (SO) гипоталамуса животных группы «Термический ожог 10 суток»; Ув.х400, окр. толуидиновый синий по методу Ниссля

Fig. 10. Morphological characteristics of the supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus of the rat group «Burn, 10 days»; Magnification of the microscope, x400, staining of the preparation – toluidine blue according to the Nissl method

Выводы

Проведенное морфологическое исследование супраоптического ядра гипоталамуса показало, что термический ожог вызывал более значительные реактивные изменения (очаговый глиоз, спонгиоз и отек) в ранние сроки (2—4 сутки). На наш взгляд, это связано с резким изменением процесса нейросекреции передней гипоталамической зоны, как запуск реакции стресс-дезадаптивного характера. Причем нарушения в виде отека и гиперхроматоза касались, в основном, крупных нейронов ядер. На 7—10 сутки послеожогового периода в переднем отделе гипоталамуса выявлены слабовыраженные структурные изменения по сравнению со 2-ми сутками. В целом, выявленные особенности могут быть расценены как незначительные, что свидетельствует о сложной внутренней организации супраоптического ядра гипоталамуса и его высокой резистентности к повреждающим экзогенным воздействиям. Морфологические преобразования нейронов на 10 сутки отражают динамику восстановления поврежденных в результате термического ожога нервных клеток.

Таким образом, морфологические особенности супраоптического ядра гипоталамуса подтверждает вовлеченность нейросекреторного аппарата в процессе адаптации к стрессу на фоне ожогового воздействия, селективное участие их нейрогормонов в регуляции нормальных и патологических состояний, оказывая широкий спектр физиологических влияний в развитии защитно-приспособительных механизмов.

Библиографический список

1. Башкина О.А., Самотруева М.А., Ажигова А.К., Пахнова Л.Р. Нейроиммуноэндокринная регуляция физиологических и патофизиологических процессов в коже // *Медицинская иммунология*. 2019. Т. 21. № 5. С. 807—820. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-807-820
2. Мамонтова Е.В., Семеничева О.Е. Исследование реакции гипоталамо-адренокортикальной системы на стресс и коррекция стрессорных нарушений антиоксидантами // *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2014. № 2. С. 54—54.
3. Каджарян Е.В. Особенности функционального состояния кортиколиберин-синтезирующих нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса при экспериментальном сахарном диабете

у крыс // *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. 2012. Т. 7. № 4. С. 72—77.

4. Doeselaar L., Yang H., Bordes J., Brix L., Engelhardt C., Tang F., Schmidt M.V. Chronic social defeat stress in female mice leads to sex-specific behavioral and neuroendocrine effects // *Stress*. 2021. V. 24. № 2. P. 168—180. doi: 10.1080/10253890.2020.1864319

5. McConn B.R., Newmyer B.A., St John N., Tachibana T., Gilbert E.R., Cline M.A. The anorexigenic effect of neuropeptide K in chicks involves the paraventricular nucleus and arcuate nucleus of the hypothalamus // *Peptides*. 2019. № 122. P. 170157. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170157

6. Криштон В.В., Румянцева Т.А., Никонова В.Г. Типологические особенности головного мозга в норме и при церебральной гипоперфузии // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2020. Т. 24. № 4. С. 345—353. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-345-353

7. Peixoto T.C., Moura E.G., Oliveira E., Younes-Rapozo V., Soares P.N., Rodrigues V.S.T., Torsoni M.A., Torsoni A.S., Manhães A.C., Lisboa P.C. Hypothalamic Neuropeptides Expression and Hypothalamic Inflammation in Adult Rats that Were Exposed to Tobacco Smoke during Breastfeeding: Sex-Related Differences // *Neuroscience*. 2019. № 418. P. 69—81. doi: 10.1016/j.neuroscience

8. Гуров Д.Ю., Туманов В.П., Смирнов А.В., Быхалов Л.С., Сидоров Д.Н., Седых А.Д., Финагеев С.А. Морфологические изменения нейронов супраоптических ядер гипоталамуса крыс, предрасположенных к алкогольной зависимости // *Современные проблемы науки и образования*. 2019. № 2. С. 163—163.

9. Постнова М.В., Новочадов В.В., Потанин М.Б. Морфофункциональные особенности ядер переднего гипоталамуса в обеспечении стресс-реактивности организма // *Фундаментальные исследования*. 2013. Т. 10. № 2. С. 366—370.

10. Котельникова С.В., Швецова Н.Г., Котельников А.В. Сезонные особенности функционального состояния супраоптического ядра гипоталамуса в условиях кадмиевой интоксикации // *Фундаментальные исследования*. 2011. Т. 10. № 2. С. 418—42.

References

1. Bashkina OA, Samotrueva MA, Azhikova AK, Pakhnova LR. Neuroimmunoendocrine regulation of physiological and pathophysiological processes in the skin. *Medical immunology*. 2019;21(5):807—820. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-807-820 (In Russian).
2. Mamontova EV, Semenishcheva O.E. Study of the reaction of the hypothalamic-adrenocortical system to stress and correction of stress disorders by antioxidants. *Scientific review. Medical sciences*. 2014;2:54—54 (In Russian).
3. Kajarian EV. Features of the functional state of corticoliberin-synthesizing neurons of the paraventricular nucleus hypothalamus in experimental diabetes mellitus in rats. *General pathology and pathological physiology*. 2012;7(4):72—77 (In Russian).
4. Doeselaar L, Yang H, Bordes J, Brix L, Engelhardt C, Tang F, Schmidt MV. Chronic social defeat stress in female mice leads to sex-specific behavioral and neuroendocrine effects. *Stress*. 2021;24(2):168—180. doi: 10.1080/10253890.2020.1864319

5. McConn B.R., Newmyer B.A., St John N., Tachibana T., Gilbert E.R., Cline M.A. The anorexigenic effect of neuropeptide K in chicks involves the paraventricular nucleus and arcuate nucleus of the hypothalamus. *Peptides*. 2019;122:170157. doi: 10.1016/j.peptides. 2019.170157

6. Chrishtop VV, Rummyantseva TA, Nikonorova VG. Typological features of the brain in normal conditions and in cerebral hypoperfusion. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24(4):345—353. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-345-353 (In Russian).

7. Peixoto TC, Moura EG, Oliveira E, Younes-Rapozo V, Soares PN, Rodrigues VST, Torsoni MA, Torsoni AS, Manhães AC, Lisboa PC. Hypothalamic Neuropeptides Expression and Hypothalamic Inflammation in Adult Rats that Were Exposed to Tobacco Smoke during Breastfeeding: Sex-Related Differences. *Neuroscience*. 2019;418:69—81. doi:10.1016/j.neuroscience

8. Gurov DY, Tumanov VP, Smirnov AV, Bykhalov LS, Sidorov DN, Sedykh AD, Finageev SA. Morphological changes in neurons of supraoptic nuclei of the hypothalamus of rats predisposed to alcohol dependence. *Modern problems of science and education*. 2019;2:163—163 (In Russian).

9. Postnova MV, Novochadov VV, Potanin MB. Morphofunctional features of the nuclei of the anterior hypothalamus in ensuring stress-reactivity of the organism. *Basic research*. 2013;10(2): 366—370 (In Russian).

10. Kotelnikova SV, Shvetsova NG, Kotelnikov AV. Seasonal features of the functional state of the supraoptic nucleus of the hypothalamus under conditions of cadmium intoxication. *Basic research*. 2011;10(2):418—442 (In Russian).

Ответственный за переписку: Альфия Кадыровна Ажикова — кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биологии и ботаники, Астраханский государственный медицинский университет, Российская Федерация, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121. E-mail: alfia-imacheva@mail.ru
Самотруева М.А. SPIN-код 5918-1341; ORCID 0000-0001-5336-4455
Ажикова А.К. SPIN-код 1245-3158; ORCID 0000-0001-9758-1638

Corresponding author: Alfiya Azhikova — PhD, MD, Associate Professor at the Department of Biology and Botany, Astrakhan State Medical University, 414000, Bakynskaya, 121, Astrakhan, Russian Federation. E-mail: alfia-imacheva@mail.ru
Samotrueva M.A. ORCID 0000-0001-5336-4455
Azhikova A.K. ORCID 0000-0001-9758-1638



DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-243-258

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Local hardware hypothermia influence on the physiological processes

Nidjat A. Guseynov ✉, Marina H. Hammouri , Alexandr A. Muraev , Sergey Y. Ivanov ,
Elena A. Lukianova , Anna S. Klimenko , Mohammad A. Noerazlighi 

Peoples' Friendship University of Russia. Moscow, Russian Federation
✉ nid.gus@mail.ru

Abstract. *Relevance.* Cold vasodilation is a response to a decrease in local and general temperature. Dose-controlled hypothermia is a therapeutic method for treating various pathological processes. *Materials and Methods.* In our study, we analyzed various indicators of the general condition of the human body under the influence of local controlled hypothermia. The study involved 25 healthy volunteers from the age of 21 to 34, including 14 males and 11 females. The study was carried out at a constant temperature of 25 °C, relative humidity of $30 \pm 5\%$, and an atmospheric pressure of 765mm Hg in silence and moderate illumination. The instruments of these indicators were bio-impedancemetry, angioscanning, as well as general thermometry. We also performed local thermometry of the buccal mucosa to identify temperature correlations between local hypothermia and buccal mucosa temperature. Local controlled hypothermia of the face was carried out by applying an elastic mask to the subject's face. The mask had a system of irrigation tubes connected to the «ViTherm» device, which cooled the liquid and maintained its circulation. Due to the circulation of the cooled liquid in the mask the face was cooled. The mask covered the parotid-chewing, buccal, zygomatic, and infraorbital regions on the right and left. LCG lasted 50 minutes, and the circulating fluid temperature was 18°C. *Results and Discussion.* The effect of local controlled hypothermia at 18—20 °C did not affect vital signs in healthy adults: active cell mass, electrical reactance, extracellular fluid, oxygen saturation, the duration of systole. pulse. general temperature. At the same time, a decrease in tissue hydration was recorded. The revealed physiological effect of local hypothermia justifies using this temperature regime to reduce postoperative edema. *Conclusion.* Due to the absence of negative effects of local controlled hypothermia on the vital signs of the human body, the development and application of this tool in clinical practice, including the dental surgeon. is relevant.

Keywords: local hypothermia, bio-impedancemetry, angioscanning, thermometry

Funding. The authors received no financial support for the research.

Author contributions. Guseynov N.A.— conducting an experiment, writing the text of an article, searching for literature, analyzing literature; Hammouri M.H.— conducting an experiment; analysis and search of literature; Muraev A.A.— correcting the structure and content of the review text, writing conclusions; Ivanov S.Y.— correction of the structure and content of the

© Guseynov N.A., Hammouri M.H., Muraev A.A., Ivanov S.Y., Lukianova E.A., Klimenko A.S., Noerazlighi M.A., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

review text, writing conclusions; Lukianova E.A.—statistical analysis, writing the text of the article; Klimenko A.S.—correction of the structure and content of the review text, writing conclusions; Noerazligi M.—Translation and correction of the structure and content of the text. All authors have made significant contributions to the manuscript writing, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval. The experimental clinical study was approved by the local ethics committee of the RUDN University, protocol No. 5 of the meeting of the Ethics Committee of the RUDN Medical Institute, dated February 17, 2022.

Acknowledgements—not applicable.

Consent for publication. All patients provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Humans, 2013) and consent to the processing of personal data.

Received 11.08.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Guseynov NA, Hammouri MH, Muraev AA, Ivanov SY, Lukianova EA, Klimenko AS, Noerazlighi MA. Local hardware hypothermia influence on the physiological processes. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):243—258. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-243-258

Introduction

Cold exposure to the skin has a pronounced physiological effect. At first, there is an increase in peripheral vasomotor tone, which reduces heat loss to the environment to maintain thermal homeostasis. Further prolonged exposure on the contrary disrupts adaptive mechanisms and leads to impaired neuron conductivity. vasodilation. and cold injuries [1—3]. The origin of cold-induced vasodilation (CIVP) is still a matter of discussion [4]. CIVP can be mediated either centrally through the sympathetic nervous system [5, 6] or locally through cold-induced direct peripheral vascular paralysis [7]; authors would like to note the role of arteriovenous anastomoses [8]. The regulation of skin blood flow occurs due to a complex and dynamic interaction of thermal effects emanating from the depths of the body (core) and skin (shell). However, the intensity of vasomotor reactivity to localized thermal stimulation is primarily determined by the thermal state of the whole body [9]. Lewis first claimed that local vasodilation—later known as cold-induced vasodilation (CIVP)—was the cause of increased body temperature [10].

Despite many studies, the mechanisms that cause CIVP are not fully understood [11]. According to some studies. CIVP results from the dilation of arteriovenous

anastomoses (AVA) [12, 13]. However, due to the difficulty in measuring blood flow, the effect of local temperature on AVA vasomotor activity has been little studied. Bergersen et al. [14] found that AVAs below 21 °C maintained AVA closure. The frequency of flashes is related to the overall thermal balance of the body. In situations where there is a need to conserve heat or remove heat, the AVAs remain largely closed or open, resulting in nearly constant low or high blood flow velocities in the afferent arteries. Synchronous closure of the AVA is most likely caused by bursts of efferent sympathetic impulses [15]. The frequency of flashes is related to the overall thermal balance of the body. In situations where there is a need to conserve heat or remove heat. the AVAs remain largely closed or open, resulting in nearly constant low or high blood flow velocities in the afferent arteries.

In a thermoneutral situation the AVA spasms two or three times per minute, causing large and rapid fluctuations in blood flow velocity in the afferent arteries. All cutaneous AVAs have synchronous vasomotion. Fluctuations in blood flow through the AVA also closely correlate with heart rate (HR) and blood pressure variations [16]. Local uncontrolled hypothermia (glove application with ice) is widely used after surgical,

dental interventions, maxillofacial and plastic surgeries. Due to the trigeminal nerve's connection to the vagus autonomic fibers the face is a potent reflexogenic zone [17]. Thus, local uncontrolled cold exposure to facial tissues and close neural connections can lead to local frostbite [18] and have an overall negative effect. The present study assessed the impact of moderate local controlled hypothermia on the human cardiovascular and respiratory systems.

Materials and methods

Experiment design and patients

The study involved 25 healthy volunteers from the age of 21 to 34, including 14 males and 11 females. All subjects were non-smokers, did not have a history of cold injuries or pathologies of the cardiovascular system, and did not take any medications on an ongoing basis. None of the subjects ate food less than 2 hours before the experiment. There was no alcohol consumption in the 24 hours prior to the study. The study was carried out at a constant temperature of 25 °C, relative humidity of 30 ± 5 %, and an atmospheric pressure of 765 mm Hg in silence and moderate illumination.

The study was carried out in the functional diagnostics room of the Clinical Diagnostic Center of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia). All patients provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) and consent was taken to the processing of personal data. The experimental clinical study was approved by the local ethics committee of the RUDN University, protocol No. 5 of the meeting of the Ethics Committee of the RUDN Medical Institute, dated February 17, 2022.

Local hypothermia measurement

The study subject was placed in a horizontal position on a medical couch; the sensors of the Bioimpedance device were fixed on the right ankle and the back of the

hand, the portable device angioscan was put on the index finger of the left hand; a mercury thermometer was placed in the right axillary fossa; a local temperature sensor was brought into the oral cavity.

Local Controlled Hypothermia (LCH) of the face was carried out by applying an elastic mask to the subject's face (Figure 1). The mask had a system of irrigation tubes connected to the ViThermo device (Figure 1) (Digital technologies in surgery LLC, Skolkovo, Moscow), which cooled the liquid and maintained its circulation. Due to the circulation of the cooled liquid in the mask, the face was cooled. The mask covered the parotid-chewing, buccal, zygomatic and infraorbital regions on the right and left. LCH lasted 50 minutes and the circulating fluid temperature was 18 °C. We used a portable temperature sensor in the vestibule of the oral cavity to control the amount of cooling of soft tissues.



Fig. 1. Device for controlled hypothermia «ViTherm»

Bio-impedancemetry and angioscanning

Bio-impedancemetry was carried out using the apparatus «Bioimpedance» (AVS-02 «MEDASS», Russia), the principle of which is based on the

assessment of the resistance of biological tissues to direct or alternating electric current. This method is one of the tools for monitoring the dynamics of the remodeling of organs and tissues and changes in the functional state of the whole organism in normal and pathological conditions.

There are several parameters that can be registered by bio-impedancemetry, including: fat and muscle mass, bone mineral mass (kg), body mass index (BMI), active cell mass (kg), extracellular fluid (kg), BMR(kcal/m²/day); phase angle; (active and reactance at a frequency of 50 kHz, extracellular fluid).

Angioscanning was performed with the Angioscan device (Angioscan, AngioCode Electronics, Russia). The principle of operation of the device is to diagnose the arterial wall and the state of endothelial cells using the Parfenov method (Baskova, I, 2014).

Angioscan allows to register the pulse; blood saturation (O₂ saturation); The pulse pressure index (PPI); vascular stiffness (–%); curve type (%); systole duration (%); stress or heart rate variability, calculated according to the Baevsky index (a physiological phenomenon that manifests itself in a change in the interval between the beginnings of two adjacent cardiac cycles), local thermometry carries out with a temperature sensor.

Angioscanning, Bio-impedancemetry and thermometry were performed three times: before LCG

during LCG at the 25th minute of the study and then at the end of LCG at the 50th minute. During the entire study the study subjects lay relaxed and motionless.

Statistical data processing

Using the methods of descriptive (descriptive) statistics to evaluate the studied parameters we calculated the following characteristics: mean, standard deviation (SD), 95 % CI (confidence interval for the mean), median, minimum and maximum values. We used non-parametric tests for statistical analysis: to compare scores before exposure at 25- and 50-minutes paired Wilcoxon test for linked samples.

Results and discussion

Anthropometry

The study involved 25 people: 9 girls and 16 men, Height averaged 173 ± 8.38 cm (166 ± 5.47 cm in girls and 176.5 ± 7.75 cm in men), weight 71.7 ± 15.63 kg (60.7 ± 12.78 kg for girls and 77.9 ± 13.78 kg for men). The average waist circumference is 81.9 ± 10.96 cm (73.2 ± 9.83 and 86.8 ± 8.39 for girls and men respectively) and the hip circumference is 102.6 ± 7.06 cm (100 ± 5.79 cm for girls and 104.1 ± 7.45 cm for men). Table 1 provides a complete description of the characteristics.

Table 1

Characteristics of study participants

	N	Mean	SD	CI (–95 %)	CI (+95 %)	Median	Min	Max
Height (cm)	25	173	8.38	169.54	176.46	170	162	190
m.	16	176.5	7.75	172.37	180.63	177	165	190
w.	9	166.8	5.47	162.57	170.98	165	162	180
Weight (kg)	25	71.7	15.63	65.23	78.13	72	50	104
m.	16	77.9	13.78	70.53	85.22	78	53	104
w.	9	60.7	12.78	50.85	70.49	56	50	85
Waist Circumference	25	81.9	10.96	77.35	86.41	85	63	106
m.	16	86.8	8.39	82.28	91.22	87	73	106
w.	9	73.2	9.83	65.66	80.78	70	63	91
Hip circumference	25	102.6	7.06	99.69	105.51	100	86	118
m.	16	104.1	7.45	100.09	108.03	106	86	118
w.	9	100.0	5.79	95.55	104.45	98	95	112

Bio-impedancemetry

Active cell mass changed insignificantly from 30.5 ± 7.5 to 30.6 ± 7.34 ($p=0.35$) and up to 31 ± 7.21 kg ($p=0.15$). There was a decrease in the indicator «Extracellular fluid» by an average of 0.23 kg after 25 minutes and 0.3 kg after 50 minutes ($p=0.0003$ and $p=0.0002$).

The BMR index changed insignificantly from 861 ± 72.48 (kcal/m²/day) to 863.5 ± 70.03

(kcal/m²/day) ($p=0.38$) and to 863.7 ± 69.44 (kcal/m²/day) ($p=0.4$) after 25 min and respectively at the end of the study.

Table 2 describes bio-impedancemetry in detail. Table 3 presents the results of comparing scores at 25 and 50 minutes using the non-parametric Wilcoxon test for linked samples.

Table 2

Results of bio-impedancemetry

	Mean	SD	CI (-95 %)	CI (+95 %)	Median	Min	Max
Active cell mass (kg)	30.5	7.50	27.38	33.57	32.3	18.8	45.8
25 min	30.6	7.34	27.58	33.65	32.3	18.8	45.3
50 min	31.0	7.21	28.05	34.00	33.2	18.9	45.3
Extracellular fluid (kg)	15.8	2.88	14.57	16.95	15.4	11.6	21.3
25 min	15.5	2.72	14.41	16.65	15.2	11.5	20.9
50 min	15.5	2.77	14.32	16.60	15.2	11.4	20.8
BMR(kcal/m ² /day)	861.0	72.48	831.05	890.89	852.8	698.6	1004.2
25 min	863.5	70.03	834.63	892.44	862.4	699.7	1001.9
50 min	863.7	69.44	835.04	892.36	862.1	703.8	1002.7
Phase angle	6.8	0.81	6.50	7.17	7.0	4.8	8.2
25 min	7.0	0.80	6.66	7.32	7.0	4.9	8.4
50 min	7.1	0.82	6.72	7.39	7.2	4.9	8.5
Active resistance (50khz)	323.5	63.21	297.41	349.59	314.3	227.1	458.9
25 min	332.7	61.75	307.21	358.19	324.1	233.7	469.8
50 min	335.0	62.24	309.31	360.69	324.6	236.3	475.6
Active resistance (5khz)	651.7	97.07	611.66	691.80	640.1	484.8	875.7
25 min	669.6	98.19	629.02	710.08	666.9	497.2	897.2
50 min	677.2	99.34	636.24	718.25	674.6	504.3	911.3
Electrical reactance (50kHz)	38.6	5.44	36.39	40.88	37.8	29.5	50.1
25 min.	40.3	5.63	37.95	42.60	40.4	30.4	52.2
50min.	41.0	5.79	38.56	43.34	41.3	30.7	52.9
Electrical reactance (5kHz)	34.7	5.11	32.57	36.79	34.4	20.9	43.4
25 min	38.4	9.26	34.58	42.23	36.8	22.1	73.7
50 min	38.5	5.90	36.10	40.97	38.5	24.0	51.3

Table 3

Results of the paired Wilcoxon test for linked samples (bio-impedancemetry)

Compared samples	n	Average Difference (before and after)	SD difference	CI (-95 %)	CI (+95 %)	p
Active cell mass (kg)						
00 min & 25 min.	19	-0.14	0.62	-0.40	0.12	0.35
00 min Vs 50 min.	21	-0.55	2.05	-1.40	0.30	0.15
25 min Vs 50 min.	17	-0.41	2.03	-1.25	0.43	0.37
Extracellular fluid (kg)						
00 min Vs 25 min.	24	0.23	0.28	0.12	0.35	0.0003
00 min Vs 50 min.	25	0.30	0.25	0.19	0.41	0.0002
25 min Vs 50 min.	17	0.07	0.16	0.00	0.13	0.0148
BMR(kcal/m2/day)						
00 min Vs 25 min.	24	-2.57	11.61	-7.36	2.22	0.38
00 min Vs 50 min.	25	-2.73	10.88	-7.22	1.76	0.40
25 min Vs 50 min.	23	-0.16	3.50	-1.61	1.28	0.78
phase angle						
00 min Vs 25 min.	20	-0.16	0.17	-0.23	-0.09	0.0003
00 min Vs 50 min.	24	-0.22	0.14	-0.28	-0.17	0.0000
25 min Vs 50 min.	18	-0.07	0.08	-0.10	-0.03	0.0074
active resistance (50kHz)						
00 min Vs 25 min.	25	-9.20	9.90	-13.28	-5.11	0.0000
00 min Vs 50 min.	25	-11.50	10.55	-15.85	-7.14	0.0000
25 min Vs 50 min.	25	-2.30	3.12	-3.59	-1.01	0.0025
active resistance (5kHz)						
00 min Vs 25 min.	25	-17.82	7.90	-21.08	-14.56	0.0000
00 min Vs 50 min.	25	-25.51	10.18	-29.71	-21.31	0.0000
25 min Vs 50 min.	25	-7.69	8.41	-11.16	-4.22	0.0002
Electrical reactance (50 kHz)						
00 min Vs 25 min.	24	-1.64	1.05	-2.08	-1.21	0.0000
00 min Vs 50 min.	25	-2.32	1.09	-2.77	-1.87	0.0000
25 min Vs 50 min.	24	-0.68	0.69	-0.96	-0.39	0.0003
Electrical reactance (5 kHz)						
00 min Vs 25 min.	25	-3.72	7.00	-6.61	-0.83	0.0004
00 min Vs 50 min.	25	-3.86	3.02	-5.10	-2.61	0.0001
25 min Vs 50 min.	24	-0.13	6.01	-2.61	2.35	0.0010

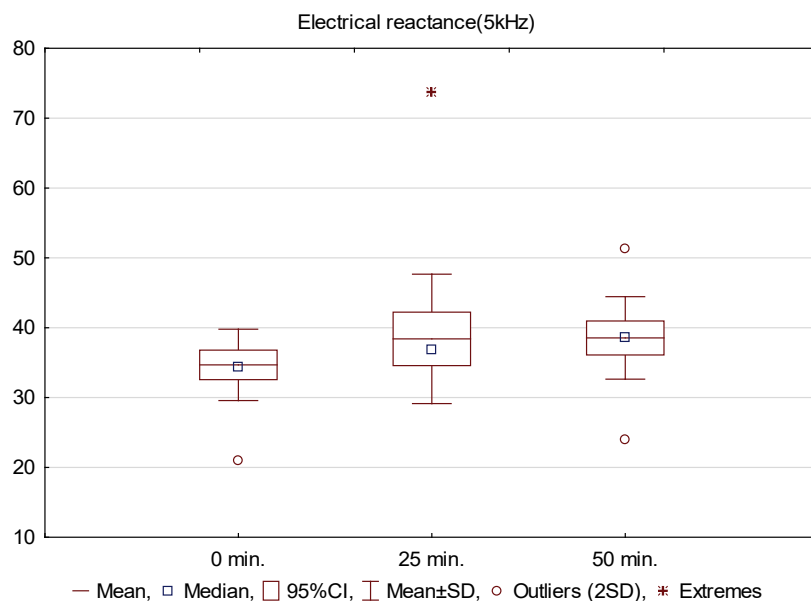


Fig. 2. Reactance readings (5 kHz)

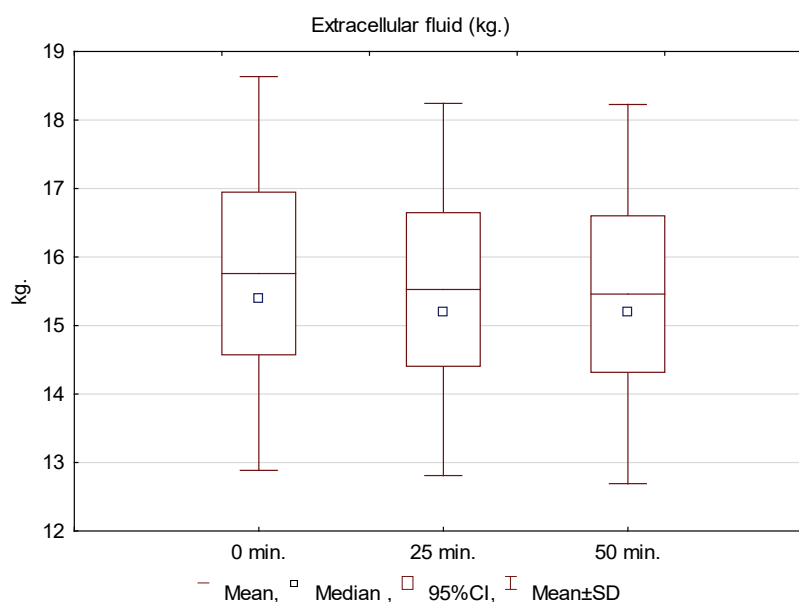


Fig. 3. Mass of extracellular fluid (kg)

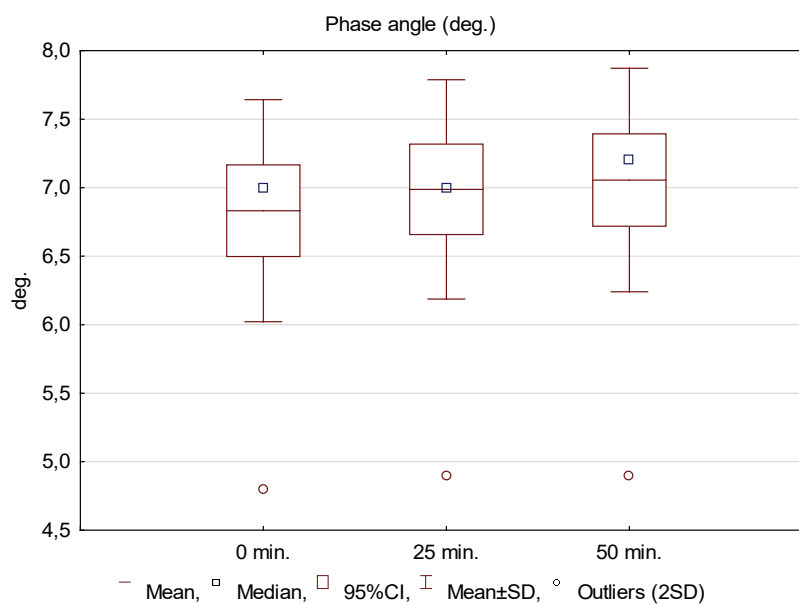


Fig. 4. Phase angle indicators

Angioscanning

The response of the cardiovascular system to LCH of the face was as follows: before the onset of cooling of the face the heart rate averaged 70 ± 14.13 beats/min. During the LCG of the person at 25 minutes the heart

rate decreased and averaged up to 65.5 ± 8.2 bpm; differences compared to the background averaged 4.48 bpm ($p < 0.009$). At the end of the exposure at the 50th minute the heart rate averaged 66.5 ± 9.45 bpm.

Oxygen saturation averaged 0.97 ± 0.02 ($97\% \pm 2\%$) ($p = 0.144$).

INP during the procedure decreased from 0.025 ± 0.02 to 0.015 ± 0.01 after 50 minutes ($p = 0.015$). Hardness before cooling was on average -0.150 ± 0.15 , after 25 minutes it became -0.206 ± 0.12 ($p = 0.004$) and after 50 minutes it was -0.200 ± 0.1 ($p = 0.029$).

At 25 minutes after the experiment's start the systole duration decreased from 32.3 ± 3.89 to 31.6 ± 3.78 ($p = 0.135$), then remained at the achieved level and slightly changed.

Table 4

Results of angioscanning

Compared samples	N	Average	SD	CI (-95 %)	CI (+95 %)	Mediana	Min	Max
Pulse (bpm)	25	70.0	14.13	64.13	75.79	69	47	120
25 min.	25	65.5	8.20	62.10	68.86	66	45	80
50 min.	25	66.5	9.45	62.58	70.38	64	46	85
O2 (%)	25	0.9709	0.0179	0.9635	0.9783	0.976	0.918	0.998
25 min.	25	0.9711	0.0156	0.9647	0.9775	0.971	0.933	0.999
50 min.	25	0.973	0.0160	0.9667	0.9799	0.979	0.933	0.999
(PPI) (%)	25	0.025	0.0203	0.0165	0.0332	0.020	0.004	0.080
25 min.	25	0.019	0.0172	0.0118	0.0259	0.012	0.002	0.066
50 min.	25	0.015	0.0133	0.0093	0.0203	0.010	0.002	0.052
Age(year)	25	35.0	8.6192	31.4022	38.52	35	20	55
25 min.	25	29.6	8.1142	26.2106	32.91	32	18	45
50 min.	25	28.9	6.9601	26.0070	31.7530	27	18	41
Stiffness(-%)	25	-0.150	0.1515	-0.2124	-0.0873	-0.202	-0.384	0.251
25 min.	25	-0.206	0.1234	-0.2574	-0.1555	-0.244	-0.372	0.053
50 min.	25	-0.200	0.0995	-0.2409	-0.1588	-0.226	-0.355	0.022
duration. systoles (%)	25	32.3	3.89	30.67	33.89	34	23	38
25 min.	25	31.6	3.78	30.00	33.12	32	24	36
50 min.	25	31.6	4.09	29.95	33.33	32	23	37

Table 5

Results of the paired Wilcoxon test for related samples (Angioscanning)

Compared samples	n	Average difference (before and after)	SD difference	CI (-95 %)	CI (+95 %)	p
Pulse(bpm)						
00 min. Vs 25 min	23	4.480	10.532	0.133	8.827	0.009
00 min. Vs 50 min	21	3.480	11.875	-1.422	8.382	0.102
25 min. Vs 50 min.	20	-1.000	4.252	-2.755	0.755	0.391
O2(%)						
00 min. Vs 25 min	21	-0.011	0.053	-0.033	0.011	0.728
00 min. Vs 50 min.	21	-0.013	0.054	-0.035	0.009	0.144
25 min. Vs 50 min.	20	-0.002	0.007	-0.005	0.001	0.065
(PPI) (%)						
00 min. Vs 25 min.	25	0.006	0.014	0.000	0.012	0.041
00 min. Vs 50 min.	23	0.010	0.017	0.003	0.017	0.015
25 min. Vs 50 min.	24	0.004	0.008	0.001	0.007	0.015
Age(year)						
00 min. Vs 25 min.	23	5.400	8.196	2.017	8.783	0.001
00 min. Vs 50 min.	25	6.080	8.655	2.507	9.653	0.000
25 min. Vs 50 min.	22	0.680	4.327	-1.106	2.466	0.485
Stiffness (-%)						
00 min. Vs 25 min.	25	0.057	0.136	0.000	0.113	0.004
00 min. Vs 50 min.	24	0.050	0.115	0.002	0.097	0.029
25 min. Vs 50 min.	24	-0.007	0.072	-0.036	0.023	0.054
Duration. systoles (%)						
00 min. Vs 25 min.	20	0.720	4.287	-1.050	2.490	0.135
00 min. Vs 50 min.	21	0.640	4.281	-1.127	2.407	0.434
25 min. Vs 50 min.	17	-0.080	2.914	-1.283	1.123	0.758

End of the table 5

Compared samples	n	Average difference (before and after)	SD difference	CI (-95 %)	CI (+95 %)	p
Stress						
00 min Vs 25 min.	25	3.720	35.511	-10.938	18.378	0.819
00 min Vs 50 min.	23	15.320	44.782	-3.165	33.805	0.121
25 min Vs 50 min.	24	11.600	34.693	-2.720	25.920	0.054

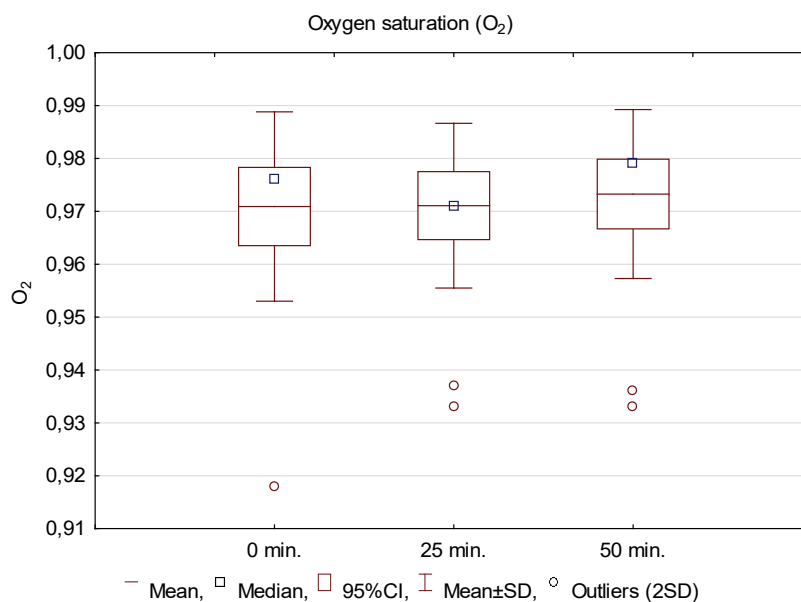


Fig. 5. Oxygen saturation Indicators

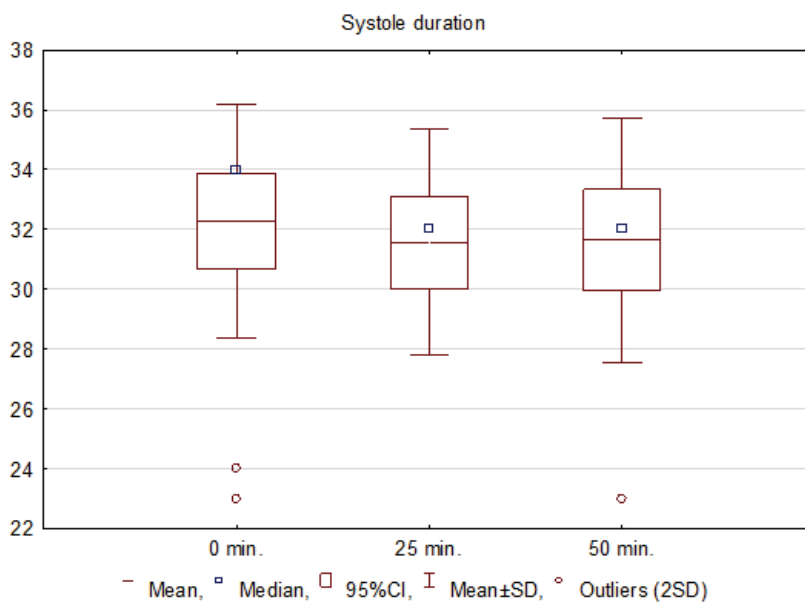


Fig. 6. The duration of systole

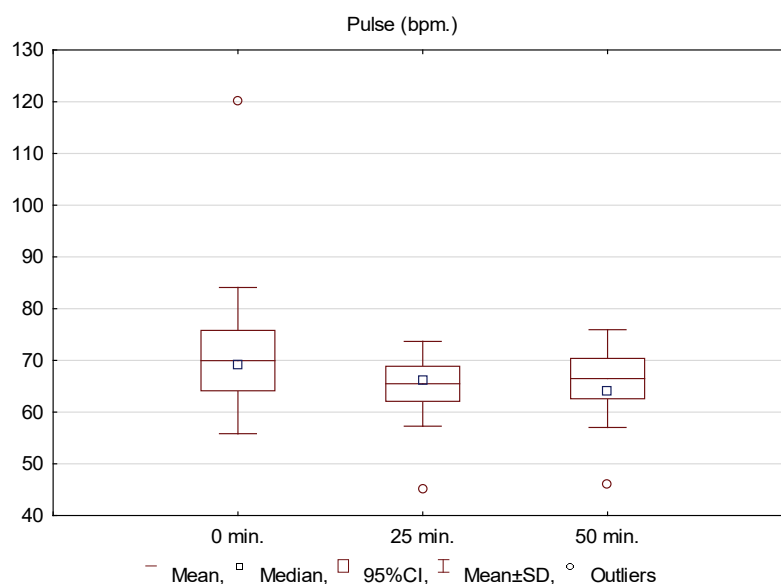


Fig. 7. The pulse rate

Thermometry

In the study group the minimum general temperature at the beginning of the study was $T^0=35.2^\circ$ at 25 minutes $T^{25}=35.3^\circ$ and at 50 minutes 34.9° in the beginning of the study. The maximum general temperature was $T^0=36.8^\circ$ and at 50 minutes $T^{25}=37.0^\circ$ at 50 minutes $T^{50}=36.8^\circ$. The average general initial temperature of the subjects fluctuated within the limits of $T^0=36.2^\circ$ after 25 minutes $T^{25}=36.3$; at 50 minutes $T^{50}_{general}=36.2^\circ$. There is a fluctuation in the value of the average total temperature in the amount of $\pm 0.1^\circ$ for 50 minutes (Table 1).

In the study group the minimum local temperature at the beginning of the study was $T^0=35.2^\circ$ at 25 minutes

$T^{25}=35.3^\circ$ at 50 minutes 34.9° . The maximum general temperature at the beginning of the study was $T^0=36.8^\circ$ after 25 minutes $T^{25}=37.0^\circ$ and at 50 minutes $T^{50}=36.8^\circ$. The average general initial temperature of the subjects fluctuated within the limits of $T^0=36.2^\circ$. At the 25th minute $T^{25}=36.3$; at 50 minutes $T^{50}_{local}=36.2^\circ$. There is a decrease in the average temperature of the subjects by 0.4° for 50 minutes.

The average local initial temperature of the buccal mucosa in the subjects fluctuated within $T^0=35.3^\circ$ at 25 minutes $T^{25}=35.0^\circ$; at 50 minutes $T^{50}=34.9^\circ$. Over 50 minutes the average temperature decreased by 0.4° .

Table 6

Results of thermometry

	N	Mean	SD	CI (-95 %)	CI (+95 %)	Median	Min	Max
T g	25	36.2	0.48	35.99	36.39	36.3	35.2	36.8
25 min.	25	36.3	0.48	36.13	36.53	36.4	35.3	37.0
50min.	25	36.2	0.55	36.00	36.45	36.4	34.9	36.8
T. лок.	25	35.3	0.57	35.04	35.51	35.5	34.0	36.0
25 min.	25	35.0	0.94	34.66	35.43	35.0	33.1	36.5
50min.	25	34.9	0.95	34.48	35.26	35.0	32.9	36.4

Table 7

Results of the paired Wilcoxon test for related samples (Thermometry)

	n	mean difference	SD	CI -95 %	CI +95 %	p
General temperature						
00 min Vs 25 min.	21	-0.14	0.29	-0.26	-0.02	0.03
00 min Vs 50 min.	17	-0.03	0.32	-0.16	0.10	0.33
25 min Vs 50 min.	18	0.11	0.22	0.02	0.20	0.07
Local temperature						
00 min Vs 25 min.	24	0.23	0.75	-0.08	0.54	0.28
00 min Vs 50 min.	25	0.41	0.82	0.07	0.75	0.06
25 min Vs 50 min.	24	0.18	0.51	-0.03	0.39	0.09

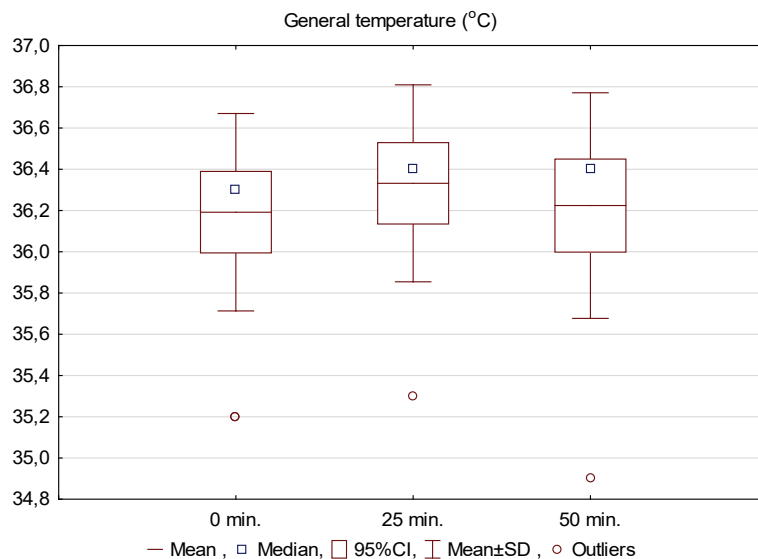


Fig. 8. General temperature

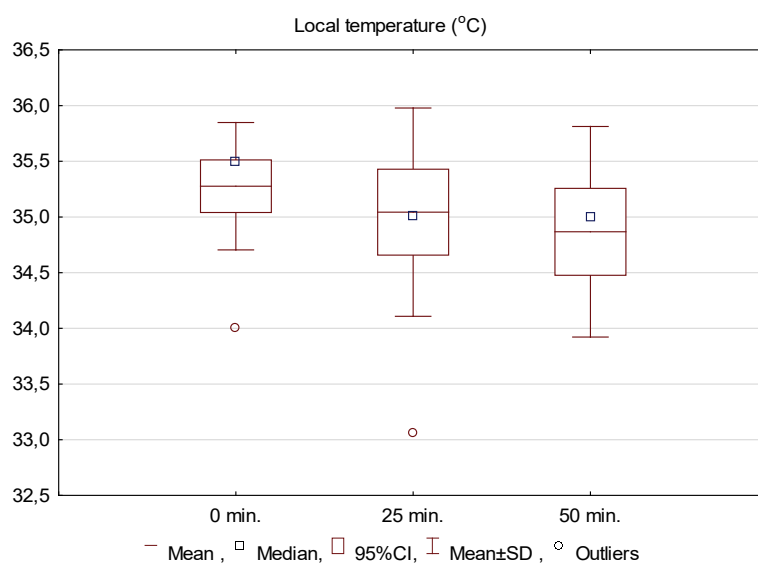


Fig. 9. Local temperature

Discussion

Close neuronal connections between the trigeminal nerve and the vagus, which regulates the vital activity of internal organs, determine the presence of trigemino-vagal reflexes (oculo-cardiac, corneal, jaw, lacrimal reflexes). The spinal trigeminal nucleus of the trigeminal nerve receives and processes impulses from temperature receptors. Nevertheless, in the available literature we did not find data for the presence of pathological reflexes associated with temperature exposure to the face.

Excessive cooling of local tissues can lead to decompensation of the inflammatory response after complex extractions of third molars. The critical temperature for changing nerve impulse speed is 27 °C [19]. A decrease in tissue temperature suppresses the metabolic rate of the damaged tissue and enzymatic processes [20].

Zachariassen [21] reported that a 10 °C decrease resulted in a 50 % reduction in enzymatic metabolism. In this study we used a mode with a target temperature of 18 °C, which is more optimal for reducing postoperative edema in the maxillofacial region. The time at which local hardware hypothermia was applied was 50 minutes. In vivo Deal et al. [22] noted in rats that ice application for 20 minutes after surgery reduced vascular permeability and edema.

The edema of post-injury rats was reduced by 30 minutes of immersion in cold water (12.8 to 15.6 °C) [19, 22]. However, for use in the subjects it was decided to perform hypothermia for 50 minutes, which is reasonable.

Several studies have evaluated the effect of cryotherapy on mucosal ridge temperature. Possoff found that cheek thickness varied between 10 and 19 mm among patients, with an average thickness of 15 mm. He noted that after applying ice to the cheek, the temperature of the mucosa was inversely proportional to the thickness of the cheek. When applying an ice bag wrapped in a towel and applied to the cheek for 30 minutes, the temperature of the mucous membrane of the alveolar ridge decreased on average by only 1 °C [23], which is consistent with the results of our preclinical studies, Intraorally. Fouke et al. demonstrated that cold buccal stimulation (a cold cylinder filled with liquid for 12 minutes) decreased oral mucosal temperature by

2.34 °C [24]. According to other researchers, applying cold water or ice [26] has virtually no effect on the mucosal temperature of the alveolar ridge mucosa.

It was of primary interest to obtain data on tissue resistance. An increase in active (at a frequency of 50 kHz) and reactive (at a frequency of 50 kHz) resistance was revealed, which indicates a decrease in the degree of tissue hydration and can be interpreted as an anti-edematous effect of local hypothermia. Reactance is the property of storing variable electrical energy in the form of an electric field. This Reactance is due to the dynamic characteristics of cell membranes, which act as an electrical capacitor [27]. Cell membrane capacity can be used to indicate lean and intracellular body mass associated with extra- and intracellular water balance [28]. This parameter of bio-impedancemetry allows practitioners to consider the volume and reactive density of body tissues to assess the amount of fluid.

Clinically, the most indicative and general parameter of bio-impedancemetry is the phase angle required for diagnosis and clinical prognosis associated with changes in the integrity of cell membranes and changes in fluid balance in the human body [29]. The phase angle expresses changes in the permeability of the cell membrane and the degree of tissue moisture. Therefore, the phase angle depends on the one hand on the capacitive behavior of dependent tissues associated with the cell pool cell size and cell membrane integrity, and on the other hand on its resistance to tissue hydration. Many clinical trials are currently underway, in which the phase angle is proposed as a useful prognostic marker [30, 31, 32]. In this experimental work the phase angle was within the reference values at all time points (0.25.50 minutes), which indicates the absence of negative effects of LCH.

Active cell mass is a measure of body cell mass. This indicator contains information about the mass of metabolically active tissues in the body. Decreased values of the active cell mass may indicate a lack of protein nutrition, as well as low metabolic activity. Active cell mass changed insignificantly from 30.5 ± 7.5 to 30.6 ± 7.34 ($p=0.35$) and up to 31 ± 7.21 kg ($p=0.15$), which indicates the absence of acute pathological factors from the side of LCH at all time intervals.

Edema is the result of an imbalance in the filtration system between the capillary and interstitial spaces. The kidneys play a crucial role in regulating extracellular fluid volume by regulating sodium and water excretion. The main causes of edema are venous obstruction increased capillary permeability and increased plasma volume caused by sodium and water retention [33]. Our results showed a decrease in the extracellular fluid index by an average of 0.23 kg after 25 minutes and 0.3 kg after 50 minutes ($p=0.0003$ and $p=0.0002$). This fact dictates the positive effect of LCH within 50 minutes. In our opinion a gradual decrease in the extracellular fluid index indicates a positive vasoconstrictor, as well as a drainage effect of LCH due to the thermal control of local tissues.

The definition of hypothermia is a drop in body temperature below 35 °C. Cardiac surgeons distinguish four stages of hypothermia: mild, moderate, deep and profound. The organ protection afforded by deep hypothermia ensures safe circulatory arrest as a precondition for cardiac surgery [34].

The brain consumes about 20 % of all oxygen in the body [35]. With a gradual decrease in body temperature, chemical reactions, oxygen consumption and energy requirements decrease. The main protective effect of LCH during circulatory arrest at the cellular level is to reduce the concentration of hydrogen ions. Physical temperature decrease, water dissociation and consequently lower concentration of hydrogen ions significantly slow down biochemical processes, which leads to cell death [36].

This is consistent with studies demonstrating that intracellular acidosis occurs first in the brain, then in the heart and finally in other organs [37]. Mezrow in his study, found that a 10 °C decrease in body temperature reduced brain metabolic activity by a factor of 4 and thus increased ischemia tolerance [38]. For only 5 minutes after which irreversible changes occur in the brain. Our study wants to note a gradual decrease in heart rate to safe values. Initially the average pulse rate for the subjects was 70 ± 14.13 beats/min. After applying LCG at 25 minutes it decreased to the mark and averaged 65.5 ± 8.2 bpm; differences compared to the background averaged 4.48 bpm ($p < 0.009$). At the

end of the exposure at the 50th minute the heart rate averaged 66.5 ± 9.45 bpm. A decrease in heart rate is associated with a slowdown in metabolic processes in the body due to various factors: the recumbent position of the subjects, which led to a drowsy state, the use of LCH, and a decrease in cellular metabolism due to controlled angiosperm.

At the same time the INP index decreased from 0.025 ± 0.02 to 0.015 ± 0.01 after 50 minutes ($p=0.015$). Oxygen saturation averaged 0.97 ± 0.02 (97 % \pm 2 %) ($p=0.144$). Peripheral vascular stiffness before cooling was on average -0.150 ± 0.15 after 25 minutes it became -0.206 ± 0.12 ($p = 0.004$) and after 50 minutes it was -0.200 ± 0.1 ($p = 0.029$). An increase in vascular stiffness is associated with an increase in the tone of the muscle layer, resulting in a decrease in temperature. The duration of systole 25 minutes after the start (decreased) decreased from 32.3 ± 3.89 to 31.6 ± 3.78 ($p=0.135$), then remained at the achieved level changed slightly. The human brain is subject to self-regulatory mechanisms that link cerebral blood flow to brain oxygen consumption and metabolic activity. As a result, this allows stopping blood circulation safely with normothermia for only 5 minutes, after which irreversible changes occur in the brain tissues.

Conclusion

Our study demonstrated that exposure to local controlled hypothermia of 18—20 °C did not change the principal vital signs in healthy people, while a decrease in tissue hydration was recorded. The revealed physiological effect of local hypothermia justifies using this temperature regime to reduce postoperative edema.

References / Библиографический список

1. Keramidas ME, Kölegård R, Mekjavic IB, Eiken O. Interactions of mild hypothermia and hypoxia on finger vasoreactivity to local cold stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2019;317(3):R418-R431. doi:10.1152/ajpregu.00103.2019
2. Kounalakis SN, Keramidas ME, Amon M, Eiken O, Mekjavic IB. A 10-day confinement to normobaric hypoxia impairs toe, but not finger temperature response during local cold stress. *J Therm Biol*. 2017;64:109—115. doi:10.1016/j.jtherbio.2017.01.009


3. Keramidias ME, Kölegård R, Eiken O. In Shackleton's trails: Central and local thermoadaptive modifications to cold and hypoxia after a man-hauling expedition on the Antarctic Plateau. *J Therm Biol.* 2018;73:80—90. doi:10.1016/j.jtherbio.2018.02.010
4. Cheung SS, Daanen HA. Dynamic adaptation of the peripheral circulation to cold exposure. *Microcirculation.* 2012;19(1):65—77. doi:10.1111/j.1549—8719.2011.00126.x
5. Flouris AD, Cheung SS. Influence of thermal balance on cold-induced vasodilation. *J Appl Physiol (1985).* 2009;106(4):1264—1271. doi:10.1152/jappphysiol.91426.2008
6. Hodges GJ, Mallette MM, Cheung SS. Cutaneous neural activity and endothelial involvement in cold-induced vasodilatation. *Eur J Appl Physiol.* 2018;118(5):971—978. doi:10.1007/s00421-018—3832—0
7. Keatinge WR. The effect of low temperatures on the responses of arteries to constrictor drugs. *J Physiol.* 1958;142:395—405 doi:10.1113/jphysiol.1958.sp006025
8. Bergersen TK, Hisdal J, Walløe L. Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilatation. *Am J Physiol.* 1999;276(3): R 731-R 737. doi:10.1152/ajpregu.1999.276.3.R 731
9. Caldwell JN, Matsuda-Nakamura M, Taylor NA. Interactions of mean body and local skin temperatures in the modulation of human forearm and calf blood flows: a three-dimensional description. *Eur J Appl Physiol.* 2016;116(2):343—352. doi:10.1007/s00421-015-3288-4
10. Lewis T. Observations upon the reactions of the vessels of the human skin to cold. *Heart.* 1930;1915:177—208.
11. Sendowski I, Savourey G, Besnard Y, Bittel J. Cold induced vasodilatation and cardiovascular responses in humans during cold water immersion of various upper limb areas. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;75(6):471—477. doi:10.1007/s004210050191
12. Edwards MA. The role of arteriovenous anastomoses in cold-induced vasodilation, rewarming, and reactive hyperemia as determined by ²⁴Na clearance. *Can J Physiol Pharmacol.* 1967;45(1):39—48. doi:10.1139/y67-004
13. Grant RT, Bland EF. Observation on arteriovenous anastomoses in human skin and in the bird's foot with special reference to the reaction to cold. *Heart.* 1931;15:385—411.
14. Bergersen TK, Eriksen M, Walløe L. Local constriction of arteriovenous anastomoses in the cooled finger. *Am J Physiol.* 1997;273(3 Pt 2): R 880-R 886. doi:10.1152/ajpregu.1997.273.3.R 880
15. Bini G, Hagbarth KE, Hynninen P, Wallin BG. Thermoregulatory and rhythm-generating mechanisms governing the sudomotor and vasoconstrictor outflow in human cutaneous nerves. *J Physiol.* 1980;306:537—552. doi:10.1113/jphysiol.1980.sp013413
16. Lossius K, Eriksen M, Walløe L. Thermoregulatory fluctuations in heart rate and blood pressure in humans: effect of cooling and parasympathetic blockade. *J Auton Nerv Syst.* 1994;47(3):245—254. doi:10.1016/0165-1838(94)90185-6
17. Ogino MH, Tadi P. Neuroanatomy, Trigeminal Reflexes. In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2022. 326 p.
18. Millet JD, Brown RK, Levi B. Frostbite: Spectrum of Imaging Findings and Guidelines for Management. *Radiographics.* 2016;36(7):2154—2169. doi:10.1148/rg.2016160045
19. McLean DA. The use of cold and superficial heat in the treatment of soft tissue injuries. *Br J Sports Med.* 1989;23(1):53—54. doi:10.1136/bjism.23.1.5320.
20. Hubbard TJ, Denegar CR. Does Cryotherapy Improve Outcomes With Soft Tissue Injury? *J Athl Train.* 2004;39(3):278—279.
21. Zachariassen KE. Hypothermia and cellular physiology. *Arctic Med Res.* 1991;50(Suppl 6):13—17.
22. Deal DN, Tipton J, Rosencrance E, Curl WW, Smith TL. Ice reduces edema. A study of microvascular permeability in rats. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84(9):1573—1578.
23. Possoff A. External thermal applications in postextraction therapy. *J Am Dent Assoc.* 1955;50(2):147—156. doi:10.14219/jada.archive.1955.0040
24. Fouke JM, Wolin AD, Bowman HF, McFadden ER Jr. Effect of facial cooling on mucosal blood flow in the mouth in humans. *Clin Sci (Lond).* 1990;79(4):307—313. doi:10.1042/cs0790307
25. Bierman W. The History of Fever Therapy in the Treatment of Disease. *Bull N Y Acad Med.* 1942;18(1):65—75.26.
26. Van der Westhuijzen AJ, Becker PJ, Morkel J, Roelse JA. A randomized observer blind comparison of bilateral facial ice pack therapy with no ice therapy following third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34(3):281—286. doi:10.1016/j.ijom.2004.05.006
27. Swantek PM, Crenshaw JD, Marchello MJ, Lukaski HC. Bioelectrical impedance: a nondestructive method to determine fat-free mass of live market swine and pork carcasses. *J Anim Sci.* 1992;70(1):169—177. doi:10.2527/1992.701169x
28. Altmann M, Pliquett U, Suess R, von Borell E. Prediction of lamb carcass composition by impedance spectroscopy. *J Anim Sci.* 2004;82(3):816—825. doi:10.2527/2004.823816x
29. Barbosa-Silva MCG, Barros AJD, Wang J, Heymsfield SB, Pierson RN Jr. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:49—52.
30. Nescolarde L, Piccoli A, Román A et al. Bioelectrical impedance vector analysis in haemodialysis patients: relation between oedema and mortality. *Physiol Meas.* 2004;25(5):1271—1280. doi:10.1088/0967-3334/25/5/016
31. Maggiore Q, Nigrelli S, Ciccarelli C, Grimaldi C, Rossi GA, Michelassi C. Nutritional and prognostic correlates of bioimpedance indexes in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1996;50(6):2103—2108. doi:10.1038/ki.1996.535
32. Pupim LB, Kent P, Ikizler TA. Bioelectrical impedance analysis in dialysis patients. *Miner Electrolyte Metab.* 1999;25(4—6):400—406. doi:10.1159/000057482
33. O'Brien JG, Chennubhotla SA, Chennubhotla RV. Treatment of edema. *Am Fam Physician.* 2005;71(11):2111—2117.
34. Gocoł R, Hudziak D, Bis J, Mendrala K, Morkisz Ł, Podsiadło P, Kosiński S, Piątek J, Darocha T. The Role of Deep Hypothermia in Cardiac Surgery. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(13):7061. doi: 10.3390/ijerph18137061. PMID: 34280995; PMCID: PMC 8297075.
35. Jain V, Langham MC, Wehrli FW. MRI estimation of global brain oxygen consumption rate [published correction appears in *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010 Dec;30(12):1987] [published correction appears in *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011 May;31(5):1336]. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010;30(9):1598—1607. doi:10.1038/jcbfm.2010.49
36. Norwood WI, Norwood CR. Influence of hypothermia on intracellular pH during anoxia. *Am J Physiol.* 1982;243(1):62—65. doi:10.1152/ajpcell.1982.243.1.C 62
37. Jonas RA, Bellinger DC, Rappaport LA, Wernovsky G, Hickey PR, Farrell DM, Newburger JW. Relation of PH Strategy

and Developmental Outcome after Hypothermic Circulatory Arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1993;106:362—368.


38. Mezrow CK, Midulla PS, Sadeghi AM, Gandsas A Wang W, Dapunt OE, Zappulla R, Griep RB. Evaluation of Cerebral Metabolism

and Quantitative Electroencephalography after Hypothermic Circulatory Arrest and Low-Flow Cardiopulmonary Bypass at Different Temperatures. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1994;107:1006—1019.

Влияние локальной аппаратной гипотермии на физиологические процессы организма

Н.А. Гусейнов  , М.Х. Хаммори , А.А. Мураев , С.Ю. Иванов ,
Е.А. Лукьянова , А.С. Клименко , М.А. Ноиразлиги 

Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

 nid.gus@mail.ru

Аннотация. Актуальность. Холодовая вазодилатация является ответной реакцией на снижение температуры как локальной, так и общей. Дозированная контролируемая гипотермия является терапевтическим методом лечения различных патологических процессов. **Материалы и методы.** В нашем исследовании мы проанализировали различные показатели общего состояния организма человека под воздействием локальной контролируемой гипотермии. В исследовании участвовали здоровые добровольцы в количестве 25 человек, мужского (14) и женского (11) пола в возрасте от 21 до 34 лет. Исследование проводили в кабинете при постоянной температуре 25 °С, относительной влажности 30 ± 5 %, атмосферном давлении 765 мм рт. ст., в тишине и умеренной освещенности. Инструментами оценки являлись биоимпедансиметрия, ангиосканирование, а также общая термометрия. Также была проведена локальная термометрия слизистой оболочки щеки для выявления температурных корреляций между локальной гипотермией и температурой слизистой щеки. Локальная контролируемая гипотермия лица проводилась наложением упруго-эластичной маски на лицо испытуемого, охлаждающему жидкость и поддерживающему ее циркуляцию аппаратом ViTherm. За счет циркуляции охлажденной жидкости в маске, происходило охлаждение лица. Маска перекрывала околоушно-жевательную, щечную, скуловую и подглазничные области справа и слева. Локальная контролируемая гипотермия длилась 50 минут, температура циркулирующей жидкости составляла 18 °С. **Результаты и обсуждение.** Нами было выявлено, что воздействие локальной контролируемой гипотермии 18—20 °С не изменяло основных показателей жизнедеятельности у здоровых людей: активная клеточная масса, реактивное сопротивление, внеклеточная жидкость, насыщенность кислородом, длительность систолы, пульс, общая температура. При этом было зарегистрировано снижение гидратации тканей. Выявленное физиологическое влияние локальной гипотермии обосновывает использование данного температурного режима для снижения послеоперационных отеков. **Выводы.** В силу отсутствия отрицательных эффектов локальной контролируемой гипотермии на показатели жизнедеятельности организма человека, актуальна разработка и применения данного инструмента в клинической практике, в том числе хирурга стоматолога.

Ключевые слова: локальная гипотермия, биоимпедансометрия, ангиосканирование, термометрия

Вклад авторов: Гусейнов Н.А. — проведение эксперимента, написание текста статьи, поиск литературы, анализ литературы; Хаммори М.Х. — проведение эксперимента; анализ и поиск литературы; Мураев А.А. — коррекция структуры и содержания текста обзора, написание выводов; Иванов С.Ю. — коррекция структуры и содержания текста обзора, написание выводов; Лукьянова Е.А. — статистический анализ, написание текста статьи; Клименко А.С. — коррекция структуры и содержания текста обзора, написание выводов; Ноиразлиги М. — перевод и коррекция структуры и содержания текста статьи. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

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

Информированное согласие на публикацию. Все пациенты предоставили добровольное информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация WMA— Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека, 2013 г.) и согласие на обработку персональных данных.

Этическое утверждение. Экспериментально-клиническое исследование одобрено локальным комитетом по этике РУДН, протокол № 5 заседания Комитета по этике Медицинского института РУДН от 17 февраля 2022 г.

Благодарности— неприменимо.

Поступила 11.08.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Guseynov N.A., Hammouri M.H., Muraev A.A., Ivanov S.Y., Lukianova E.A., Klimenko A.S., Noerazlighi M.A. Local hardware hypothermia influence on the physiological processes // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 243—258. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-243-258

Corresponding author: Guseynov Nijat Aydin oglu — PhD student of the Department of Oral and Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Peoples' Friendship University of Russia, 117198, ul. Miklukho-Maklaya, 10, Moscow, Russian Federation. E-mail: nid.gus@mail

Guseynov N.A. ORCID 0000-0001-7160-2023

Hammouri M.H. ORCID 0000-0002-0886-9160

Muraev A.A. ORCID 0000-0003-3982-5512

Ivanov S.Y. ORCID 0000-0001-5458-0192

Lukianova E.A. ORCID 0000-0002-6440-6662

Klimenko A.S. ORCID 0000-0001-8591-3746

Noerazlighi M.A. ORCID 0000-0002-3636-9091

Ответственный за переписку: Гусейнов Ниджат Айдын оглы — аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая 10. E-mail: nid.gus@mail.ru

Гусейнов Н.А. SPIN-код 9417-7948; ORCID 0000-0001-7160-2023

Хаммори М.Х. SPIN-код 5987-3291; ORCID 0000-0002-0886-9160

Мураев А.А. SPIN-код 1431-5936; ORCID 0000-0003-3982-5512

Иванов С.Ю. SPIN-код 2607-2679; ORCID 0000-0001-5458-0192

Лукьянова Е.А. SPIN-код 9522-7490; ORCID 0000-0002-6440-6662


Клименко А.С. SPIN-код 1804-8548; ORCID 0000-0001-8591-3746

Ноиразлиги М.А. ORCID 0000-0002-3636-9091

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-259-273

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Rat adrenal medulla modular organization

Konstantin G. Kemoklidze  , Natalia A. Tyumina Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation
 K_G_K@mail.ru

Abstract. Relevance. The concept of the tissue morpho-functional units (modules) of the adrenal medulla is currently not fully developed for adrenaline-storing (A-) cells and completely undeveloped for noradrenaline-storing (NA-) cells. *Aim.* Separately for A- and NA-cells, establish modules in adrenal medulla based on criteria developed by fundamental histology. *Materials and Methods.* The study used serial, semithin, and ultrathin sections of the adrenal glands, 7–9 μm thick, from 6 adult male Wistar rats (weight 335 ± 25 g). The sections were stained according to the Honoré method with additional staining with toluidine blue, which allows one to reliably distinguish between A and HA cells in the medulla. A cells are stained blue and HA cells are stained green. Light and electron microscopy was used to visualize serial, semithin, and ultrathin sections of the adrenal glands of adult male rats with A- and HA-cell differentiation. *Results and Discussion.* A-cells formed round clusters, in which they were located in one layer on the basement membrane. Their lateral sides closely adjoined each other, while the inner sides (the central part of the complexes) formed intercellular expansions, microprotrusions, and primary cilia. Less firmly pressed NA-cells formed polyhedral beams. Both types of cell complexes were associated with auxiliary components (stromal, nervous, circulatory, etc.). The central expansions of A-cell round clusters apparently to serve to retain some of the already produced adrenaline, which increases the readiness of the medulla to rapidly release large amounts of adrenaline in case of hyperacute stress. Accordingly, the adherence of A-cell complexes to a rounded shape is determined by the need to create such central isolated storage expansions. NA-cells are located more freely and do not form isolated intercellular expansions. This allows NA-cells to wedge between stably round A-cell complexes and form polyhedral beams as a result. *Conclusion.* It was found that the rat adrenal medulla contains two logically and morpho-functionally distinct types of specific modules. A-module are A-cells rounded cluster and NA-module is polyhedral NA-cells beam, both associated with auxiliary components.

Keywords: adrenal medulla, chromaffin cells, adrenalocyte, noradrenalocyte, modules, morpho-functional units

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

Author contributions. Kemoklidze K.G. — concept and design of the study, interpretation of the data, manuscript preparation and editing; Tyumina N.A. — collection and processing of material, analysis of the obtained data. All authors have made significant contributions to the manuscript writing, read and approved final version before publication.

© Kemoklidze K.G., Tyumina N.A., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Conflict of interest statement. The authors declare they have no conflict of interest.

Ethics approval. Work with animals was carried out in accordance with the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 199n dated 01.04.2016 and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council dated 22.09.2010.

Acknowledgements —not applicable.

Consent for publication —not applicable.

Received 07.08.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Kemoklidze KG, Tyumina NA. Rat adrenal medulla modular organization. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):259—273. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-259-273

Introduction

From the point of view of fundamental histology, specific tissue modules of an organ (hereinafter simply modules) are its morpho-functional units, which are the smallest (elementary) repetitive tissue systems capable of performing a function specific to this organ. Such modules consist of a main component that ensures the performance of a function specific to an organ, and a complex of auxiliary (supporting, trophic, regulatory, and immune) structures that create the necessary conditions for its functioning [1—3]. In turn, auxiliary components can be mandatory and optional. Mandatory auxiliary components are an integral part of the module both morphologically and functionally. The presence of optional components is of an irregular nature and is not of fundamental importance for the organization of the module.

Concept of modules implies the structure and function of individual cells strongly depend on their role and place in the module. The importance of the modular concept is confirmed by the fact that the study of organs, the idea of modules in which has long been established (kidney nephrons, lung acini, liver lobules, etc.), invariably implies an appeal to the state of these important structural complexes, both in the norm and in pathology. At the same time, the idea of the modules of the adrenal medulla has developed only partially. Usually, when describing its structure in the scientific and educational literature, modules are either not mentioned at all or vague and highly

varying formulations are used about the existence of certain cellular complexes in it. Such a simplifying approach impoverishes the understanding of both the structure and function of the adrenal medulla, which is an important part of the sympathoadrenal system and plays a key role in the body's adaptation to stress. Accordingly, the question of the modules of the adrenal medulla needs significant improvement. A convenient object in this respect is the medulla of adult laboratory rats, since their medulla has been studied in the most detailed and versatile way.

Main component of the adrenal medulla is chromaffin tissue. This tissue makes up about 60 % of the adult rat medulla. Blood vessels occupy about 25 % (mainly due to extensive thin-walled venous sinuses) in the medulla, and connective tissue, nerve and other components divide the remaining volume [4, 5]. Two main subpopulations of chromaffinocytes form rat chromaffin tissue: adrenaline-storing and noradrenaline-storing cells (A-cells and NA-cells). A third type of chromaffin cells, small granule containing (SGC) cells, has also been described in the rat adrenal medulla. Perhaps these cells are an intermediate form between neurons and chromaffinocytes or a variant of small intensely fluorescent (SIF) ganglion cells [6—10]. One way or another, these cells in the adrenal medulla of the rat are very few in number and they cannot serve as the structural basis for the required modules.

Hillarp [11] is believed to have first raised the question of the functional units of the adrenal medulla.

He drew attention to the fact that the chromaffinocytes of the rat adrenal medulla reacted to the introduction of insulin by degranulation not singly, but in complexes. Some complexes remained non-degranulated even under very strong exposure. With partial transection of the celiac nerve, some cell complexes degranulated only partially. Hillarp suggested each neuron innervates a limited number of cells, which combine into one or possibly several complexes and thus can respond as functional units. Later, the reaction according to the type of functional units was confirmed by electrophysiological methods by Iijima and coauthors [12], and Kajiwara with coauthors [13]. The authors determined the morphological parameters of these units. Their diameter is about 80 μm . Each contains approximately 100 cells and 4 nerve fibers. Each cell has 1 to 4 synapses. Martin, showed that chromaffinocytes are united into functional units not only by common innervation, but also by gap junctions that transmit impulses within it [14]. Unfortunately, in these very interesting works, complexes of A- and NA-cells, which differ very significantly both functionally and morphologically, were not differentiated. Also, the ultrastructural principles of the organization of chromaffinocytes into modules are poorly covered in the literature and there are no explanations for the reasons for the modular organization of the adrenal medulla.

The present work is devoted to the establishment of modules in the adrenal medulla of rats on the basis of clear criteria developed by fundamental histology. We will also pay more attention to the differences between the complexes of A- and NA-cells.

Materials and methods

In the spirit of modern trends in the protection of animals and the environment, collection preparations were used for histological examination: serial sections of 7—9 μm thick adrenal glands of 6 adult male Wistar rats (8 months old, 335 ± 25 g weight). These sections were stained according to the method of Honoré [15] with additional staining with toluidine blue, which makes it possible to reliably distinguish between A-

and NA-cells in the medulla. A-cells are stained blue, and NA-cells are green. The preparation procedure for preparations of this collection is described in detail in our recent publication [16].

For transmission electron microscopy (TEM), we used 6 adult male Wistar rats with similar parameters (8 months old, 343 ± 18 g weight). The handling of animals was in accordance with national and international legal standards: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 199n dated 01.04.2016 and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council dated 22.09.2010. After euthanasia of the animals with the anesthetic zoletil, we removed the adrenal glands, fixed with 2.5 % glutaraldehyde and 1 % osmium tetroxide, embedded in epon, and prepared semi-thin and ultra-thin sections.

We stained the semithin (1 μm) sections for light microscopy with 1 % methylene blue and contrasted the ultrathin sections for TEM with uranyl acetate. Classical for TEM fixation of samples in glutaraldehyde and post-fixation in osmium tetroxide allows reliable differentiation of different types of chromaffin cells. A-cells contain homogeneous granules of moderate optical and electron density, while NA-cells contain granules with an asymmetrically located core of high optical and electron density [17, 18]. We used a transmission electron microscope JEM-1011, JEOL Ltd.

We loaded photographs of randomly selected sections into ImageJ (freeware), detected complexes of A- and NA-cells and calculated their sizes: linear dimensions and cross-sectional area (40 measurements for each of 6 animals).

Results and Discussion

The adrenal medulla contained complexes of chromaffin cells and auxiliary components. The structure of these complexes for A- and NA-cells differed significantly both at the light-optical and ultrastructural levels.

A-cells formed round clusters (RCs) separated by thin layers of connective tissue (Figs. 1, 2, 3). The area of such RCs was $2316.9 \pm 356.6 \mu\text{m}^2$.

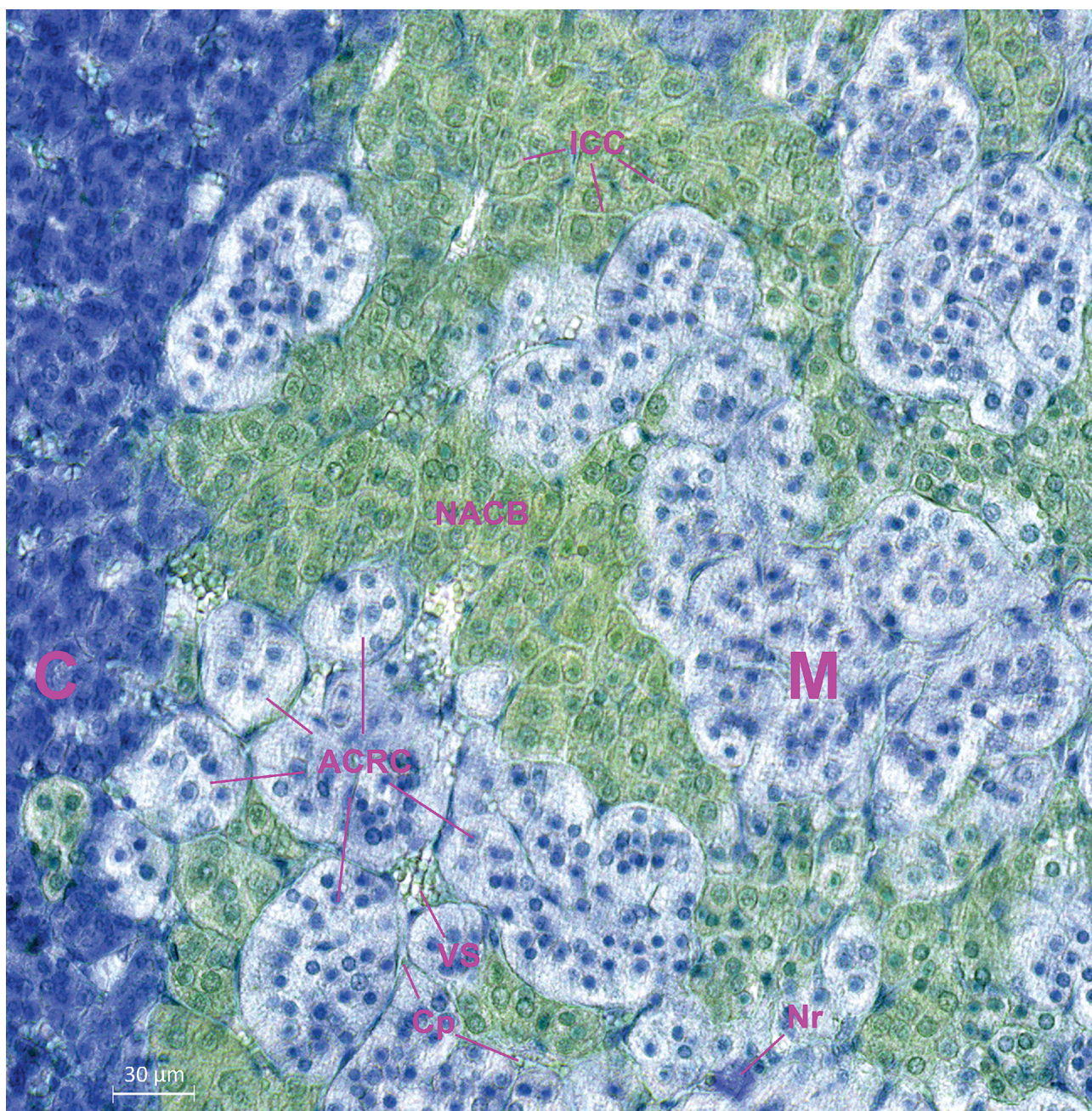


Fig. 1. Fragment of a full-size photograph (scan) of one of the serial sections of an adult rat adrenal gland. C – cortex, M – medulla, ACRC – adrenocortical rounded clusters, NACB – noradrenocytobeam, VS – venous sinus, Cp – capillaries, Nr – neuron, ICC – intercellular contacts. Honoré staining, 20x objective High-resolution scan shown in Figure 1: <https://drive.google.com/file/d/10DKasT976MJiQKUvqj0juaQLLWUI6fBb/view?usp=sharing>

Tracing the contours of individual RCs on serial sections and looks of RCs at different angles showed that their shape in volume tended to be ellipsoidal. Many of them formed anastomoses with each other. In any form of RC, the distance from its periphery to

the center is equal to the size of one A-cell. The shape of A-cells is predominantly pyramidal or columnar. Their outer side was oriented to the periphery of the RC and was in contact with the basement membrane (Figs. 4a, 7a), and their inner side was oriented to the

center of the RC and was in contact with the inner sides of other A-cells. The lateral sides of A-cells were connected by interdigitations and desmosomes (Fig. 4b, c). In the central part of the RC, slit-like spaces and expansions with a diameter of 0.5 to 2 μm formed between neighboring A-cells. The transition between such expansions and simple intercellular junctions was quite sharp, so the expansions on sections had angular outlines (Figs. 3, 4c, 7b). Cellular protrusions,

nerve fibers, and synaptic endings could be found in the expansions (Fig. 4c, 7b). Some cells were provided with cilia. The cilia had a basal body with many laterally oriented basal peduncles. The rods of the cilia were oriented to the intercellular spaces into which their terminal parts protruded. The bases of the cilia shafts are located in membrane pockets (Fig. 4c). By structure, these were primary cilia. Thus, A-cells had a polar structure.

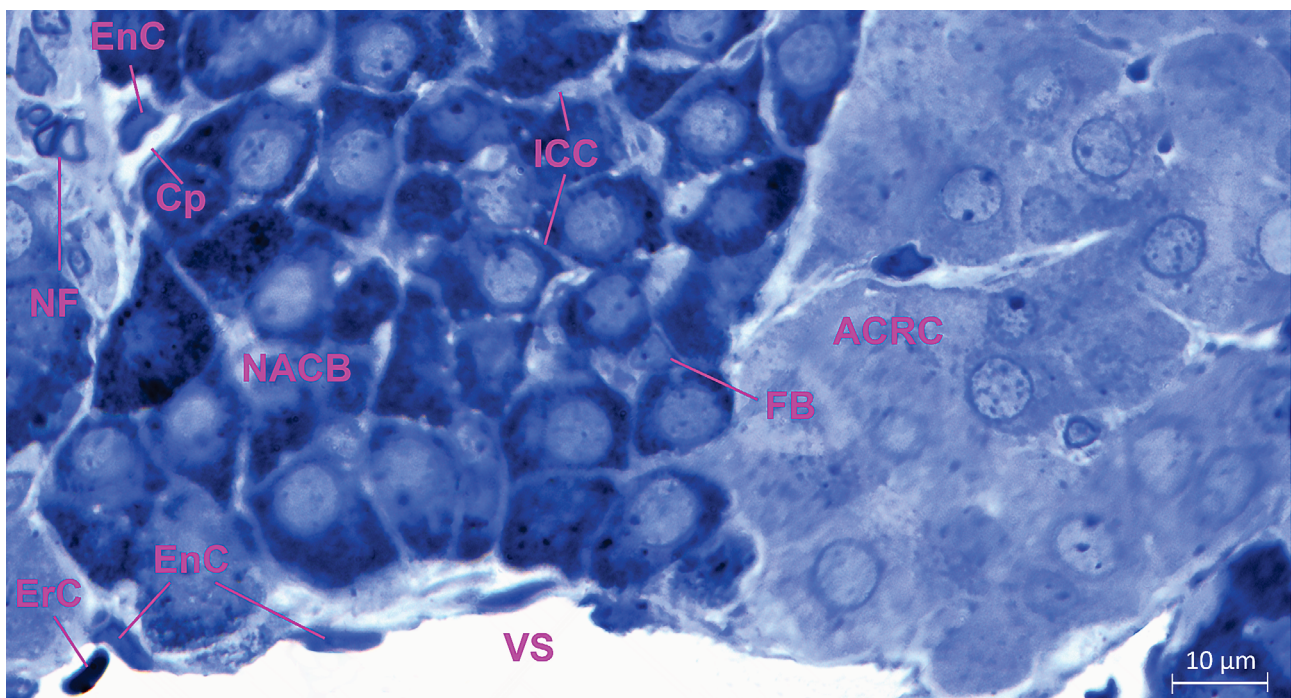


Fig. 2. Semi-thin (1 μm) section of the adrenal medulla of an adult rat. ACRC – adrenocyte rounded clusters, NACB – noradrenocyte beams, VS – venous sinus, Cp – capillaries, FB – fibroblasts, NF – nerve fibers, EnC – endotheliocyte, ErC – erythrocyte, ICC – intercellular contacts. Methylene blue staining, 100 \times oil immersion objective

Complexes of NA-cells on sections looked like angular islands (Fig. 1, 2).

Even light microscopy, especially on semithin sections, showed that NA-cells differed from A-cells in a lower density of bonds, and also that the shape of NA-cells was multifaceted, without polarity in structure (Fig. 1, 2). TEM shows this even more clearly (Fig. 5). The sites of contact between NA-cells were an

alternation of simple junctions, desmosomes, slit-like spaces, and characteristic ampulla-shaped extensions 0.5–0.8 μm in diameter. In intercellular spaces, often very wide, one could find elongated cellular protrusions, nerve fibers and synaptic endings. Some groups of NA-cells are separated from others by thin layers of loose connective tissue, which are associated with fibroblasts that lie in the thickness of the islets.

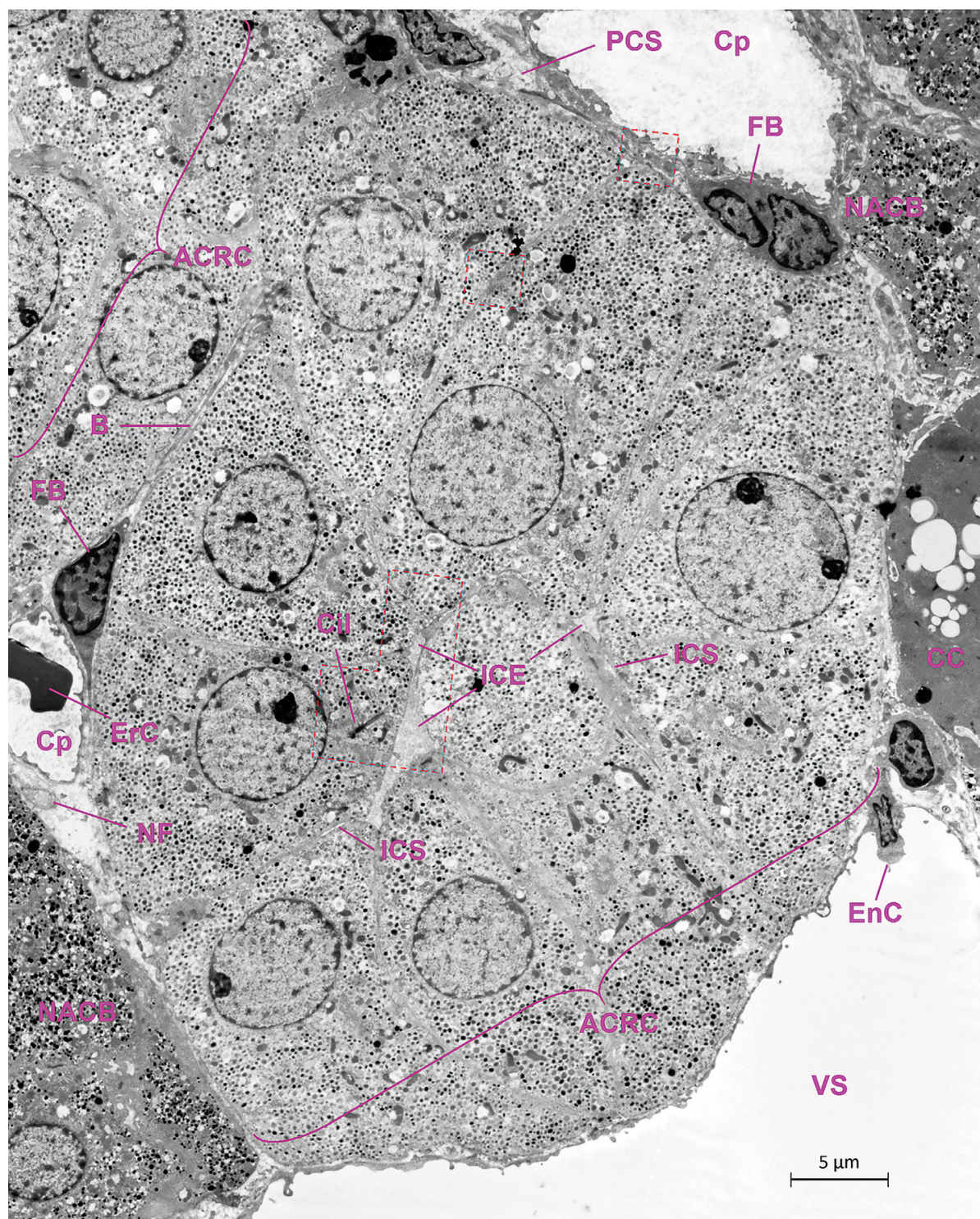


Fig. 3. Transmission electron microscopy of an adrenaline module of the rat adrenal medulla. ACRC – adrenolocyte rounded clusters, NACB – noradrenolocyte beams, VS – venous sinus, Cp – capillaries, FB – fibroblasts, NF – nerve fibers, EnC – endotheliocyte, ErC – erythrocyte, ICE – intercellular expansions, ICS – intercellular slits, Cil – cilium, B – boundary between neighboring ACRCs, CC – cortical cell

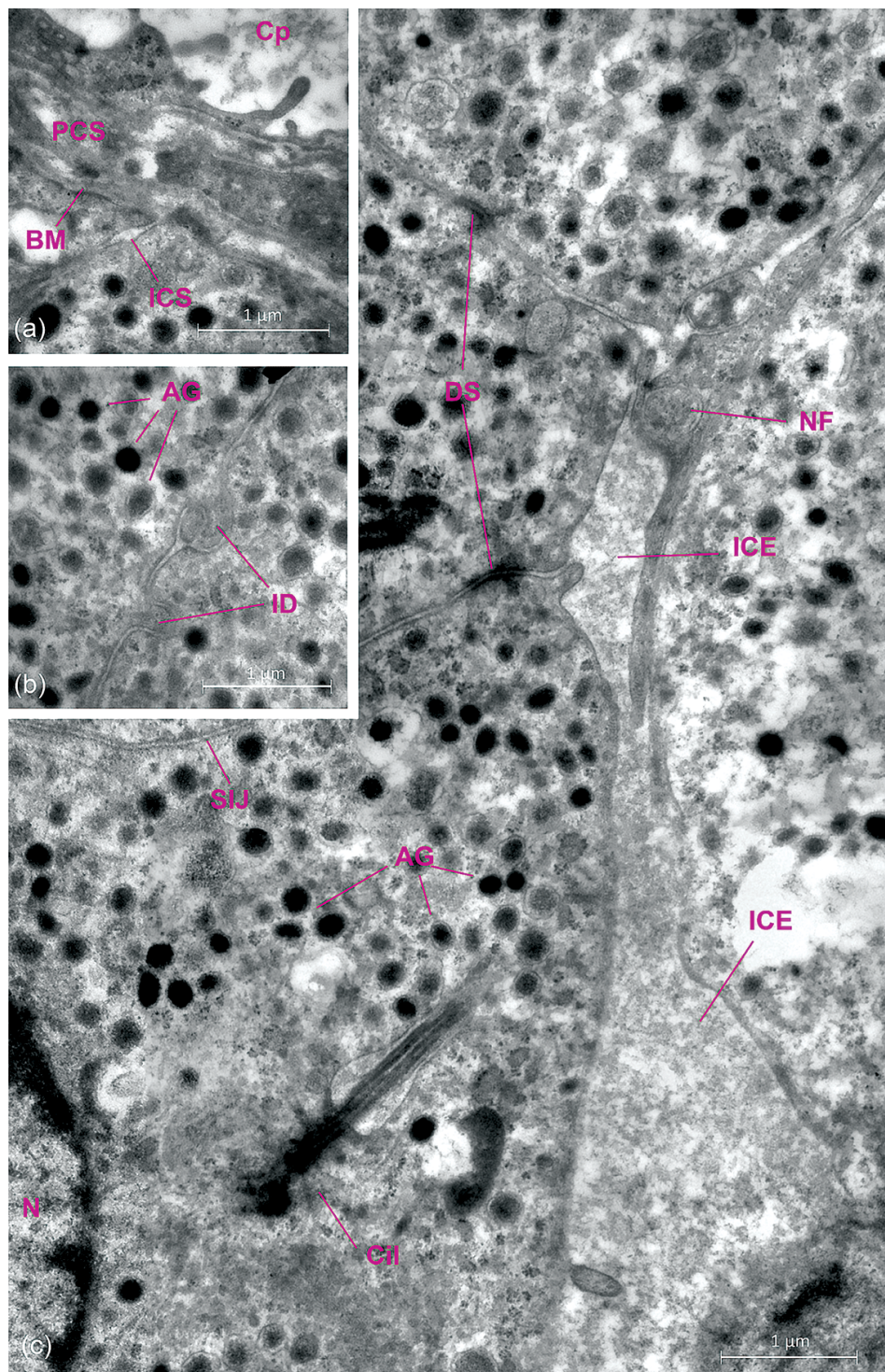


Fig. 4. Transmission electron microscopy of the adrenocortical rounded cluster in the area indicated with red dotted lines on the Figure 3. Cp – capillary, NF – nerve fibers, N – nucleus, ICE – intercellular expansions, ICS – intercellular slits, Cil – cilium, BM – basement membrane, PCS – pericapillary space, AG – adrenal granules, ID – interdigitations, DS – desmosomes, SIJ – simple intercellular junctions. The area of such islands was $2707.7 \pm 402.9 \mu\text{m}^2$. Tracing the islets on serial sections showed that they looked like irregularly shaped polyhedrons and formed anastomoses with each other.

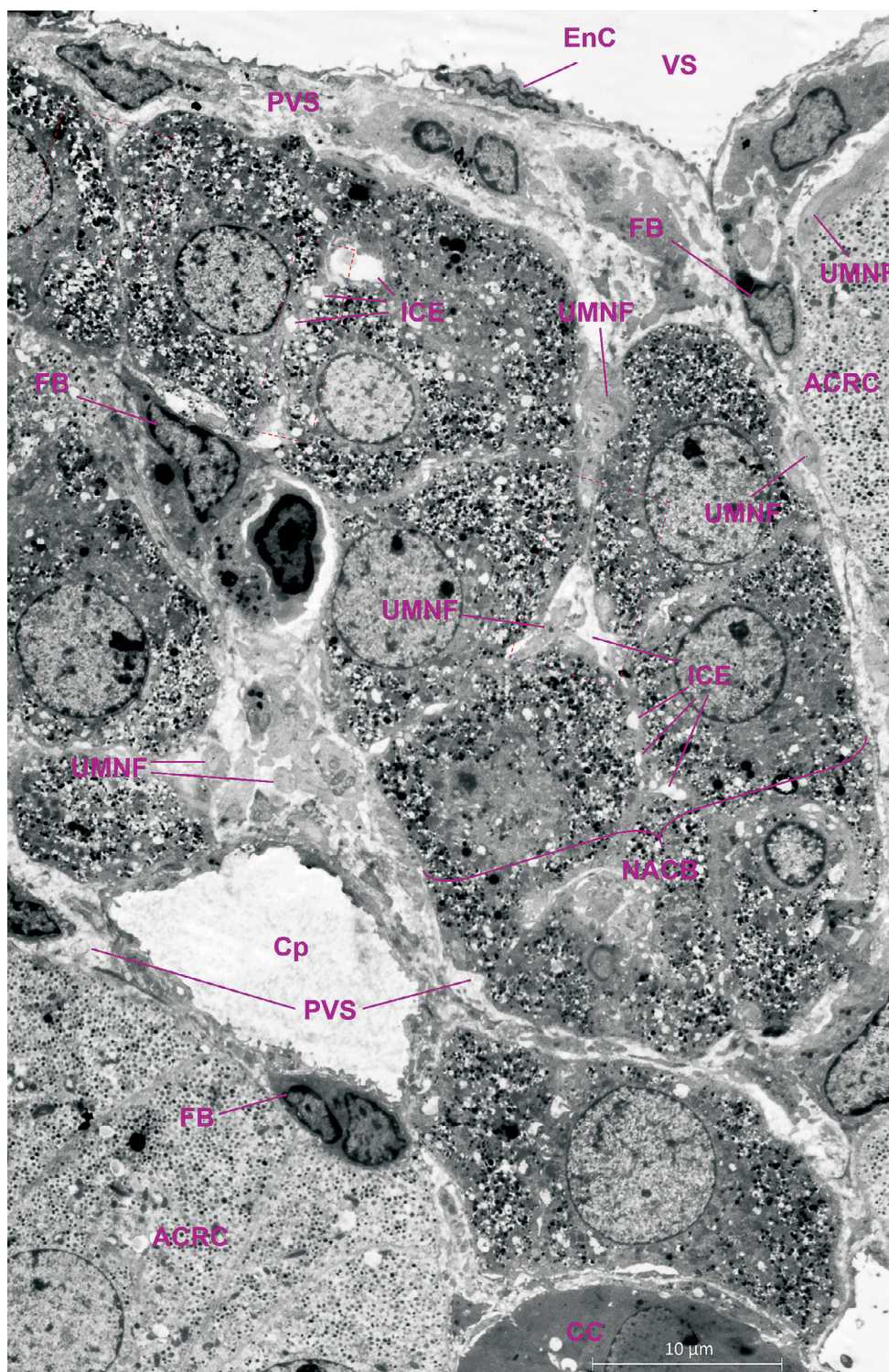


Fig. 5. Transmission electron microscopy of a noradrenaline module of the rat adrenal medulla
NACB – noradrenalocyte beam, ACRC – adrenalocyte rounded clusters, Cp – capillaries, VS – venous sinus,
FB – fibroblasts, UMNF – unmyelinated nerve fibers, EnC – endotheliocyte, ICE – intercellular expansions,
CC – cortical cell, PVS – perivascular spaces.

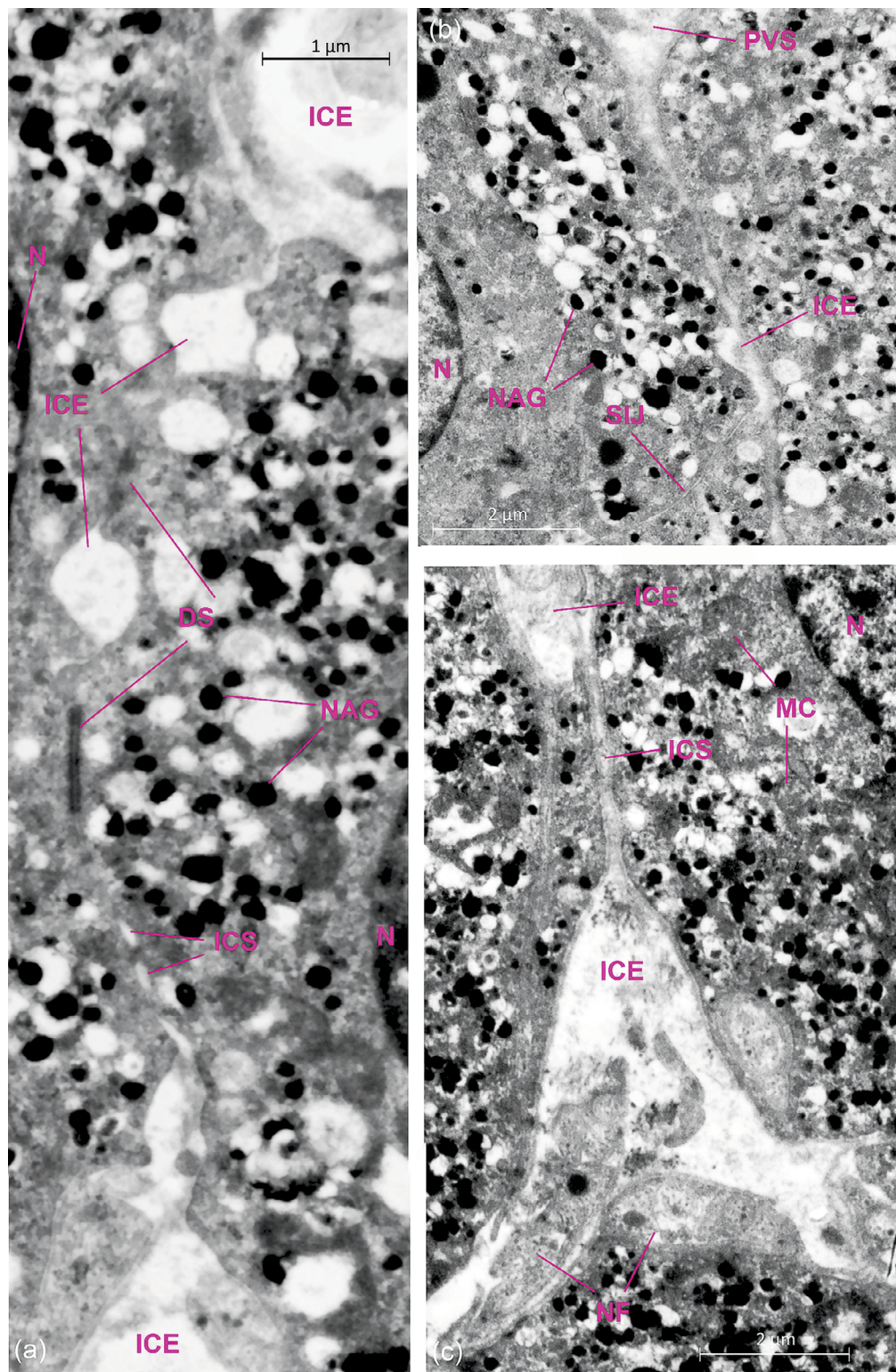


Fig. 6. Transmission electron microscopy of the noradrenaline beam in the area indicated with red dotted lines on the Figure 5. NF – nerve fibers, N – nuclei, ICE – intercellular expansions, ICS – intercellular slits, PVS – perivascular space, NAG – noradrenaline granules, DS – desmosomes, SIJ – simple intercellular junctions, MC – mitochondria

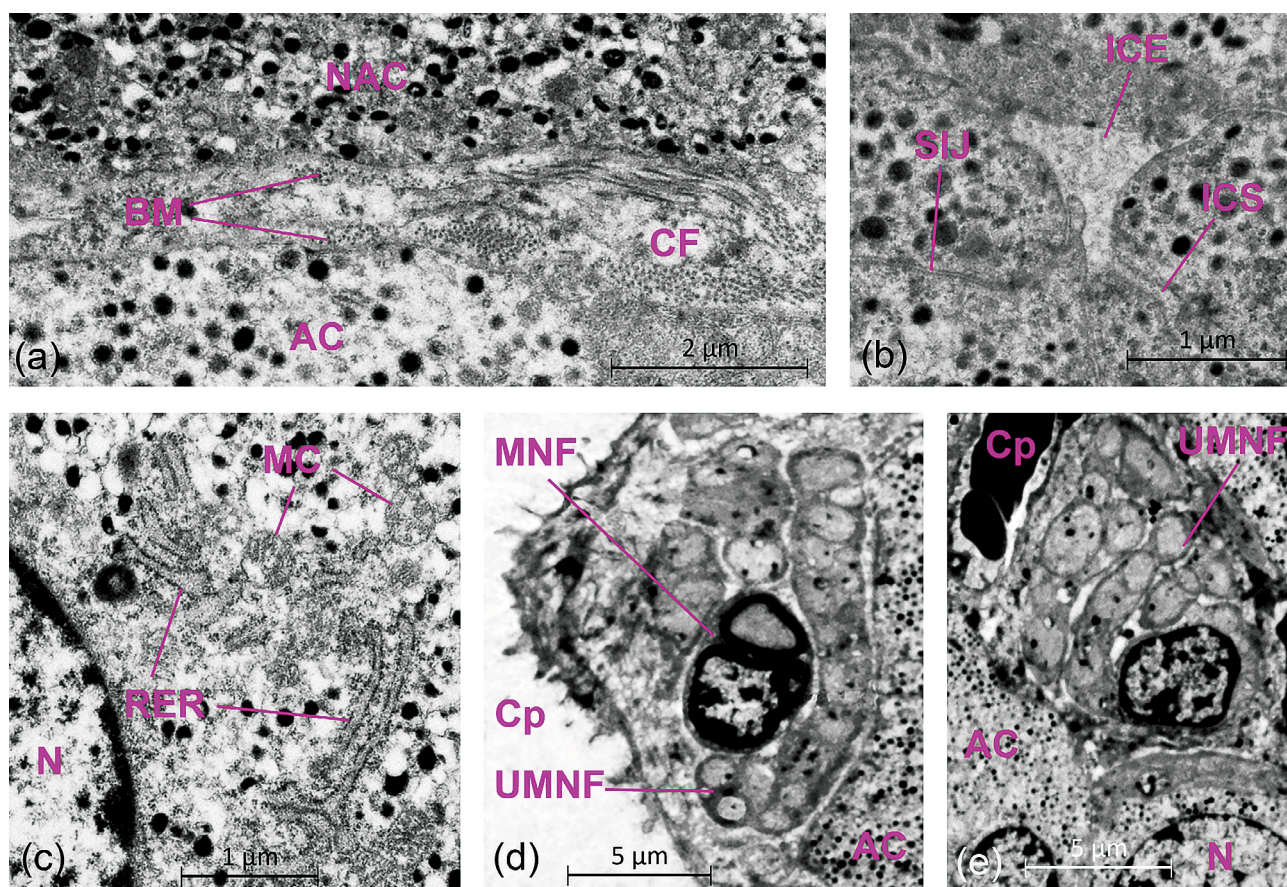


Fig. 6. Transmission electron microscopy of some additional structural details of adrenaline and noradrenaline modules of the rat adrenal medulla. AC – adrenolocytes, NAC – noradrenolocytes, Cp – capillaries, FB – fibroblasts, MNF – myelinated nerve fibers, UMNF – unmyelinated nerve fibers, ICE – intercellular expansions, ICS – intercellular slits, N – nuclei, ICS – intercellular slits, BM – basement membrane, CF – collagen fibers, SIJ – simple intercellular junctions, MC – mitochondria, RER – rough endoplasmic reticulum

Consideration of the tissue components at the angle of their role and place in the module makes it possible to form a more complete picture of the modular organization of the adrenal medulla.

Capillaries and venous sinuses were located on the periphery of the complexes of chromaffin cells. The perivascular spaces were well developed. Microvessels braid the modules from the outside, but do not penetrate inside. Numerous myelinated and non-myelinated nerve fibers also lay between the complexes of chromaffin cells (Fig. 2, 3, 5, 7d, e).

The cytoplasm of A- and NA-cells, in addition to the usual cellular organelles (rough and smooth endoplasmic reticulum, mitochondria, Golgi apparatus, vesicles, vacuoles, etc.), contained numerous specific

chromaffin granules. Adrenaline granules had a regular symmetrical shape and medium or high electron density, while noradrenaline granules had the form of bubbles with eccentrically located clots of high electron density. The endoplasmic reticulum was located near the nuclei, the rest of the organelles and secretory granules were evenly distributed throughout the cytoplasm (Fig. 4, 6, 7a).

Based on the above definition of the module, in order to establish the fact that a particular tissue complex is a module of a given organ, it is necessary to check it for compliance with three basic criteria: specificity, repeatability and elementarity. Specificity of module also determines what is the main and what is the auxiliary.

Checking for compliance with the criteria of specificity and repeatability are formal: specific

repetitive structures in the medulla are individual chromaffin cells or their complexes (RCs of A-cells and beams of NA-cells). On the contrary, compliance with the elementarity criterion requires justification. This criterion implies the desired module should consist of the minimum functionally complete specific cells complex. Thus, it is necessary to find out whether the RCs of A-cells and beams of NA-cells are elementary complexes or their parts are such complexes.

It is easier to reveal the elementarity for RC of A-cells. A-cells within their RC have common structures that either are formed by cells together (intercellular expanded spaces) or are present only in some cells (cilia). Accordingly, a group of A-cells smaller than the RC cannot be a self-sufficient full-functional basis of the adrenaline module (A-module).

It is somewhat more difficult to substantiate the elementarity of bundles of NA-cells. However, the very fact that single NA-cells are not actually found in 3D reconstruction of the medulla from serial sections [16] unequivocally indicates that only the beams are self-sufficient full-functional basis of the noradrenaline module (NA-module). The internal boundaries of the NA-modules, apparently, be considered the places where between the NA-cells there are layers of connective tissue and fibroblasts associated with them (Fig. 5).

Mandatory auxiliary components of the module of the medulla are the connective tissue frame, microcirculatory blood vessels and nerve fibers with endings.

Kikuta et al. clearly showed that the stroma around the chromaffinocyte complexes in the rat medulla has the form of rounded «baskets», most of which communicate with each other by «windows» [19]. This fully corresponds to the outline RCs of A-cells: they themselves are located in the baskets, and the anastomoses between them are located in the windows. For the NA-module, its own stromal scaffold is not clearly defined. Obviously, it repeats the outlines of the beams, i. e. has the appearance of angular chambers.

Small branches of venous sinuses and capillaries are most closely in contact with modules. The capillaries

of the medulla are a continuation of the arterial vessels passing through the cortex. The venous sinuses collect blood from the capillaries of the medulla and from the capillaries of the cortex at its border with the medulla [20—22].

A simple solution is to assume that the capillaries feed the modules and take in metabolites and catecholamines, while the venous sinuses bring corticosteroids important for the synthesis of adrenaline. However, no differences were found between complexes of A- and NA-cells in interaction with different types of vessels and in localization relative to them [21—24]. Therefore, the way corticosteroids enter the A-module is obviously somewhat more complicated. It can be assumed that well-developed perivascular spaces are of great importance. The importance of the vascular component of the modules of the medulla increased even more after the discovery of the ability of chromaffinocytes to their own (not from nerves) excitability in response to humoral stimuli [25].

The modules of the adrenal medulla are richly innervated. Both myelinated and unmyelinated nerve fibers are involved in this. [13, 26, 27]. We observed the same with our preparations. The fact that the boundaries of the functional areas obtained by direct or indirect nerve stimulation clearly coincide with the morphological boundaries of the modules clearly shows the important organizing role of the nerve component in organization of these morpho-functional units [11—13].

Optional auxiliary components of the adrenal medulla module in intact adult rat are, for example, macrophages (found often) and mast cells (found very rarely). There is no information about any of their roles in the organization of the module.

With all of the above in mind, we present a drawing of typical A- and NA-modules of the rat adrenal medulla (Fig. 8). The figure combines all the main structural features of the modules based on our data and those of other authors. Since the asymmetry of noradrenaline granules is a consequence of the specific interaction of noradrenaline with glutaraldehyde and is not detected in other fixation variants (Coupland, 1965a), we depicted them without this artifact.

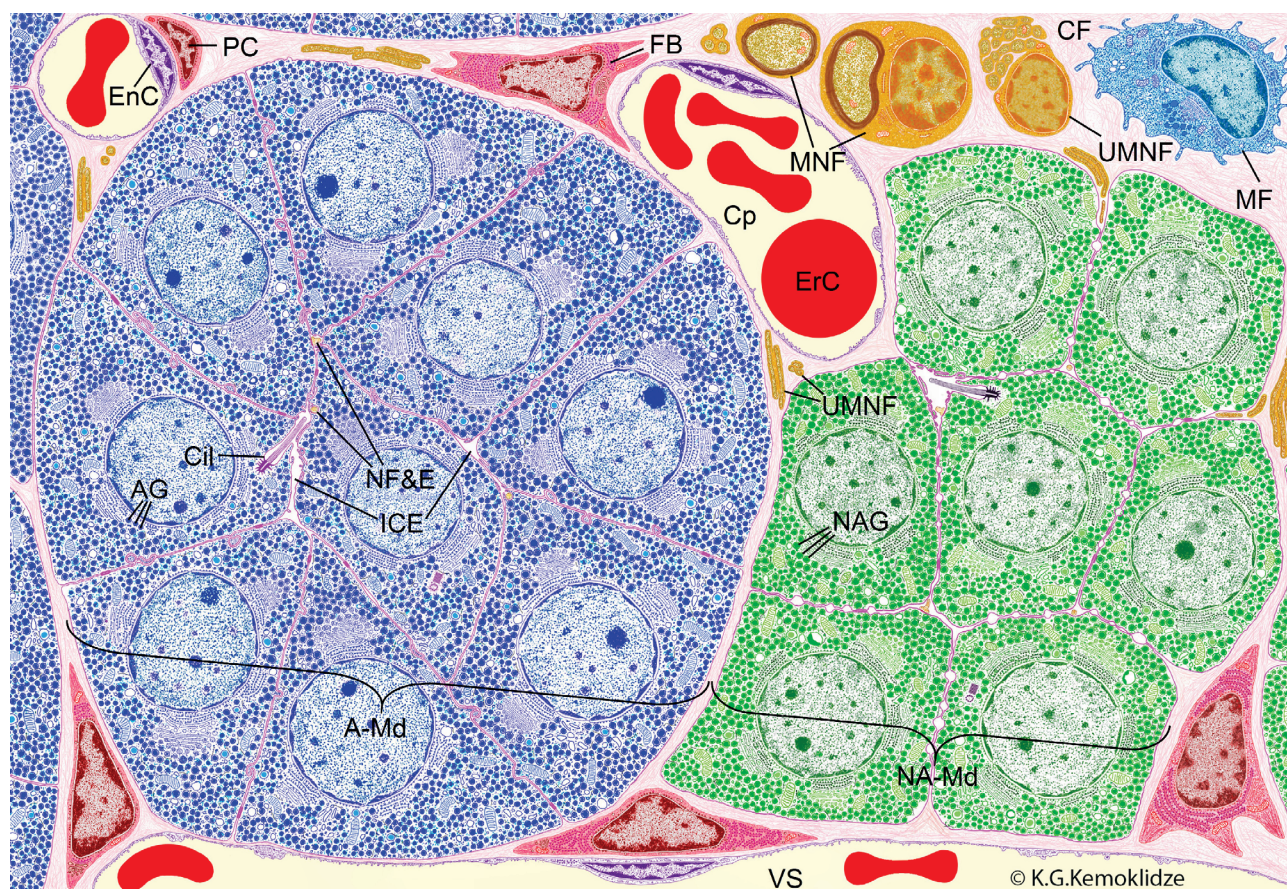


Fig. 8. Schematic drawing of the adrenaline and noradrenaline modules of the rat adrenal medulla.

A-Md – adrenaline module, NA-Md – noradrenaline module, AG – adrenaline granules, NAG – noradrenaline granules, ICE – intercellular expansions, Cil – cilia, Cp – capillaries, VS – venous sinus, FB – fibroblasts, MNF – myelinated nerve fibers, UMNF – unmyelinated nerve fibers, NF&E – nerve fibers and synaptic endings, EnC – endotheliocytes, ErC – erythrocytes, PC – pericyte, MF – macrophages, CF – collagen fibers. High-resolution drawing shown in Figure 8
<https://drive.google.com/file/d/1M6ZNOjavTdryBl6Rs4DhuEZYfXLEbFv/view?usp=sharing>

Differences in the structure of A- and NA-modules stimulate the search for their causes and connection with the function.

An acute selective effect on the A-cells of the rat medulla leads to an increase in the amount of adrenaline in the blood plasma against the background of a slow depletion of these hormones in the medulla. While a similar hyperacute effect leads to a rapid and many times more powerful increase in adrenaline in the blood plasma against the background of an equally rapid decrease in its amount in the medulla. NA-cells do not show the same super-powerful release of noradrenaline during extremal selective exposure [28—30]. This

clearly indicates that during hyperacute exposure adrenaline is released into the blood according to the principle of rapid release of the finished product from extracellular depots. The place of reservation of ready-made adrenaline, obviously, is the characteristic isolated expansions of the intercellular spaces in the central part of the A-modules. The expansions are quite voluminous and there are several of them in the module (Fig. 3). Accordingly, the adherence of A-modules to a rounded shape is determined by the need to create isolated storage expansions in their central part. NA-cells that do not form RCs with central expansions and are less densely packed do not show the same

ability. Accordingly, the effect of the wedging of NA-module beams between A-modules is the result of a freer arrangement of NA-cells: in the growing medulla, NA-cells occupy the free spaces between the stable rounded A-modules.

The foregoing also applies to the explanation of the reasons for the modular organization of the adrenal medulla. In addition to common reasons for all organs [3], we clearly see the specific one for the appearance of special A-modules. This is the need to store ready adrenaline in case of a sudden life-threatening and requiring an immediate and strong (fight or flight) reaction.

Conclusion

It was found that the rat adrenal medulla contains two logically and morpho-functionally distinct types of specific modules. A-module are A-cells rounded cluster and NA-module is polyhedral NA-cells beam, both associated with auxiliary components.

References / Библиографический список

1. Klochkov ND. The histion as the elementary morphofunctional organ unit. *Morfologija*. 1997;112(5):87—88. (In Russian). [Клочков Н.Д. Гистион как элементарная морфофункциональная единица // Морфология. 1997. Т. 112, вып. 5. С. 87—88]
2. Danilov RK. *General principles of cell organization, development and classification of tissues*. In: Danilov RK, editor. *Manual of Histology* (2nd ed., corr. and add.). St. Petersburg: SpecLit; 2010. 1. P. 98—123. (In Russian). [Данилов Р.К. Общие принципы клеточной организации, развития и классификации тканей // Руководство по гистологии / Под ред. Р.К. Данилова. 2-е изд., испр. и доп. СПб.: СпецЛит, 2010. Т. 1. С. 98—123]
3. Kemoklidze, KG. Morphofunctional units of an organ: history and modern state of the question. *Morfologija*. 2019;156(5):93—97. (In Russian). [Кемоклидзе К.Г. Морфофункциональные единицы органа: история и современное состояние вопроса // Морфология. 2019. Т. 156. № 5. С. 93—97]
4. Tomlinson A, Durbin J, Coupland RE. A quantitative analysis of rat adrenal chromaffin tissue: morphometric analysis at tissue and cellular level correlated with catecholamine content. *Neuroscience*. 1987;20(3):895—904. doi:10.1016/0306-4522(87)90250-8
5. Pavlov AV, Kemoklidze KG. Cytological mechanisms of the postnatal growth of adrenal chromaffin tissues. *Ontogenez*. 1998;29(2):123—128. (In Russian) [Павлов А.В., Кемоклидзе К.Г. Цитологические механизмы постнатального роста хромаффинной ткани надпочечника // Онтогенез. 1998. Т. 29. N. 2. С. 123—128]
6. Coupland RE, Kobayashi S, Tomlinson A. On the presence of small granule chromaffin cells (SGC) in the rodent adrenal medulla. *Journal of Anatomy*. 1977;124(2):488—489.
7. Kobayashi S. Adrenal medulla: chromaffin cells as paraneurons. *Archivum histologicum japonicum*. 1977;40 Suppl:61—79. doi:10.1679/aohc1950.40.supplement_61
8. Tischler AS, DeLellis RA. The Rat Adrenal Medulla. I. The Normal Adrenal. *Journal of the American College of Toxicology*. 1988;7(1):1—21. doi:10.3109/10915818809078700
9. Coupland RE. The natural history of the chromaffin cell—twenty-five years on the beginning. *Archives of Histology and Cytology*. 1989;52(Suppl):331—341. doi:10.1679/aohc.52.suppl_331
10. Coupland RE, Tomlinson A. The development and maturation of adrenal medullary chromaffin cells of the rat in vivo: A descriptive and quantitative study. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 1989;7(5):419—438. doi:10.1016/0736-5748(89)90003-8
11. Hillarp NA. Functional organization of the peripheral autonomic innervation. *Acta Anatomica*. 1946—47;2(4):103—130. doi:10.1159/000140657
12. Iijima T, Matsumoto G, Kidokoro Y. Synaptic activation of rat adrenal medulla examined with a large photodiode array in combination with a voltage-sensitive dye. *Neuroscience*. 1992;51(1):211—219. doi:10.1016/0306—4522(92)90486-1
13. Kajiwara R, Sand O, Kidokoro Y, Barish ME, Iijima T. Functional organization of chromaffin cells and cholinergic synaptic transmission in rat adrenal medulla. *Japanese Journal of Physiology*. 1997;47(5):449—464. doi:10.2170/jjphysiol.47.449
14. Martin AO, Mathieu M-N, Chevillard C, Guérineau NC. Gap junctions mediate electrical signaling and ensuing cytosolic Ca²⁺ increases between chromaffin cells in adrenal slices: A role in catecholamine release. *The Journal of Neuroscience*. 2001;21(15):5397—5405. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-15-05397.2001
15. Honoré, LH. A light microscopic method for the differentiation of noradrenaline and adrenaline producing cells of the rat adrenal medulla. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1971;19(8): 483—486. doi:10.1177/19.8.483
16. Kemoklidze KG, Tyumina NA, Leonenko PS. 3D reconstruction of the rat adrenal medulla. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 2021;50(5):781—787. doi:10.1111/ahc.12720
17. Coupland RE. Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla I. The ultrastructure and organization of chromaffin cells in the normal adrenal medulla. *Journal of Anatomy*. 1965;99(2):231—254.
18. Coupland RE. *Ultrastructural features of the mammalian adrenal medulla*. In: Motta P, editor. *Ultrastructure of Endocrine Cells and Tissues*; 1984. Ch. 15. P. 168—179.
19. Kikuta A, Ohtani O, Murakami T. Three-dimensional organization of the collagen fibrillar framework in the rat adrenal gland. *Archives of Histology and Cytology*. 1991;54(2):133—144. doi: 10.1679/aohc.54.133
20. Kikuta A, Murakami T. Microcirculation of the rat adrenal gland: A scanning electron microscope study of vascular casts. *American Journal of Anatomy*. 1982;164(1): 19—28. doi: 10.1002/aja.1001640103
21. Kikuta A, Murakami T. Relationship between chromaffin cells and blood vessels in the rat adrenal medulla: A transmission electron microscopic study combined with blood vessel reconstructions.

American Journal of Anatomy. 1984; 170(1):73—81. doi: 10.1002/aja.1001700106

22. Murakami T, Oukouchi H, Uno Y, Ohtsuka A, Taguchi T. Blood vascular beds of rat adrenal and accessory adrenal glands, with special reference to the corticomedullary portal system: A further scanning electron microscopic study of corrosion casts and tissue specimens. *Archives of Histology and Cytology*. 1989;52(2):461—476. doi: 10.1679/aohc.52.461

23. Coupland RE, Selby JE. The blood supply of the mammalian adrenal medulla: A comparative study. *Journal of Anatomy*. 1976;122(3):539—551.

24. Nemes Z. The cytoarchitecture of the adrenal medulla in the rat. *Acta morphologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 1976;24(1—2):47—61.

25. Lingle CJ, Martinez-Espinosa PL, Guarina L, Carbone E. Roles of Na⁺, Ca²⁺, and K⁺ channels in the generation of repetitive firing and rhythmic bursting in adrenal chromaffin cells. *Pflügers Archiv*. 2018;470(1):39—52. doi: 10.1007/s00424-017-2048-1

26. Coupland RE. Electron microscopic observation on the structure of the rat adrenal medulla. II. Normal innervation. *Journal of Anatomy*. 1965;99(2):255—272.

27. Tomlinson A, Coupland RE. The innervation of the adrenal gland IV. Innervation of the rat adrenal medulla from birth to old age. A descriptive and quantitative morphometric and biochemical study of the innervation of chromaffin cells and adrenal medullary neurons in Wistar rats. *Journal of Anatomy*. 1990;169:209—236.


28. Nordmann JJ. Combined stereological and biochemical analysis of storage and release of catecholamines in the adrenal medulla of the rat. *Journal of Neurochemistry*. 1984;42(2): 434—437. doi: 10.1111/j.1471-4159.1984.tb02696.x

29. Vollmer RR, Baruchin A, Kolibal-Pegher SS, Corey SP, Stricker EM, Kaplan BB. Selective activation of norepinephrine- and epinephrine-secreting chromaffin cells in rat adrenal medulla. *American Journal of Physiology*. 1992;263(3): R 716-R 721. doi: 10.1152/ajpregu.1992.263.3.R 716

30. Vollmer RR, Balcita JJ, Sved AF, Edwards DJ. Adrenal epinephrine and norepinephrine release to hypoglycemia measured by microdialysis in conscious rats. *American Journal of Physiology*. 1997;273(3): R 1758-R 1763. doi:10.1152/ajpregu.1997.273.5.R 1758

Модульная организация мозгового вещества надпочечника крысы

К.Г. Кемоклидзе  , Н.А. Тюмина 

Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль, Российская Федерация
 K_G_K@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* В настоящее время представление о тканевых морфофункциональных единицах (модулях) мозгового вещества надпочечников не полностью сформировано для клеток, запасующих адреналин (А-), и совершенно не разработано для клеток, запасующих норадреналин (НА-). *Цель.* Отдельно для А- и НА-клеток установить модули в мозговом веществе надпочечников на основе критериев, разработанных фундаментальной гистологией. *Материалы и методы.* В исследовании использовали серийные, полутонкие и ультратонкие срезы надпочечников толщиной 7—9 мкм в взрослых крыс-самцов линии Вистар (масса 335 ± 25 г). Срезы окрашивали по методу Оноре с дополнительным окрашиванием толудиновым синим, позволяющим достоверно различать А- и НА-клетки в мозговом веществе. А-клетки окрашены в синий цвет, а НА-клетки — в зеленый. Использовали световую и электронную микроскопию для визуализации серийных, полутонких и ультратонких срезов надпочечников взрослых самцов крыс с дифференцировкой А- и НА-клеток. *Результаты обсуждения.* А-клетки образовывали округлые скопления, в которых располагались в один слой на базальной мембране. Их боковые стороны плотно прилегали друг к другу, а внутренние стороны (центральная часть комплексов) образовывали межклеточные расширения, микровыпячивания и первичные реснички. Менее плотно расположенные НА-клетки образовывали многогранные балки. Оба типа клеточных комплексов были связаны с дополнительными компонентами (стромальными, нервными, сосудистым и др.). Центральные расширения округлых скоплений А-клеток, по-видимому, служат для удержания части уже образованного адреналина, что повышает готовность мозгового вещества к быстрому высвобождению больших количеств адреналина в случае сверхострого стресса. Соответственно, приверженность скоплений А-клеток к округлой форме определяется необходимостью создания таких центральных изолированных накопительных расширений. НА-клетки располагаются более свободно и не образуют изолированных межклеточных расширений, что позволяет НА-клеткам вклиниваться между стабильно круглыми скоплениями А-клеток,

в результате чего формируются их многогранные балки. **Выводы.** Установлено, что мозговое вещество надпочечников крыс содержит два логически и морфофункционально различных типа специфических модулей. А-модуль представляет собой округлое скопление А-клеток, а НА-модуль — многогранная балка из НА-клеток, оба связаны со вспомогательными компонентами.

Ключевые слова: мозговое вещество надпочечников, хромоаффинные клетки, адреналоциты, норадреналоциты, модули, морфофункциональные единицы

Информация о финансировании. Авторы не получали финансовую поддержку для исследования, авторства и публикации этой статьи.

Вклад авторов. Кемоклидзе К.Г. — идея, дизайн и интерпретация данных исследования, подготовка и редактирование рукописи; Тюмина Н.А. — сбор и обработка материала, анализ полученных данных. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение. Работа с животными проводилась в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 199н от 01.04.2016 и Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета от 22.09.2010.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 06.07.2022. Принята 08.08.2022.

Для цитирования: *Kemoklidze K.G., Tyumina N.A. Rat adrenal medulla modular organization // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 259—273. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-259-273*

Corresponding author: Konstantin Gerbertovich Kemoklidze — PhD, Associate Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl State Medical University, 150000, st. Revolutionary, 5, Yaroslavl, Russian Federation.
E-mail: K_G_K@mail.ru
Kemoklidze K.G. ORCID 0000-0003-4907-7757
Tyumina N.A. ORCID 0000-0001-7001-0851


Ответственный за переписку: Кемоклидзе Константин Гербертович — к. б. н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославский государственный медицинский университет, Российская Федерация, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5. E-mail: K_G_K@mail.ru
Кемоклидзе К.Г. SPIN-код 2573-5629; ORCID 0000-0003-4907-7757
Тюмина Н.А. ORCID 0000-0001-7001-0851



DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-274-288

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Интенсивность окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса крыс при ожоговом повреждении кожи

А.К. Ажикова  , М.А. Самотруева Астраханский государственный медицинский университет, г. Астрахань, Российская Федерация
 alfia-imacheva@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* В настоящее время актуальной остается проблема регенерации поврежденной кожи, в том числе ожогового характера. В работе описаны результаты исследования интенсивности окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса крыс при термической травме кожи. *Цель исследования* — экспериментальное изучение интенсивности окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса крыс при ожоговом повреждении кожи. *Материалы и методы.* Исследование проводили на нелинейных крысах-самцах средней массы 250 гр. 6—8 месяцев. Для оценки психоэмоционального статуса были проведены исследования с использованием стандартных психофизиологических методов: «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Суок-тест» и «Порсолт». Интенсивность окислительно-восстановительных процессов в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга оценивали посредством определения интенсивности перекисного окисления липидов и активности каталазы. Об активности перекисного окисления липидов судили по исходному содержанию малонового диальдегида, а также по скорости спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов. *Результаты и обсуждение.* В ходе исследования установлено, что ожоговое повреждение кожи сопровождалось увеличением в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга крыс концентрации ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов, результатом чего явилось развитие окислительного стресса. Ожоговая травма инициировала в изучаемых зонах головного мозга процессы перекисидации, наиболее выраженные в ранний период ожогового процесса (на 2—4 сутки), с разной степенью снижающиеся в последующие сроки (на 7, 10 сутки). Результаты оценки психоэмоционального статуса животных при ожоговом повреждении кожи в стандартных поведенческих тестах подтверждают вовлеченность нервной системы в ответ на стресс, рефлекторная деятельность которой в стрессовых условиях проявляется в изменении поведенческих реакций. В условиях ожогового повреждения кожи было отмечены признаки тревожно-депрессивного состояния, в частности дезориентации в пространстве, подавления психоэмоционального состояния, изменение характера поведенческих реакций. *Выводы.* Таким образом, выявленные изменения интенсивности окислительно-восстановительных

© Ажикова А.К., Самотруева М.А., 2022

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

процессов и особенности психоэмоционального статуса крыс при ожоговом повреждении кожи являются следствием биохимических и функциональных нарушений отделов головного мозга, активизировавшихся в ходе защитно-адаптационных реакций при ожоговой травме.

Ключевые слова: психоэмоциональный статус, поведение, ожог, перекисное окисление липидов, каталаза, Открытое поле, Приподнятый крестообразный лабиринт, Суок-тест, Порсолт

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов. Ажикова А.К.— сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; Самотруева М.А.— концепция и дизайн исследования, коррекция текста. 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. При работе с животными придерживались гуманного отношения согласно положениям Хельсинкской декларации (1964—2013), положениям Комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального Комитета по биоэтике при Российской академии наук и рекомендациям Этического комитета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

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


Информированное согласие на публикацию— неприменимо.

Поступила 07.08.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Ажикова А.К., Самотруева М.А. Интенсивность окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса крыс при ожоговом повреждении кожи // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 274—288. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-274-288

Redox intensity and psychoemotional status of rats in burn skin injury

Alfiya K. Azhikova  , Marina A. Samotrueva 

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation
 alfia-imacheva@mail.ru

Abstract. Relevance. Currently, the problem of regeneration of damaged skin, including of a burn nature, remains relevant. The work describes the results of the study of the redox intensity and of the psychoemotional status of rats in thermal skin injury. *The aim of the study* is an experimental study of the redox intensity and of the psychoemotional status of rats in burn skin injury. *Materials and Methods.* The study was conducted on nonlinear male rats of average weight 250 grams for 6—8 months. To assess psychoemotional status, studies were carried out using standard psychophysiological methods: «Open Field», «Elevated cruciform maze», «Suok Test» and «Porsolt.» The intensity of redox processes in the hypothalamic and prefrontal regions of the brain was assessed by determining the intensity of lipid peroxidation and catalase activity. The activity of lipid peroxidation was determined by the initial content of malonic dialdehyde, as well as by the rate of spontaneous and ascorbic peroxidation

of lipids. *Results and Discussion.* During the study, it was found that burn damage to the skin was accompanied by an increase in the concentration of TBC-active products of lipid peroxidation in the hypothalamic and prefrontal regions of the brain of rats, which resulted in the development of oxidative stress. Burn injury initiated peroxidation processes in the studied areas of the brain, the most pronounced in the early period of the burn process (on days 2—4), with varying degrees decreasing in the following periods (on days 7, 10). The results of the assessment of the psychoemotional status of animals in burn skin injury in standard behavioral tests confirm the involvement of the nervous system in response to stress, the reflex activity of which under stressful conditions manifests itself in a change in behavioral reactions. In the conditions of burn damage to the skin, signs of an alarming-depressive state, in particular disorientation in space, suppression of the psychoemotional state, and a change in the nature of behavioral reactions were noted. *Conclusion.* Thus, the revealed changes in the intensity of redox processes and the peculiarities of the psychoemotional status of rats in burn skin damage are the result of biochemical and functional disorders of the brain, activated during protective and adaptation reactions in burn injury.

Key words: psychoemotional status, behavior, burn injury, lipid peroxidation, catalase, Open field, Elevated cruciform maze, Bitch test, Porsolt

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

Author contributions. Azhikova A.K.—collection and processing of materials, analysis of the received data, writing the text. Samotrueva M.A.—concept and design of the study; text correction. All authors have made significant contributions to the development concepts, research and manuscript preparation, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval. When working with animals, they adhered to a humane attitude in accordance with the provisions of the Declaration of Helsinki (1964—2013), the provisions the Commission on Ethics of Attitudes towards Animals of the Russian National Committee on Bioethics at the Russian Academy of Sciences and the recommendations of the Ethics Committee of Astrakhan State Medical University.

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

Consent for publication—not applicable.

Received 07.08.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Azhikova AK, Samotrueva MA. Redox intensity and psychoemotional status of rats in burn skin injury. *RUDN Journal of Medicine.* 2022;26(3):274—288. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-274-288

Введение

В настоящее время на фоне сложившейся ситуации в мире актуальной остается проблема повреждения кожи, в том числе ожогового характера. Поражая кожу, ожоговая травма запускает каскад последовательных реакций на уровне целого организма [1]. Это провоцирует дезорганизацию структурно-функциональных связей между иммунной, нервной и эндокринной системами, координирующих физиологические и патофизиологические процессы в коже [2].

Доказано, что любой стресс, в том числе и ожогового характера, способствует срыву процессов адаптации, затрагивая центральные механизмы врожденных и приобретенных программ поведения, что может приводить к необратимым нарушениям со стороны функциональных систем организма [3]. Учитывая тот факт, что стресс представляет собой комплекс физиологических и эмоциональных реакций, затрагивающих все уровни организации организма, важное значение имеет понимание нейрогуморальных регуляторных механизмов, лежащих

в основе адаптивно-восстановительных процессов организма [4, 5].

Исходя из представлений о важной роли центральной нервной системы в формировании стрессорной реакции при различных воздействиях, представляет интерес изучение функциональных особенностей отделов головного мозга в условиях стресса ожогового характера [6]. Несмотря на достаточную изученность морфофункциональных изменений внутренних органов при стрессе ожогового характера, недостаточно изучено психоэмоциональное состояние организма [6—9]. Поскольку двигательная активность является функциональной производной мозга, результаты исследований в этом направлении имеют важное значение при постожоговых состояниях и поиске комплексных системных средств коррекции. Кроме того, не исследованы биохимические ожог-опосредованные нарушения на уровне головного мозга. Учитывая тот факт, что на фоне ожоговой травмы инициируются стресс-адаптационные механизмы, в которых важную роль играет перекисное окисление липидов (ПОЛ), интерес представляет исследование состояния антиоксидантной системы организма. Изменение процессов ПОЛ является проявлением любого патологического состояния на клеточном и биохимическом уровнях [10, 11]. Выбор префронтальной и гипоталамической зон головного мозга для исследования ПОЛ обусловлен их прямой вовлеченностью в управляющие функции, которые обеспечивают многие виды деятельности (движение, мышление, внимание, поведение, регуляция физиологических и патофизиологических процессов, процессов адаптации и дезадаптации). Кроме того, известно, что одним из промежуточных продуктов ПОЛ является малоновый диальдегид (МДА) и по его количеству можно судить о скорости реакций перекисного окисления липидов. Антиоксидантный фермент каталаза предупреждает инициацию свободно-радикального окисления, играя основную роль в разложении перекиси водорода, которая наиболее опасна для клеток.

Принимая во внимание вышесказанное, считаем актуальным изучение окислительно-восста-

новительной реакции организма на стрессогенное воздействие, а также возможных постстрессовых поведенческих и тревожно-депрессивных расстройств в условиях ожоговой травмы.

Цель исследования — изучение интенсивности окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса животных при ожоговом повреждении кожи.

Материалы и методы

Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах (6—8 мес, вес 250—270 г). Животные были разделены на 5 групп (n=7): 1 группа «контроль» — интактные особи, 4 опытные группы — «Ожог 2 сутки», «Ожог 4 сутки», «Ожог 7 сутки», «Ожог 10 сутки» — особи, подвергшиеся термическому ожоговому воздействию. У животных опытных групп моделировали контактную термическую травму в межлопаточной области спины в условиях эфирной наркотизации. На депилированный участок кожи накладывали медный предмет диаметром 1,5 см, нагретый в кипящей воде до 100 °С, с экспозицией 5 с. Животных выводили из эксперимента на 2, 4, 7, 10 сутки после ожогового воздействия. Декапитацию проводили в условиях эфирной наркотизации.

При работе с животными придерживались гуманного отношения согласно положениям Хельсинкской декларации (1964—2013), Приказа Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» (GLP). Содержание животных соответствовало требованиям комиссии Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук и рекомендациям Этического комитета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 21.11.2016 г.).

Для оценки психоэмоционального статуса были проведены исследования с использованием стандартных психофизиологических методов: «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Суок-тест» и «Порсолт» [12].

В тесте «Открытое поле» (ОП) изучаются особенности ориентировочно-исследовательского поведения, уровень скрытого эмоционального напряжения и резистентности к стрессу. Он является классической моделью конфликта двух мотиваций, двух врожденных реакций — стремление к исследованию нового окружения и реакцией избегания освещенных мест. Значимыми критериями являются латентное время первого движения с центрального квадрата, число пересеченных квадратов, время и число вставаний на задние лапы (стойки), стойки с опорой, время грумингов, число фризингов и болюсов.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) является одним из наиболее общепринятых тестов для оценки тревожного состояния. Регистрируются следующие показатели — время нахождения в открытых частях лабиринта — открытых рукавах (ОР), центре и закрытых частях лабиринта — закрытых рукавах (ЗР) лабиринта; число выходов в ОР, центр и ЗР; общее число входов/выходов в рукава и центр; число переходов из одного ЗР в другой; число заглядываний под лабиринт.

«Суок-тест» (СТ) описывает поведение животных в условиях новизны. Большую роль играет баланс мотиваций — стремление исследовать новую обстановку (неофилия) и страх перед ней (неофобия, тревога) — в формировании поведения животного в данных условиях. В ходе наблюдения определяются следующие показатели: количество пересеченных сегментов (горизонтальная активность), в том числе и центральных, количество заглядываний вниз, число соскальзываний задних лап, продолжительность периодов неподвижности (замирания).

Тест поведенческого отчаяния (принудительное плавание, тест Порсолта) является моделью оценки депрессивноподобного состояния. Суть метода в том, что животные, попадая в воду, начинают активное движение, направленное на поиск выхода из неприятной ситуации. Затем животные оставляют попытку выбраться из сосуда и зависают в воде в характерной позе, оставаясь полностью неподвижными или совершая незначительные движения, которые необходимы для поддержания «мордочки»

над поверхностью воды. Показателем выраженности депрессивного состояния по данному тесту является длительность неподвижности животных. В тесте поведенческого отчаяния после активных попыток избавления из аверсивной ситуации у животных наступает стадия иммобилизации, которая отражает депрессивное состояние.

Интенсивность окислительно-восстановительных процессов в гомогенатах гипоталамической и префронтальной долей головного мозга оценивали по интенсивности перекисного окисления липидов и активности фермента каталазы. Об активности перекисного окисления липидов судили по исходному содержанию малонового диальдегида и по скорости спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов [13].

Результаты исследования обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США) (определение t-критерия Стьюдента). Достоверность различий в экспериментальных группах оценивали при уровне достоверности $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В условиях физиологической нормы животные из контрольной группы в тесте «Открытое поле» показывали признаки нормального состояния, передвигались умеренным темпом. Проявляли исследовательско-познавательный интерес к отверстиям установки, активно изменяли горизонтальное положение тела на вертикальное, без опоры о стенку установки и с опорой, спокойно пересекали центральный квадрат установки. В единичных случаях отмечали кратковременный груминг. Наблюдали нечастые фекальные болюсы.

В тесте ОП у животных с ожоговой травмой на 2—4 сутки после ожога отмечали изменения поведения в виде состояния тревожности, безразличия, депрессивного настроения, снижения локомоторной (количество пересеченных квадратов) и исследовательско-познавательной активности (исследование отверстий, вертикальные стойки с опорой, переходы через центр), сопряженные со снижением показате-

лей более чем на 50 % по сравнению с интактными особями ($p < 0,001$). При этом регистрировали моменты кратковременного груминга и акт дефекации на 50 % ($p < 0,01$), в отличие от интактных животных. В единичных случаях отмечали фризинг, не более 10 % ($p < 0,001$) (Табл. 1).

Таблица 1

Влияние ожоговой травмы на поведение животных в тесте «Открытое поле»

Поведенческие показатели ($M \pm m$)	Контроль (интактные)	Ожог 2 сутки	Ожог 4 сутки	Ожог 7 сутки	Ожог 10 сутки
Горизонтальная двигательная активность – Количество пересеченных квадратов	30,4 ± 2,9	19,0 ± 2,8*	16,3±0,8***	21,6±1,28***	25,1±1,4**#
Вертикальная двигательная активность – «стойки»	13,1 ± 0,9	7,4 ± 0,8**	6,2±0,3***	9,3±0,4**	11,4±0,9*#
Время в центре, с	5,1 ± 0,1	3,2± 0,02*	7,4±0,5*	5,1±0,1	3,7±0,2**
Исследование «норок»	2,3 ± 0,2	1,9 ± 0,2*	1,5±0,1*	1,9±0,2*	3,6±0,2**
Переходы через центр	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,02*	0,2±0,1*	0,4±0,1	0,5±0,1*##
Кратковременный груминг	3,0 ± 0,4	6,7 ± 0,1***	6,9±0,3***	2,1±0,1**	1,5±0,3***###
Фекальные болюсы	0,6 ± 0,1	1,8 ± 0,4**	1,5±0,6**	0,7±0,1*	0,4±0,2*
Фризинг	0,08± 0,01	0,2± 0,1***	0,1±0,01*	0	0

Примечание: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — относительно контроля; # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ — относительно группы «Ожог, 2 сутки» (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Table 1

Effect of burn injury on animal behavior in the test «Open field»

Indicators of behavior ($M \pm m$)	Intact animals not exposed to burns (control)	On the 2nd day after the burn	On the 4nd day after the burn	On the 7nd day after the burn	10 days after the burn
Horizontal Motor Activity – Number of Intersected Squares	30.4 ± 2.9	19.0 ± 2.8*	16.3±0.8***	21.6 ± 1.28***	25.1 ± 1.4**#
Vertical motor activity	13.1 ± 0.9	7.4 ± 0.8**	6.2±0.3***	9.3 ± 0.4**	11.4 ± 0.9*#
Time in the center. s	5.1 ± 0.1	3.2± 0.02*	7.4±0.5*	5.1 ± 0.1	3.7 ± 0.2**
Examination of holes	2.3 ± 0.2	1.9 ± 0.2*	1.5±0.1*	1.9 ± 0.2*	3.6 ± 0.2**
Transitions through the center	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.02*	0.2±0.1*	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1*##
Short-term grooming	3.0 ± 0.4	6.7 ± 0.1***	6.9±0.3***	2.1 ± 0.1**	1.5±0.3***###
Fecal boluses	0.6 ± 0.1	1.8 ± 0.4**	1.5±0.6**	0.7 ± 0.1*	0.4 ± 0.2*
Friezing	0.08± 0.01	0.2± 0.1***	0.1±0.01*	0	0

Note: * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — relative to control; # — $p < 0.05$; # # — $p < 0.01$; # # # — $p < 0.001$ — relative to the group «Burn, 2 days» (Student's Bonferroni-adjusted t-test)

К концу первой недели наблюдали достоверное увеличение исследуемых показателей активности животных. К середине второй недели отмечали уменьшение времени, проведенного в центре установки, увеличение исследовательской, горизонтальной и вертикальной двигательной активности, по сравнению с группой «Ожог, 2 сутки», что

приближалось к значениям группы «Контроль», при этом явления фризинга не выявлено.

В условиях физиологической нормы животные из контрольной группы показывали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) признаки нормального состояния, проявляли исследовательско-познавательный интерес, передви-

гались в открытые и закрытые части лабиринта. Спокойно изменяли горизонтальное положение тела на вертикальное, без опоры о стенку установки и с опорой, пересекали центральную зону установки. В единичных случаях наблюдали фекальные болюсы.

Особенности поведения животных с ожоговой травмой в тесте ПКЛ подтверждают формирование физического истощения, эмоционального напряжения в ранний период ожогового процесса (Табл. 2). Это проявлялось заметным уменьшением на 2—4 сутки числа выходов в открытые части лабиринта и длительностью пребывания на них ($p < 0,001$); угнетением двигательной активности (пребывание в темных закрытых отделах лабиринта, пересечение центральной зоны) ($p < 0,05$). Кроме того, угнеталась и познавательная активность (вертикальные положения тела, «выглядывания» из закрытых отделов лабиринта, «свешивания» с открытых отделов лабиринта) ($p < 0,001$) по сравнению с интактными особями.

Однако увеличивались показатели кратковременного груминга ($p < 0,01$), ЛП выхода в открытые отделы лабиринта ($p < 0,05$) и продолжительность фризинга ($p < 0,001$). Повышенная тревожность сохранялась в течение первой недели (7 сутки), что проявлялось в виде снижения пребывания в открытых и увеличения — в закрытых частях лабиринта ($p < 0,001$); уменьшения центральных переходов ($p < 0,05$). Кроме того, угнеталась и познавательная активность. К середине второй недели (10 сутки), увеличилось время проведенное в открытых рукавах, более чем на 40 % ($p < 0,05$) в сравнении с группой крыс «2 сутки». Также было выявлено повышение количества стоек, переходов через центр, «свешиваний» с открытых рукавов, «выглядываний» из закрытых рукавов, груминга в сравнении с животными «Ожог 2 сутки».

Таким образом, результаты исследования в тесте ПКЛ указывают на развитие на фоне ожогового стресса состояния повышенной ситуативной подавленности и тревожности.

Таблица 2

Влияние ожоговой травмы на поведение животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ)

Поведенческие показатели ($M \pm m$)	Контроль (интактные)	Ожог 2 сутки	Ожог 4 сутки	Ожог 7 сутки	Ожог 10 сутки
Пребывание в открытых рукавах, с	151,5 ± 3,6	98,7 ± 4,2***	117,8 ± 7,9**	123,7 ± 2,7***	162,3 ± 5,1##
ЛП выхода в открытые рукава, с	1,6 ± 0,1	13,8 ± 0,7*	10,5 ± 0,6*	6,8 ± 0,3*	3,5 ± 0,3##
Пребывание в закрытых рукавах, с	145,2 ± 3,3	199,1 ± 4,7**	179,6 ± 4,7**	173,5 ± 3,7*	134,8 ± 3,3##
Выходы в центр	1,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1**	1,5 ± 0,4**	1,8 ± 0,1**	2,2 ± 0,5#
Время, проведенное в центре, с	3,3 ± 1,0	2,2 ± 0,5*	2,6 ± 0,1*	2,8 ± 0,3*	2,9 ± 0,5##
Переходы через центр	4,4 ± 0,5	3,2 ± 0,3**	3,8 ± 0,1**	4,1 ± 0,1**	4,7 ± 0,1#
Стойки	4,1 ± 0,2	1,7 ± 0,1***	2,1 ± 0,4***	3,4 ± 0,1***	4,5 ± 0,2##
«Свешивания» с открытых рукавов	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,1***	0,6 ± 0,1***	0,7 ± 0,2**	1,3 ± 0,1##
«Выглядывания» из закрытых рукавов	2,0 ± 0,4	0,8 ± 0,1***	0,9 ± 0,1***	1,2 ± 0,1**	1,4 ± 0,1##
Фекальные болюсы	1,3 ± 0,2	1,9 ± 0,3**	2,3 ± 0,3**	1,5 ± 0,2**	1,1 ± 0,1#
Фризинг	1,1 ± 0,4	9,1 ± 0,1***	4,5 ± 0,1***	2,5 ± 0,1**	0,7 ± 0,2##
Груминг	4,1 ± 0,4	7,2 ± 0,1**	6,7 ± 0,4**	6,2 ± 0,1*	5,7 ± 0,1#

Примечание: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — относительно контроля; # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ — относительно группы «Ожог, 2 сутки» (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Table 2

Effect of burn injury on animal behavior in the test «Elevated cruciform maze» (ECM)

Indicators of behavior (M ± m)	Intact animals not exposed to burns (control)	On the 2nd day after the burn	On the 4th day after the burn	On the 7th day after the burn	10 days after the burn
Staying in open sleeves, s	151.5±3.6	98.7±4.2***	117.8±7.9**	123.7±2.7***	162.3±5.1##
Latent period of exit into open sleeves, s	1.6±0.1	13.8±0.7*	10.5±0.6*	6.8±0.3*	3.5±0.3##
Staying in closed sleeves, s	145.2±3.3	199.1±4.7**	179.6±4.7**	173.5±3.7*	134.8±3.3##
Exits to the center	1.9±0.2	1.1±0.1**	1.5±0.4**	1.8±0.1**	2.2±0.5#
Time spent at the centre, s	3.3±1.0	2.2±0.5*	2.6±0.1*	2.8±0.3*	2.9±0.5##
Transitions through the center	4.4±0.5	3.2±0.3**	3.8±0.1**	4.1±0.1**	4.7±0.1#
vertical stand	4.1±0.2	1.7±0.1***	2.1±0.4***	3.4±0.1***	4.5±0.2##
«Hanging» from open sleeves	1.1±0.2	0.8±0.1***	0.6±0.1***	0.7±0.2**	1.3±0.1##
«Peeking out» of closed sleeves	2.0±0.4	0.8±0.1***	0.9±0.1***	1.2±0.1**	1.4±0.1##
Fecal boluses	1.3±0.2	1.9±0.3**	2.3±0.3**	1.5±0.2**	1.1±0.1#
Friezing	1.1±0.4	9.1±0.1***	4.5±0.1***	2.5±0.1**	0.7±0.2##
Grooming	4.1±0.4	7.2±0.1**	6.7±0.4**	6.2±0.1*	5.7±0.1#

Note: * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — relative to control; # — $p < 0.05$; ## — $p < 0.01$; ### — $p < 0.001$ — relative to the group «Burn, 2 days» (Student's Bonferroni-adjusted t-test)

В условиях физиологической нормы животные из контрольной группы показывали в тесте «Суок-тест» признаки нормального состояния, латентный период выхода из центра был не длительным. Время, проведенное в светлом отсеке, соответствовало времени, проведенному в темном отсеке. Темп движения был умеренным. Животные спокойно изменяли горизонтальное положение тела на вертикальное, без опоры о стенку установки и с опорой, пересекали центральную зону установки. В единичных случаях наблюдали фекальные болюсы.

В гибридной модели СТ животные с ожоговой травмой показывали общие признаки опасения и тревожности, причем как в светлом, так и темном отсеках планки (Табл. 3). На 2—4 сутки эксперимента в светлой половине шеста угнетение горизонтальной двигательной активности сопровождалось достоверным снижением темпа движения ($p < 0,001$), количества посещенных сегментов ($p < 0,01$), переходов через центр ($p < 0,001$). Латентный период выхода из центра также увеличивался в эти сроки ($p < 0,01$). При этом также подавлялась ориентировочно-познавательская активность (направленные движения головой, «заглядывания» вниз) ($p < 0,01$). В этот период наблюдали увеличение времени пребывания в светлой половине СТ ($p < 0,001$), учащение

соскальзываний задних лап ($p < 0,01$), увеличение актов дефекации ($p < 0,05$) и актов кратковременного груминга ($p < 0,01$).

Наряду с этим в темном отсеке СТ на 2—4 сутки было отмечено уменьшение времени пребывания в темном отсеке ($p < 0,001$) и снижение посещенных сегментов ($p < 0,01$), подавление исследовательского поведения, проявляющееся достоверным снижением «заглядываний вниз» ($p < 0,001$) и числа направленных движений головой ($p < 0,05$). В эти сроки наблюдали учащение соскальзываний задних лап на 50 % ($p < 0,01$), увеличение актов дефекации и показателей кратковременного груминга ($p < 0,01$) по сравнению с контрольными значениями (Табл. 3).

При анализе поведения животных на 7 и 10 сутки послеожогового периода регистрировали постепенное увеличение времени ($p < 0,001$), проведенного в темном отсеке, а также числа посещенных сегментов в темном отсеке ($p < 0,01$) по сравнению с 2 и 4 сутками, показатели приравнивались к контрольным значениям. К концу первой недели эксперимента выявляли изменение исследовательского поведения ($p < 0,001$), а к середине второй недели отмечали увеличение темпа движения и груминга ($p < 0,01$), уменьшение актов дефекации ($p < 0,05$) как в светлой, так и в темной стороне установки.

Таблица 3

Влияние ожоговой травмы на поведение животных в тесте «Суок-тест»

Поведенческие показатели (M ± m)	Контроль (интактные)	Ожог 2 сутки	Ожог 4 сутки	Ожог 7 сутки	Ожог 10 сутки
Латентный период выхода из центра, с	5,1±1,2	12,4 ± 1,4**	10,2±0,6**	7,9±0,4*	3,4±0,4*
Светлый отсек СТ					
Время, проведенное в отсеке, с	144,0±8,2	200,4± 2,5***	189,5±3,7***	150,4±3,1*	123,5±2,2**
Число посещенных сегментов	8,0 ± 1,3	3,2±0,2**	5,3±0,4**	8,5±0,4*	12,3±0,1**
Число остановок в отсеке	2,3±0,03	0,4±0,01**	0,6±0,01**	1,8±0,03*	5,6±0,08*
«Заглядывания» вниз	5,3±0,3	2,0±0,3**	3,8±0,3**	4,6±0,3*	5,9±0,4
Направленные движения головой	0,5±0,1	0,7±0,4*	0,6±0,1*	0,8±0,1*	1,2±0,1***
Соскальзывания задних лап	1,6±0,1	3,0±0,4**	2,8±0,3**	2,6±0,2***	1,9±0,1*
Среднее расстояние между остановками	1,7±0,3	0,9±0,05**	1,4±0,2*	1,5±0,2*	1,6±0,1
Темп движения, посещенные сегменты/300 с	0,1±0,02	0,06 ± 0,01***	0,07±0,01***	0,1±0,02*	0,3±0,02**
Грумминг	2,7 ± 0,5	8,5±0,1**	6,4±0,1**	3,4±0,8**	1,5±0,4**
Число фекальных болюсов	0,2±0,1	1,5±0,1*	1,3±0,1*	0,8±0,02*	0,4±0,01*
Темный отсек СТ					
Время, проведенное в отсеке, с	149,0±2,2	87,2±3,6***	95,8±3,0***	103,6±3,5***	117,9±1,5***
Число посещенных сегментов	14,2±1,4	9,2±0,4**	12,3±0,7**	14,8±0,7	18,3±0,4*
Число остановок в отсеке	6,1±0,4	4,8±0,1**	4,9±0,1**	5,1±0,2*	5,3±0,2*
«Заглядывания» вниз	6,3±0,2	4,2±0,3***	4,8±0,1***	5,2±0,1***	5,7±0,3*
Направленные движения головой	7,8±1,2	3,8 ± 0,3*	4,6±0,2*	4,8±0,3*	5,3±0,1**
Соскальзывания задних лап	2,1±0,3	4,7±0,3**	4,2±0,2**	3,7±0,1**	3,2±0,2**
Среднее расстояние между остановками	2,6±0,4	2,9±0,3*	2,8±0,7	2,4±0,4*	2,3±0,3*
Темп движения, посещенные сегменты/300 с	0,18±0,02	0,15±0,01*	0,2±0,01*	0,2±0,01*	0,3±0,02*
Грумминг	2,1±0,4	5,4±0,1**	4,8±0,1**	4,2±0,6**	3,1±0,4**
Число фекальных болюсов	0,3±0,1	1,1±0,2*	1,1±0,2*	0,8±0,1*	0,2±0,2*

Примечание: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — относительно контроля; (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Table 3

Effect of burn injury on animal behavior in the test «Bitch test»

Indicators of behavior (M ± m)	Intact animals not exposed to burns (control)	On the 2nd day after the burn	On the 4th day after the burn	On the 7th day after the burn	10 days after the burn
Latent period of exit into open sleeves, s	5.1±1.2	12.4 ± 1.4**	10.2±0.6**	7.9±0.4*	3.4±0.4*
Light compartment					
Time spent in the compartment, s	144.0±8.2	200.4± 2.5***	189.5±3.7***	150.4±3.1*	123.5±2.2**
Number of segments visited	8.0 ± 1.3	3.2±0.2**	5.3±0.4**	8.5±0.4*	12.3±0.1**
Number of stops in the compartment	2.3±0.03	0.4±0.01**	0.6±0.01**	1.8±0.03*	5.6±0.08*
«Looking Down»	5.3±0.3	2.0±0.3**	3.8±0.3**	4.6±0.3*	5.9±0.4
Directional head movements	0.5±0.1	0.7±0.4*	0.6±0.1*	0.8±0.1*	1.2±0.1***
Hind foot slips	1.6±0.1	3.0±0.4**	2.8±0.3**	2.6±0.2***	1.9±0.1*
Average distance between stops	1.7±0.3	0.9±0.05**	1.4±0.2*	1.5±0.2*	1.6±0.1
Pace of movement, visited segments /300 s	0.1±0.02	0.06 ± 0.01***	0.07±0.01***	0.1±0.02*	0.3±0.02**

End table 3

Indicators of behavior (M ± m)	Intact animals not exposed to burns (control)	On the 2nd day after the burn	On the 4th day after the burn	On the 7th day after the burn	10 days after the burn
Grooming	2.7 ± 0.5	8.5±0.1**	6.4±0.1**	3.4±0.8**	1.5±0.4**
Number of faecal boluses	0.2±0.1	1.5±0.1*	1.3±0.1*	0.8±0.02*	0.4±0.01*
Dark compartment					
Time spent in the compartment, s	149.0±2.2	87.2±3.6***	95.8±3.0***	103.6±3.5***	117.9±1.5***
Number of segments visited	14.2±1.4	9.2±0.4**	12.3±0.7**	14.8±0.7	18.3±0.4*
Number of stops in the compartment	6.1±0.4	4.8±0.1**	4.9±0.1**	5.1±0.2*	5.3±0.2*
«Looking Down»	6.3±0.2	4.2±0.3***	4.8±0.1***	5.2±0.1***	5.7±0.3*
Directional head movements	7.8±1.2	3.8 ± 0.3*	4.6±0.2*	4.8±0.3*	5.3±0.1**
Hind foot slips	2.1±0.3	4.7±0.3**	4.2±0.2**	3.7±0.1**	3.2±0.2**
Average distance between stops	2.6±0.4	2.9±0.3*	2.8±0.7	2.4±0.4*	2.3±0.3*
Pace of movement, visited segments /300 s	0.18±0.02	0.15±0.01*	0.2±0.01*	0.2±0.01*	0.3±0.02*
Grooming	2.1±0.4	5.4±0.1**	4.8±0.1**	4.2±0.6**	3.1±0.4**
Number of fecal boluses	0.3±0.1	1.1±0.2*	1.1±0.2*	0.8±0.1*	0.2±0.2*

Note: * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — relative to control; (Student's Bonferroni-adjusted t-test)

В условиях физиологической нормы животные из контрольной группы показывали в тесте «Порсолт» признаки нормального состояния, начинали двигаться с момента опускания в воду. Животные активно двигались в воде, иногда ныряли. Показатели иммобильности и латентного периода до первой иммобильности были высокими. Длительность активного плавания превышала пассивное плавание. В единичных случаях наблюдали фекальные болюсы.

В условиях ожоговой травмы в тесте «Порсолт» животные в ранний период 2—4 сутки также проявляли признаки угнетенного и депрессивноподобного состояния (Табл. 4). Было отмечено достоверное увеличение ЛП начального проявления двигательной активности ($p < 0,001$), длительности иммобильности, а также снижение ЛП по сравнению с интактными особями ($p < 0,001$). В большей степени было отмечено пассивное плавание ($p < 0,001$), при этом время активного плавания сократилось ($p < 0,05$).

Таблица 4

Влияние ожоговой травмы на поведение животных в тесте «Порсолт»

Поведенческие показатели (M±m)	Контроль (интактные)	Ожог 2 сутки	Ожог 4 сутки	Ожог 7 сутки	Ожог 10 сутки
ЛП до 1-го движения, с	1,5 ± 0,1	3,1 ± 0,3***	2,7±0,3***	2,6±0,6***	2,3±0,4**
ЛП до 1-й иммобильности, с	254,7±17,6	71,5 ± 7, 2***	124,5±4,8	154,5±9,8***	198,6±12,3**
Иммобильность, с	30,3 ± 1,2	60,6 ± 2,4***	51,7±2,4**	38,2±0,9*	23,4±1,1**
Пассивное плавание, с	80,8 ± 7,1	130,2 ± 2,7***	124,7±2,7***	101,6±2,7*	70,2±2,7*
Активное плавание, с	188,9 ± 6,5	109,2 ± 5,2**	124,6±4,3**	160,2±6,8**	206,4±6,2*
Фекальные болюсы	1,2 ± 0,1	3,4± 1,2**	3,1±0,8**	1,9±0,2**	1,4±0,1*

Примечание: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — относительно контроля (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Table 4

Effect of burn injury on animal behavior in test «Porsolt»

indicators of behavior (M±m)	Intact animals not exposed to burns (control)	On the 2nd day after the burn	On the 4nd day after the burn	On the 7nd day after the burn	10 days after the burn
Latent period before the first movement, s	1.5 ± 0.1	3.1 ± 0.3***	2.7±0.3***	2.6±0.6***	2.3±0.4**
Latent period to first immobility, s	254.7±17.6	71.5 ± 7. 2***	124.5±4.8	154.5±9.8***	198.6±12.3**
Immobility, s	30.3 ± 1.2	60.6 ± 2.4***	51.7±2.4**	38.2±0.9*	23.4±1.1**
Passive swimming, s	80.8 ± 7.1	130.2 ± 2.7***	124.7±2.7***	101.6±2.7*	70.2±2.7*
Active swimming, s	188.9 ± 6.5	109.2 ± 5.2**	124.6±4.3**	160.2±6.8**	206.4±6.2*
Number of fecal boluses	1.2 ± 0.1	3.4± 1.2**	3.1±0.8**	1.9±0.2**	1.4±0.1*

Note: * — p < 0.05; ** — p < 0.01; *** — p < 0.001 — relative to control (Student’s Bonferroni-adjusted t-test)

К 7 суткам также наблюдали достоверное увеличение латентного периода (p<0,001) до первого движения и до первой иммобильности, относительно контроля. Сравнивая межсуточные показатели бездвиженности, определили сокращение времени на 7 сутки (p<0,001), также сокращалась продолжительность пассивного плавания. К 10 суткам отмечали уменьшение времени, проведенного в пассивном

состоянии, увеличение двигательной активности, по сравнению с группой «Ожог, 2 сутки».

Активность перекисного окисления липидов в гомогенате гипоталамуса и префронтальной доли головного мозга оценивали по показателям, отражающим исходный уровень малонового диальдегида, скорости спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов и активность фермента каталазы (табл. 5, 6).

Таблица 5

Показатели ПОЛ гипоталамической области головного мозга крыс в условиях ожоговой травмы

Биохимические показатели (M ± m)	Уровень ПОЛ			Активность каталазы, %
	Исходный уровень МДА, M±m, нмоль/г ткани	Скорость спонтанного ПОЛ, M±m, нмоль/г-ч	Скорость аскорбатзависимого ПОЛ, M±m, нмоль/г-ч	
Контроль	25,7±1,3	2,4±0,2	14,3±0,7	5,4±0,1
«Ожог, 2 сутки»	42,4±0,7***	6,5±0,2***	21,4±0,5***	8,9±0,1***
«Ожог, 4 сутки»	37,1±0,4*	4,5±0,2***	18,3±0,2***	8,1±0,07***
«Ожог, 7 сутки»	33,9±0,1***	3,7±0,1***	17,8±0,2***	6,8±0,13***
«Ожог, 10 сутки»	28,9±0,4*, ###	2,8±0,1*, ###	16,4±0,4**, ###	5,8±0,3*

Примечание: * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001 — относительно группы «Контроль», # — p<0,05; ## — p<0,01; ### — p<0,001 — относительно группы «Ожог, 2 сутки» (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Table 5

Rat hypothalamic brain lipid peroxidation in burn injury

Biochemical parameters (M ± m)	Lipid peroxidation level			Catalase activity, %
	Initial level of malonic dialdehyde, M±m, nanomol /grams of tissue	Spontaneous rate lipid peroxidation, M±m, nanomol /g-h	Ascorbic-dependent speed lipid peroxidation, M±m, nanomol /g-h	
Intact animals not exposed to burns (control)	25.7 ± 1.3	2.4 ± 0.2	14.3 ± 0.7	5.4 ± 0.1
On the 2nd day after the burn	42.4 ± 0.7***	6.5 ± 0.2***	21.4 ± 0.5***	8.9 ± 0.1***

End table 3

Biochemical parameters (M ± m)	Lipid peroxidation level			Catalase activity, %
	Initial level of malonic dialdehyde, M±m, nanomol /grams of tissue	Spontaneous rate lipid peroxidation, M±m, nanomol /g-h	Ascorbic-dependent speed lipid peroxidation, M±m, nanomol /g-h	
On the 4nd day after the burn	37.1±0.4*	4.5±0.2***	18.3±0.2***	8.1±0.07***
On the 7nd day after the burn	33.9±0.1***	3.7±0.1***	17.8±0.2***	6.8±0.13***
10 days after the burn	28.9±0.4*, ###	2.8±0.1*, ###	16.4±0.4*, ###	5.8±0.3*

Note: * — p < 0.05; ** — p < 0.01; *** — p < 0.001 — relative to control; # — p < 0.05; ## — p < 0.01; ### — p < 0.001 — relative to the group «Burn, 2 days» (Student's Bonferroni-adjusted t-test)

В физиологических условиях у животных контрольной группы чрезмерного накопления гидроперекисей не происходит, так как процессы ПОЛ находятся под контролем системы антиоксидантной защиты. Уровень каталазы в гипоталамической области головного мозга крыс в условиях ожоговой травмы находится в пределах нормальных значений.

При изучении интенсивности ПОЛ гипоталамической области головного мозга крыс было установлено, что термическая травма приводила к увеличению продуктов перекисного окисления по сравнению с контрольными значениями. Так, на 2 сутки после ожога уровень МДА поднимался на 58,7 % по сравнению с группой «Контроль», скорость спонтанного ПОЛ увеличивалась в 2,5 раза, а скорость аскорбатзависимого ПОЛ — в 1,5 раза. На 10 сутки отмечали восстановление в гомоген-

нате ткани гипоталамуса исходного уровня МДА, скоростей спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ по сравнению с группой «Контроль». Наряду с этим исходный уровень МДА в через 1,5 недели снижался на 30 % (p < 0,001) относительно группы «Ожог, 2 сутки». Отмечали также достоверное снижение спонтанного ПОЛ на 57 % (p < 0,001) и аскорбатзависимого ПОЛ на 23,3 % (p < 0,001) относительно животных группы «Ожог, 2 сутки».

Следует отметить увеличение активности каталазы в гипоталамической области головного мозга животных на 2 сутки «ожогового» стресса на 65 % (p < 0,001) и на 50 % (p < 0,001) на 4 сутки, на 26 % (p < 0, 01) на 7 сутки, по сравнению с группой «Контроль». Однако к 10 суткам наблюдали постепенное восстановление активности каталазы до нормальных значений (p < 0, 05).

Таблица 6

Показатели ПОЛ префронтальной области головного мозга крыс в условиях ожоговой травмы

Биохимические показатели (M ± m)	Уровень ПОЛ			Активность каталазы, %
	Исходный уровень МДА, M±m, нмоль/г ткани	Скорость спонтанного ПОЛ, M±m, нмоль/г-ч	Скорость аскорбатзависимого ПОЛ, M±m, нмоль/г-ч	
Контроль	17,8±0,7	4,1±0,2	13,8±0,9	6,9±0,7
«Ожог, 2 сутки»	29,4±0,5**	8,3±0,4**	21,7±0,8**	12,4±0,8***
«Ожог, 4 сутки»	32,3±2,3***	7,9±0,7**	19,3±1,5**	11,7±0,9**
«Ожог, 7 сутки»	25,3±2,7*, #	6,8±0,5***, #	17,4±0,9*, #	10,6±1,0**
«Ожог, 10 сутки»	19,1±0,5*, ###	4,8±0,4*, ###	15,8±0,5*, ###	8,4±1,03*

Примечание: * — p < 0,05; ** — p < 0,01; *** — p < 0,001 — относительно группы «Контроль», # — p < 0,05; ## — p < 0,01; ### — p < 0,001 — относительно группы «Ожог, 2 сутки» (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Table 6

Rat prefrontal brain lipid peroxidation in burn injury

Biochemical parameters (M ± m)	Lipid Peroxidation level			Catalase activity, %
	Initial level of malonic dialdehyde, M±m, nanomol / grams of tissue	Spontaneous rate Lipid Peroxidation, M±m, nanomol /g-h	Ascorbic-dependent speed Lipid Peroxidation, M±m, nanomol /g-h	
Intact animals not exposed to burns (control)	17.8±0.7	4.1±0.2	13.8±0.9	6.9±0.7
On the 2nd day after the burn	29.4±0.5**	8.3±0.4**	21.7±0.8**	12.4±0.8***
On the 4nd day after the burn	32.3±2.3***	7.9±0.7**	19.3±1.5**	11.7±0.9**
On the 7nd day after the burn	25.3±2.7*,#	6.8±0.5***,#	17.4±0.9*,#	10.6±1.0**
10 days after the burn	19.1±0.5*.,###	4.8±0.4*.,###	15.8±0.5*.,###	8.4±1.03*

Note: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — relative to control; # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ — relative to the group «Burn, 2 days» (Student's Bonferroni-adjusted t-test)

При изучении интенсивности ПОЛ префронтальной области головного мозга у интактных животных из группы «Контроль» показатели были в пределах нормальных значений. Активность антиоксидантного фермента каталазы соответствовала физиологическим показателям, что свидетельствовало о низком уровне пероксидации.

На фоне ожогового воздействия установлено увеличение исходного уровня МДА, скоростей спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ в ранние периоды ожоговой травмы (на 2 и 4 сутки) в среднем в 2 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контрольными значениями. Максимальное увеличение уровня МДА на 65 % ($p < 0,001$) наблюдали на 4-е сутки после ожоговой травмы. К концу первой недели постожогового периода (7 сутки) уровень МДА начинает снижаться на 14 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой «2 сутки». На 7 сутки в гомогенате ткани префронтальной области отмечали увеличение скорости спонтанного ПОЛ на 65,8 % ($p < 0,001$) и аскорбатзависимого ПОЛ на 26 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями группы «Контроль». К середине второй недели (10 суткам) наблюдали восстановление исходного уровня МДА ($p < 0,05$), а также скоростей ферментативного и неферментативного ПОЛ ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями. Также в этот период наблюдали снижение на 35 % ($p < 0,001$) исходного уровня МДА, а также скоростей ферментативного и неферментативного ПОЛ на 42 % ($p < 0,001$) и на 27 % ($p < 0,001$) соответственно относительно группы «2 сутки».

Активность каталазы в префронтальной доле головного мозга у животных на 2 и 4 сутки эксперимента на фоне «ожогового» стресса увеличилась в среднем более чем на 60 % ($p < 0,05$), а на 7 сутки — на 50 % ($p < 0,05$). На 10 сутки эксперимента наблюдали повышение активности каталазы лишь на 20 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями.

Выводы

Результаты оценки психоэмоционального статуса животных при ожоговом повреждении кожи в стандартных поведенческих тестах подтверждают вовлеченность нервной системы в ответ на стресс, рефлекторная деятельность которой в стрессовых условиях проявляется в изменении поведенческих реакций.

В ходе исследования было выявлено, что в изученных зонах головного мозга на фоне термической травмы происходили изменения, сопровождающие ожоговый процесс. При воздействии термического ожогового фактора у крыс развивались признаки стрессорной реакции — тревоги (1—2 сутки), резистентности (4—7 сутки) и истощения (10 сутки). Было показано, что в ранние сроки (2—4 сутки) послеожогового периода происходило развитие тревожно-фобического состояния, как следствие — формирование сенсомоторной дезактивации, депрессивно-подобной реакции и эмоционального истощения. К 10 суткам после термической травмы

отмечена тенденция к восстановлению нарушенных функций, проявляющаяся в ускорении темпа движения, увеличении горизонтальной и вертикальной двигательной активности, инициации исследовательских навыков.

В ходе исследования также установлено, что ожоговое повреждение кожи сопровождалось увеличением в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга крыс концентрации ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов, результатом чего явилось развитие окислительного стресса. Ожоговая травма инициировала в изучаемых зонах головного мозга процессы перекисидации, наиболее выраженные в ранний период ожогового процесса (на 2—4 сутки), с разной степенью снижающиеся в последующие сроки (на 7, 10 сутки).

Таким образом, сопровождающие ожоговые повреждения кожи изменения интенсивности окислительно-восстановительных процессов и психоэмоционального статуса крыс являлись, на наш взгляд, следствием биохимических и функциональных нарушений отделов головного мозга, активизировавшихся в ходе защитно-адаптационных реакций при ожоговой травме.

Библиографический список

1. Belokhvostova D., Berzanskyte I., Cujba A.M., Jowett G., Marshall L., Prueller J., Watt F.M. Homeostasis, regeneration and tumour formation in the mammalian epidermis // *Int J. Dev Biol.* 2018. V. 62. № 6—7—8. P. 571—582.
2. Voisin T., Bouvier A., Chiu I.M. Neuro-immune interactions in allergic diseases: novel targets for therapeutics // *Int Immunol.* 2017. V. 29. № 6. P. 247—261. doi: <https://doi.org/10.1093/intimm/dxx040>
3. Cohen S., Gianaros P.J., Manuck S.B. A Stage Model of Stress and Disease. *Perspect Psychol Sci.* 2016. V. 11. № 4. P. 456—463. doi: [10.1177/1745691616646305](https://doi.org/10.1177/1745691616646305)
4. Doeselaar L., Yang H., Bordes J., Brix L., Engelhardt C., Tang F., Schmidt M.V. Chronic social defeat stress in female mice leads to sex-specific behavioral and neuroendocrine effects // *Stress.* 2021. V. 24. № 2. P. 168—180. doi: [10.1080/10253890.2020.1864319](https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1864319)
5. Koolhaas J.M., Boer S.F., Buwalda B., Meerlo P. Social stress models in rodents: Towards enhanced validity // *Neurobiol. stress.* 2017. № 6. C. 104—112. doi: [10.1016/j.ynstr.2016.09.003](https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.003)
6. Мурталиева В.Х., Цибизова А.А., Сергалиева М.У., Самотруева М.А. Влияние экстракта Астралага вздутого (*Astragalus physodes*) на поведенческие реакции животных в условиях «со-

циального» стресса // *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022. Т. 42. № 3. С. 52—57.

7. Розанов В.А. Стресс и психическое здоровье (нейробиологические аспекты) // *Социальная и клиническая психиатрия.* 2013. Т. 23. № 1. С. 79—86.

8. Цибизова А.А., Сергалиева М.У., Орусханова Д.А., Самотруева М.А. Влияние меланокортиновых нейропептидов на поведенческие реакции белых крыс в условиях экспериментального сахарного диабета // *Астраханский медицинский журнал.* 2022. Т. 17. № 1. С. 72—78.

9. Ясеняевская А.Л., Самотруева М.А., Цибизова А.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Влияние нейропептидов на психоэмоциональное состояние в условиях «социального» стресса // *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье.* 2020. № 3. С. 37—45.

10. Panda S., Dash Manoj K., Thatoi Pravat K., Dandapat J., Rath B. Oxidative stress correlates well with markers of metabolic syndrome in clinically hypothyroid cases: a hospital based case-control study in a remote tribal district // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.* 2021. Т. 25. № 1. С. 55—65. doi: [10.22363/2313-0245-2021-25-1-55-65](https://doi.org/10.22363/2313-0245-2021-25-1-55-65)

11. Дурнова Н.А., Шереметьева А.С., Каретникова А.Ю. Анализ воздействия кофеина и диоксида на биохимические показатели крови мышей // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.* 2021. Т. 25. № 1. С. 73—79. doi: [10.22363/2313-0245-2021-25-1-73-79](https://doi.org/10.22363/2313-0245-2021-25-1-73-79)

12. Самотруева М.А., Теплый Д.Л., Тюренков И.Н. Экспериментальные модели поведения // *Естеств. науки.* 2009. № 2. С. 140—152.

13. Мохаммед З.Д. Антиоксидантный статус организма при ожоговой травме легкой степени // *Межрегиональный сборник научных работ «Физиология и психофизиология мотиваций»*, Воронеж. 2001, Вып. 5. С. 35—38.

References

1. Belokhvostova D, Berzanskyte I, Cujba AM, Jowett G, Marshall L, Prueller J, Watt FM. Homeostasis, regeneration and tumour formation in the mammalian epidermis. *Int J. Dev Biol.* 2018;62(6—7—8):571—582.
2. Voisin T, Bouvier A, Chiu IM. Neuro-immune interactions in allergic diseases: novel targets for therapeutics. *Int Immunol.* 2017;29(6):247—261. doi: <https://doi.org/10.1093/intimm/dxx040>
3. Cohen S, Gianaros PJ, Manuck SB. A Stage Model of Stress and Disease. *Perspect Psychol Sci.* 2016;1(4):456—463. doi: [10.1177/1745691616646305](https://doi.org/10.1177/1745691616646305)
4. Doeselaar L, Yang H, Bordes J, Brix L, Engelhardt C, Tang F, Schmidt MV. Chronic social defeat stress in female mice leads to sex-specific behavioral and neuroendocrine effects. *Stress.* 2021;24(2):168—180. doi: [10.1080/10253890.2020.1864319](https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1864319)
5. Koolhaas JM, Boer SF, Buwalda B, Meerlo P. Social stress models in rodents: Towards enhanced validity. *Neurobiol. stress.* 2017;6:104—112. doi: [10.1016/j.ynstr.2016.09.003](https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.003)
6. Murtaliev V, Tsibizova AA, Sergaliev MU, Samotrueva MA. Influence of Astragalus physodes extract on animal behavioral

responses under «social» stress. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(3):52—57 (In Russian).

7. Rozanov VA. Stress and mental health (neurobiological aspects). *Social and clinical psychiatry*. 2013;23(1):79—86 (In Russian).

8. Tsibizova AA, Sergalieva MU, Orushanova DA, Samotrueva MA. Effect of melanocortin neuropeptides on behavioral responses of white rats in the setting of experimental diabetes mellitus. *Astrakhan Medical Journal*. 2022;17(1):72—78 (In Russian).

9. Yasenyavskaya AL, Samotrueva MA, Tsibizova AA, Myasoedov NF, Andreeva LA. Effect of neuropeptides on the psycho-emotional state under «social» stress. *Kursk Scientific and Practical Bulletin Man and his health*. 2020;3:37—45 (In Russian).

10. Panda S, Dash Manoj K, Thatoi Pravat K, Dandapat J, Rath B. Oxidative stress correlates well with markers of metabolic syndrome in clinically hypothyroid cases: a hospital

based case-control study in a remote tribal district. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25(1):55—65. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-1-55-65

11. Durnova NA, Sheremetyeva AS, Karetnikova AYU. Analysis of the effects of caffeine and dioxidine on biochemical indicators of blood in mouse. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25(1):73—79. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-1-73-79

12. Samotrueva MA, Teplyy DL, Tyurenkov IN. Experimental models of behavior. *Natural Sciences*. 2009;(2):140—152 (In Russian).

13. Mohammed ZD. Antioxidant status of the body in mild burn injury. *Interregional collection of scientific works «Physiology and psychophysiology of motivations»*, Voronezh. 2001;5:35—38 (In Russian).

Ответственный за переписку: Альфия Кадыровна Ажикова — кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биологии и ботаники Астраханского государственного медицинского университета, Российская Федерация, 414000, г. Астрахань, ул. М. Максаковой, д. 6. E-mail: alfia-imacheva@mail.ru

Ажикова А.К. SPIN-код 1245-3158; ORCID 0000-0001-9758-1638

Самотруева М.А. SPIN-код 5918-1341; ORCID 0000-0001-5336-4455

Corresponding author: Alfiya Azhikova — PhD, MD, Associate Professor at the Department of Biology and Botany, Astrakhan State Medical University, 414000, Maksakova 6, Astrakhan, Russian Federation. E-mail: alfia-imacheva@mail.ru

Azhikova A.K. ORCID 0000-0001-9758-1638

Samotrueva M.A. ORCID 0000-0001-5336-4455

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 10^0 (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

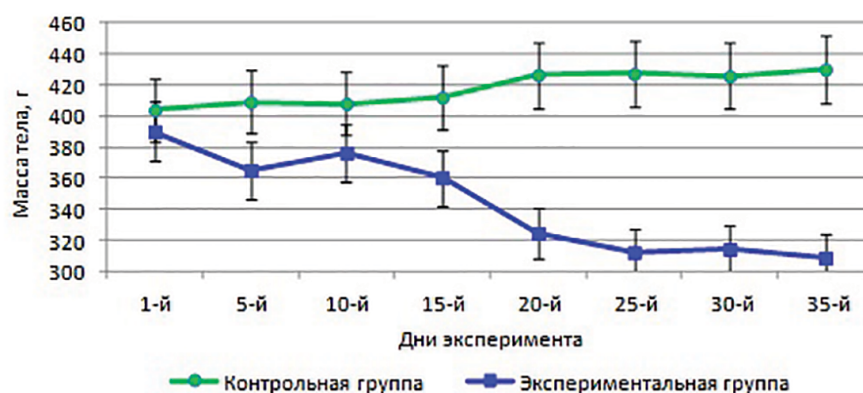


Рис. 1. Динамика массы тела животных (г) в процессе моделирования хронического физического перенапряжения

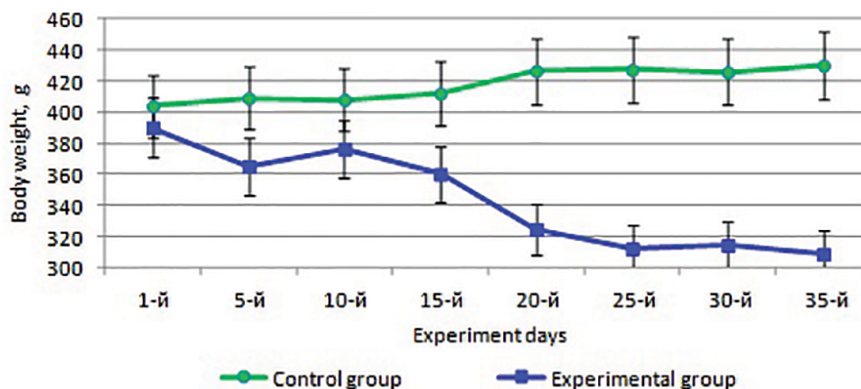


Fig. 1. Dynamics of body weight of animals (g) in the process of modeling chronic physical overstrain

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 субэпикардальной 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).

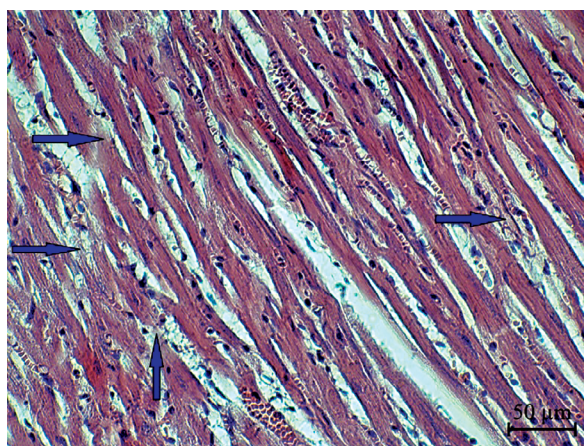


Рис. 2. ХФП (25 дней). Миокард. Кардиомиоциты. Признаки дистрофии миокарда в виде чередования в срезах небольших групп кардиомиоцитов в состоянии слабо выраженных гипертрофии и атрофии (выделено стрелками). Окраска гематоксилин и эозин $\times 200$

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 $\times 200$.

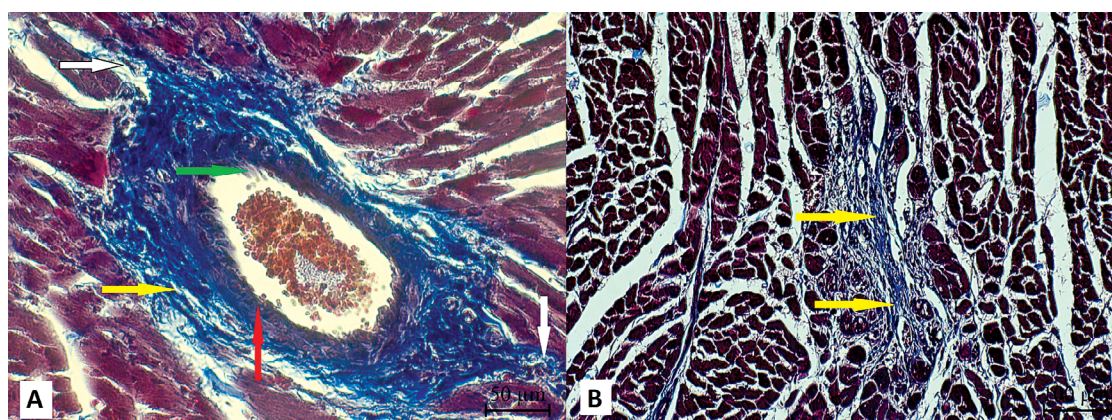


Рис. 3. ХФП (25 дней). А – Фиброз периваскулярной области, переходящий в интерстициальное поле между миофибрилл (отмечено белыми стрелками). Адвентиция (отмечено желтой стрелкой), Медиа (отмечено красной стрелкой), Интима (отмечено зеленой стрелкой). Окраска трихромом по Массону $\times 200$. В – Сетчатые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

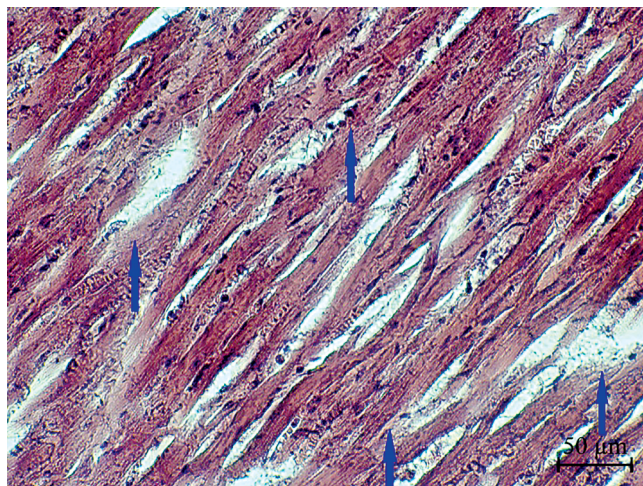


Рис. 4. ХФП (35 дней). Миокард. Кардиомиоциты. Признаки дистрофии миокарда, нарушение поперечной исчерченности и неравномерность окраски, кардиомиоциты в состоянии выраженной гипертрофии (выделено стрелками). Окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

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 $\times 200$

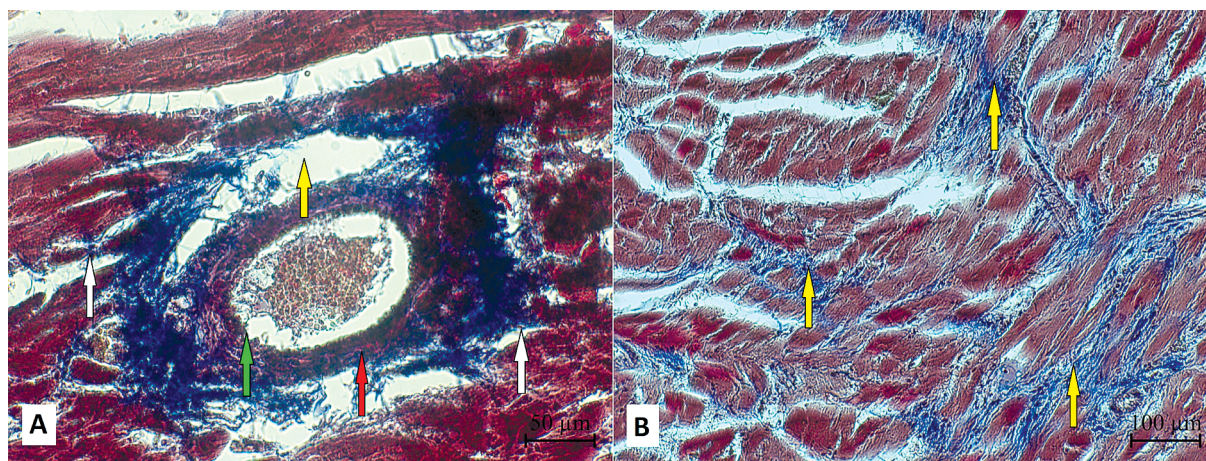


Рис. 5. ХФП (35 дней). А — Фиброз периваскулярной области, переходящий в интерстициальное поле между миофибрилл (отмечено черными стрелками). Адвентиция (отмечено желтой стрелкой), Медиа (отмечено красной стрелкой), Интима (отмечено зеленой стрелкой). Окраска трихромом по Массону $\times 200$. В — Выраженные 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 практикам 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.* Высокочувствительный 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. Schmied 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.biolog. 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. Schmied 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



ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-304-315

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Drug dependence analysis in young adults living in Moscow and across Russia for the years 2010–2020

Alexey Y. Abramov¹ , Evgeniya A. Koshkina² , Dmitry I. Kicha¹ ,
Anton O. Alekseyenko²  

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

²Moscow Research and Practical Center on Addictions, Moscow, Russian Federation

✉ antonalekseenko88@gmail.com

Abstract. Relevance. A statistical study of drug addiction among young people for 2010–2020 is needed in order to develop recommendations for the treatment of drug addiction. *The aim* of the research was to analyze trends of substances dependence disorder among adolescents. *Materials and Methods.* The present research is based on the national statistics data collected and presented in Federal Statistical Monitoring Form № 11 ‘Data on substances dependence disorder cases’; Federal Statistical Monitoring Form № 37 ‘Data on drug and toxic substances (inhalant) addicted adults’, which include estimates about adolescents aged 15–17 who seek addiction treatment initiation at public medical health facilities across Russia and in Moscow. The monitoring period is from 2010 to 2020. All substances dependence disorder morbidity rates were analyzed according to ICD-10 and presented as a breakdown of: drug addiction (dependence) syndrome and health detrimental abuse, first admissions; diagnostic groups, and medical conditions—mental disorders and deviant behaviors caused by drug and non-narcotic psychoactive substances abuse. The data were collected, compiled and Microsoft Office Excel 2016-processed to underlie a database. *Results and Discussion.* Alcohol and psychoactive substances abuse disorders showed the downward trend, both across Russia and Moscow. Drug abuse disorders showed the decline across Russia, while Moscow saw the same rates growing. *Conclusion.* The set of the government-backed programs adopted across Russia and in Moscow to fight the spread of adolescent substances dependence disorders delivered a positive result.

Key words: analytics, adolescents, drugs, psychoactive substances, mental disorders and deviant behaviors, health detrimental abuse, addiction

© Abramov A.Yu., Koshkina E.A., Kicha D.I., Alekseyenko A.O., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

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

Author contributions. Abramov A.Y.—concept and design of research; Koshkina E.A.—design of research, literature review; Kicha D.I.—concept of research, data processing collection and processing of materials; Alekseyenko O.A.—statistical data processing, writing text. All authors have made significant contributions to the development concepts, research and manuscript preparation, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval—not applicable.

Acknowledgements—not applicable.

Consent for publication—not applicable.

Received 23.07.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Abramov AYu, Koshkina EA, Kicha DI, Alekseyenko AO. Drug dependence analysis in young adults living in Moscow and across Russia for the years 2010—2020. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):304—315. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-304-315

Introduction

Psychoactive substances using without doctor's prescribe is a real hazard for the health. It increases the risk of different mental disorders. The most danger this case for teens [1—6]. Analytics developing and research supporting are the goals of Russian counter-drug policy until 2030 [7]. The high level of spreading mental and behavioral disorders in the world as in Russia that caused by substance abuse (narcological diseases) shows importance of epidemiological researches and prevention measures of substance abuse [8]. There were counter-alcohol [9] and counter-drug policy [10] in Russia in 2010—2020 years that realized for decreasing aftermath of psychoactive substances abusing.

Materials and methods

The present research is based on the national statistics data collected and presented in Federal Statistical Monitoring Form № 11 'Data on substances dependence disorder cases'; Federal Statistical Monitoring Form № 37 'Data on drug and toxic substances (inhalant) addicted adults', which include estimates about adolescents aged 15—17 who seek addiction treatment initiation at public medical health facilities across Russia and in Moscow. The

monitoring period is from 2010 to 2020. All substances dependence disorder morbidity rates were analyzed according to ICD-10 and presented as a breakdown of: drug addiction (dependence) syndrome and health detrimental abuse, first admissions; diagnostic groups, and medical conditions—mental disorders and deviant behaviors caused by drug and non-narcotic psychoactive substances abuse. The data were collected, compiled and Microsoft Office Excel 2016-processed to underlie a database.

Results and discussion

This study is deals with the analysis of the drug situation among adolescents in Russia and Moscow for 2010—2020. It should be noted that due to the peculiarity of the development of narcological disease, the indicator of primary referral (for the first time in their lives who applied for drug treatment) is the most informative among the adolescent population. At the same time, the majority of adolescents, who seek treatment for drug abuse are diagnosed with «harmful use (use with harmful consequences) of psychoactive substances», since in most cases the diagnosis of «substance dependence syndrome» has not yet been formed. At the same time, the early onset of substance

use significantly increases the risk of substance dependence syndrome and other mental disorders at a more mature age [2].

General (primary) incidence of substance abuse disorders among adolescents

The indicator of the general incidence of drug addiction disorders includes data on the primary treatment of adolescents with mental and behavioral disorders caused by «harmful use (harmful consequences)» and «addiction syndrome» from: alcohol, narcotic drugs, non-narcotic drugs (other toxic substances).

An analysis of the state statistics data on the primary appeal for drug treatment (general incidence) among adolescents aged 15—17 years for 2010—2020, both in Russia as a whole and in Moscow, determined a pronounced downward trend. It is indicated that in 2010 the primary incidence among adolescents in Russia was 916.7 per 100 thousand adolescents, in Moscow—1293.6 per 100 thousand adolescents (Fig. 1), which is higher than the average for Russia by 30 %. In the period from 2010 to 2016, the primary incidence rate among adolescents decreased both across the country as a whole and in Moscow, and in Russia the decrease in the indicator was more systematic compared to Moscow. By 2016, the primary incidence in Russia and Moscow was approximately at the same level, after

which this figure in Moscow until 2018 was lower than the average for Russia. By 2020, the rate of primary contact with drug addiction disorders among adolescents in Russia and Moscow was approximately the same, 187.6 and 196.9 per 100,000 adolescents, respectively. At the same time, if in Russia this indicator showed a systematic decrease, then in Moscow, compared to 2018, the primary appeal among adolescents increased by 54 % (from 127.5 to 196.9 per 100,000 adolescents, respectively).

An analysis of initial referrals showed that in 2010, both on average in Russia and in Moscow, adolescents mostly treated with drug disorders caused by «harmful use» (with harmful consequences), in Fig. 2 indicates that only 2.8 % of adolescents in Russia applied for the first time for drug treatment with a «substance dependence syndrome», in Moscow the same indicator in 2010 was 0.5 % of the total number of adolescents who applied. The studied indicators have not undergone pronounced changes by 2020. In Russia, the proportion of initial visits among adolescents with «harmful use» (with harmful consequences) was 97.6 %, with addiction syndrome 2.4 %, respectively. In Moscow, during the study period, there was a slight increase in the proportion of initial visits among adolescents with «substance dependence syndrome», up to 4 % the share of initial visits with «harmful use» was respectively 96 %.

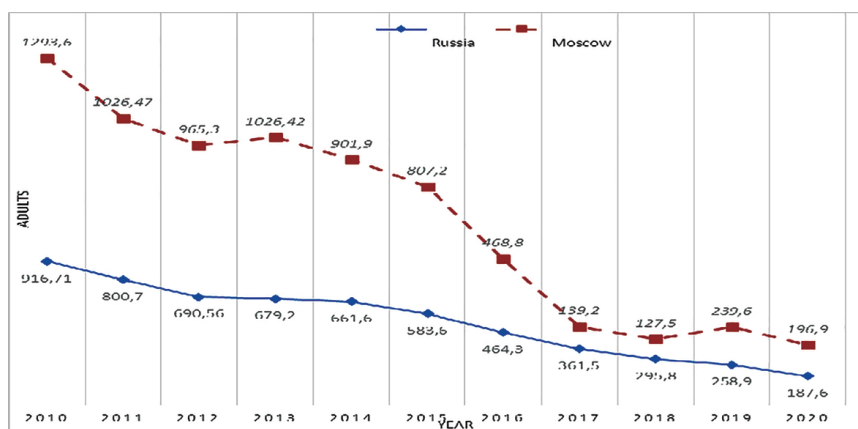


Fig. 1. Primary incidence (total) among young adults aged 15—17 battling drug dependence disorder across Russia and in Moscow for the years 2010—2020 (per 100k adolescent population)

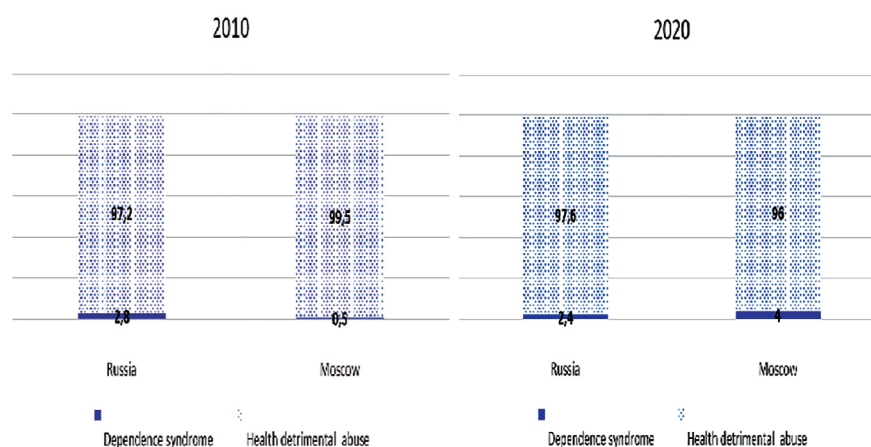


Fig. 2. Structural differences for cases of first admission to treatment of young adults aged 15–17 struggling with drug dependence disorder across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 in percent

Mental and behavioral disorders caused by alcohol abuse

As in previous years, the largest number of appeals to state institutions providing drug treatment to adolescents was related to alcohol consumption. On fig. 3 indicates that in Russia in 2010 the share of primary drug treatment requests related to alcohol abuse (addiction syndrome and harmful alcohol use) amounted to 86 % of the total number of primary drug treatment requests (total) among adolescents in Russia

in this year, this is higher than the same indicator for 2020, the share of which was respectively equal to 73 %.

In Moscow, the proportion of mental and behavioral disorders caused by alcohol in the total number of drug addiction disorders among adolescents in 2010 was 92 %; the same figure in 2020 was 50 % (Fig. 3). The share of initial visits with «alcohol dependence syndrome» among adolescents in 2010 was less than 1 %. The same indicator in 2020 was 0, which is indicated in Table 1.

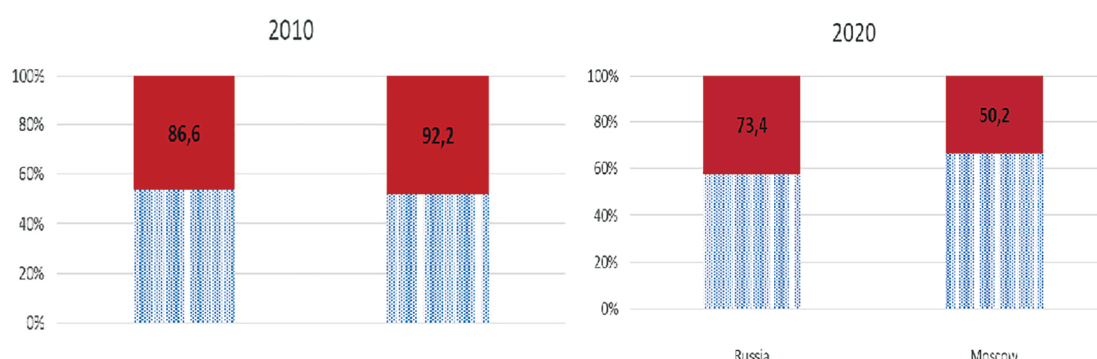


Fig. 3. Cases of first admission to treatment of young adults aged 15–17 battling alcohol-related disorders as compared to all other drug dependence disorders across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 in percent

Table 1

First admission data for adolescents aged 15–17 suffering from drug dependence disorder across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 per 100k adolescent population

Years	Primary Incidence				Incidence Rates in percent, %	
	2010		2020		Decrease/Increase	
	Russia	Moscow	Russia	Moscow	Russia	Moscow
Cases of first admission to treatment of young adults struggling with drug abuse disorder	916.7	1293.6	187.6	196.9	-80	-84
Alcohol dependence syndrome (Stearns' alcoholic amentia included)	10.5	1.7	0.9	0	-91	-100
Health detrimental (harmful effect included) alcohol abuse	783.2	1200.6	136.8	98.9	-82	-91
Drug dependence syndrome (drug addiction)	7.27	4.2	2.7	7.8	-63	83
Health detrimental drug abuse	65.2	66.5	35.3	78.7	-46	18
Non-narcotic psychoactive substances (inhalant abuse) dependence syndrome	6.8	0	0.9	0	-87	0
Non-narcotic psychoactive substances abuse (harmful effect included)	43.5	20.4	11.1	11.4	-74	-44

Mental and behavioral disorders caused by drug use

Analysis of primary appeals among adolescents with mental and behavioral disorders caused by drug use in Russia and Moscow for 2010—2020 has shown the following features. On fig. 6 indicates that in Russia in 2010 the proportion of cases among adolescents with disorders caused by the use of narcotic drugs out of the total number of cases with narcological disorders

(total) in state narcological institutions was 7.9 %. At the same time, it is indicated that the proportion of visits among adolescents with drug dependence syndrome of the total indicator of disorders caused by drug use was about 10 %. In Moscow, respectively, in 2010 the proportion of drug use disorder visits was 5.4 %, while the share of drug use disorder visits was about 6 % of the total drug use disorder visits among adolescents.

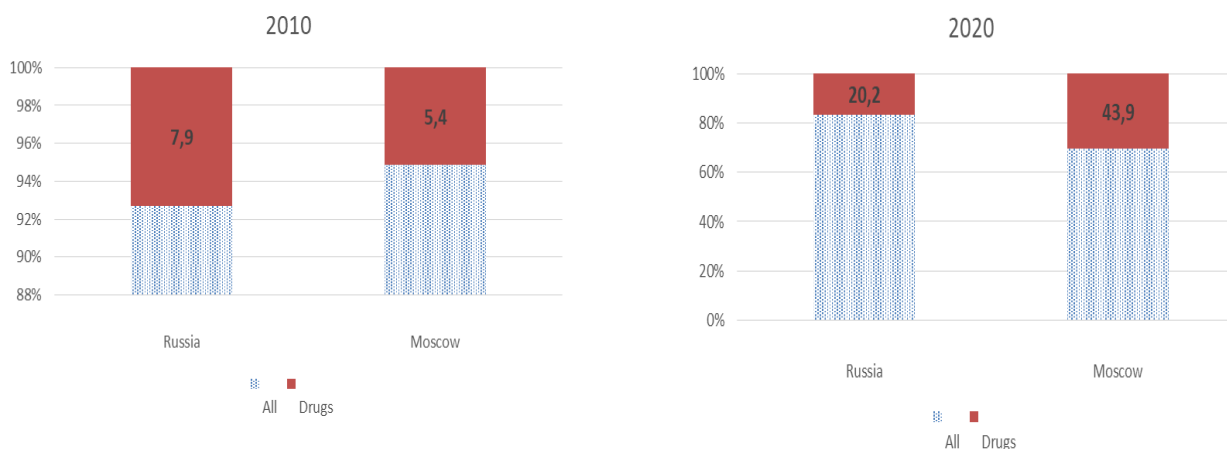


Fig. 6. Cases of first admission to treatment of young adults aged 15–17 struggling with drug abuse disorder, as compared to all other drug dependence disorders (total) across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 in percent

In 2020, there was a change in the structure of calls among adolescents with drug use disorders. In Russia, the share of such disorders in the total number of visits was 20.2 %, while the proportion of visits with addiction syndrome was 7 %, which is lower than the same indicator for 2010. In Moscow in 2020 there was a more significant change in the structure of primary visits among adolescents with disorders, caused by drug abuse, so the share of appeals from the total indicator was 43.9 %, which is several times more than the same indicator in 2010, while the proportion of initial appeals with addiction syndrome in 2020 was 9 %, which is higher than the same indicator in 2010.

Initial contact among adolescents with harmful use (harmful consequences) of drugs

The primary appeal of adolescents with harmful drug use in Russia and Moscow had the following features. On fig. 7 indicates that in 2010 the rate in Russia and Moscow was approximately the same, 65.2 and 66.5 adolescents per 100,000 adolescents, respectively. In 2014, both in Russia and in Moscow, there was an increase in primary appeals, in Moscow this trend was more pronounced. From 2015 to 2018 both on average in Russia and in Moscow, there was a downward trend in the indicator, however, since 2018, a second increase in initial referrals was registered in Moscow, which exceeded the initial referral rate in Russia.

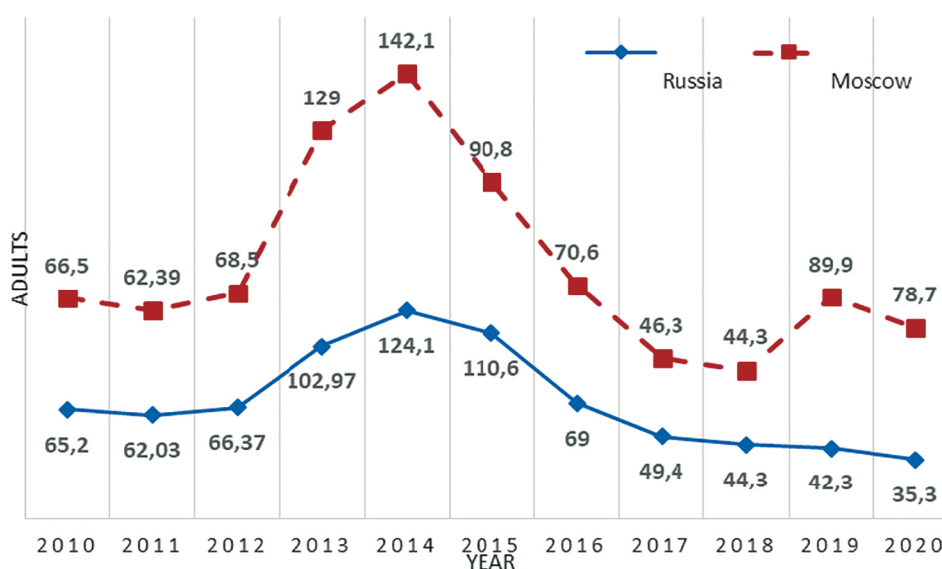


Fig. 7. First admission rates for adolescents aged 15–17 battling health detrimental (harmful effect included) drug abuse across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 (per 100k adolescent population)

In table it's indicated that the analysis of the primary referral rate among adolescents with harmful drug use for 2010–2020 in Russia showed a decrease by 46 % (respectively, from 65.5 in 2010 to 35.3 in 2020 adolescents per 100 thousand adolescents). In Moscow, an increase in the studied indicator by 18 % was observed (respectively, from 66.5 in 2010 to 78.7 in 2020 adolescents per 100 thousand adolescents).

Primary visits among adolescents with drug dependence syndrome

Dynamics of the primary referral rate with drug dependence syndrome for the period 2010–2020 in Russia and Moscow was very unstable in its development. It is indicated in table that the studied indicator in Russia showed a decrease by 63 % (from 7.2 in 2010 to 2.7 in 2020 adolescents per 100 thousand

adolescents), while in Moscow during the study period there was an increase in this indicator by 83 % (from 4.2 in 2010 to 7.8 in 2020 adolescents per 100 thousand adolescents).

On fig. 8 indicates that in 2010 the primary referrals with drug dependence syndrome among adolescents on average in Russia was higher than in Moscow, then in 2013 this indicator in Moscow exceeded the data for Russia. Further from 2014 to 2017 the rate of initial referral with drug dependence syndrome in Moscow was lower than in Russia, however, since 2018, the rate in Moscow has been growing and has become higher than the average for Russia. In Russia, since 2016, there has been a trend towards a decrease in primary referral among adolescents with drug dependence syndrome.

Mental and behavioral disorders caused by use of non-narcotic psychoactive substances

Figure 9 shows that in 2010, the proportion of initial visits among adolescents with disorders caused

by the use of non-narcotic substances, out of the total amount of initial visits with narcological disorders (total) in Russia, was 5.5 %. It is indicated that the proportion of visits with the syndrome of dependence on non-narcotic PAS (substance abuse) of the total number of visits caused by the use of non-narcotic PAS was 13.5 %. On fig. 9 indicates that in Moscow in 2010 the share of initial applications was 1.5 %, while in table 1 indicated that among adolescents there was not a single treatment with a syndrome of dependence on non-narcotic PAS (substance abuse). In 2020, in Russia, the share of applications was 6.3 % and the share of applications with addiction syndrome was 7.5 %, in Moscow, respectively, the total share of applications with disorders caused by the use of non-narcotic substances was 5.7 %, while, as in 2010 There has not been a single case of primary treatment with the syndrome of dependence on non-narcotic psychoactive substances (substance abuse).



Fig. 8. Primary incidence among young adults aged 15–17 suffering from drug dependence syndrome across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 (per 100k adolescent population)

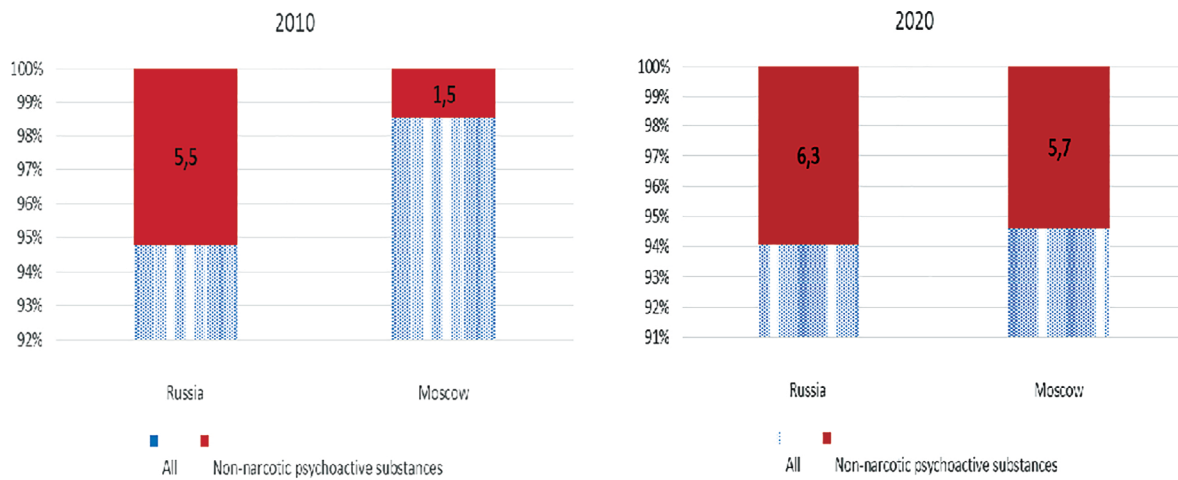


Fig. 9. Cases of first admission to treatment of young adults aged 15–17 struggling with non-narcotic psychoactive substances abuse disorder, as compared to all other drug dependence disorders across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 in percent

Initial contact among adolescents with harmful use (harmful effects) of non-narcotic psychoactive substances

In table 1 it is indicated that the rate of primary contact with harmful use (with harmful consequences) of non-narcotic psychoactive substances among adolescents in Russia showed a decrease by 74 % (respectively, from 43.5 in 2010 to 11.1 in 2020, adolescents per 100,000 adolescents). On fig. 10 indicates that in Moscow the downward trend was less pronounced and amounted to 44 % (respectively, from 20.4 in 2010 to 11.4 in 2020

adolescents per 100 thousand adolescents), while if at the beginning of the study period in Moscow, the indicator was below the average for Russia, then by 2020 it approached the all-Russian. It is also worth noting that in Russia, the peak growth in primary referrals with the harmful use of non-narcotic psychoactive substances occurred in 2014 and amounted to 53.8 adolescents per 100,000. As for adolescents in Moscow, there was some increase in the indicator in 2012—2013 and also in 2020.

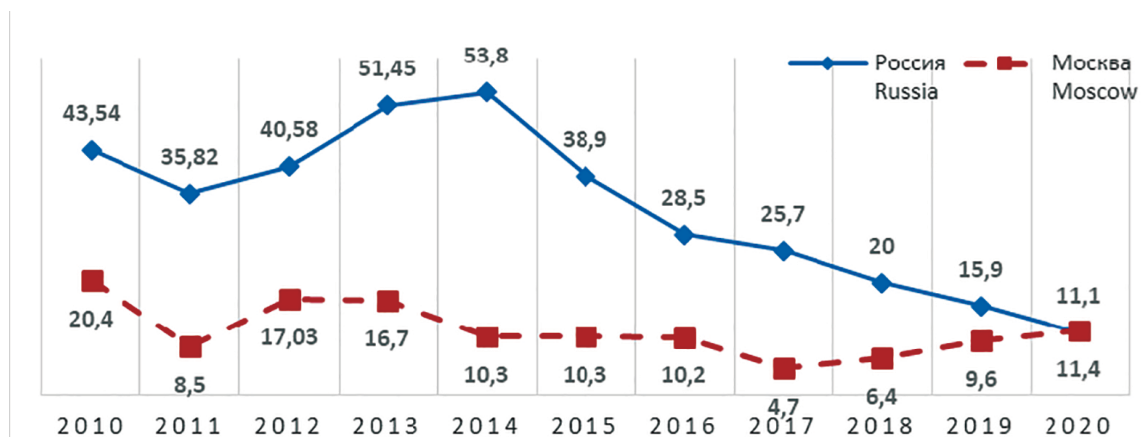


Fig. 10. First admission rates for adolescents aged 15–17 battling health detrimental (harmful effect included) non-narcotic psychoactive substances abuse across Russia and in Moscow for the years 2010–2020 (per 100k adolescent population)

Primary visits among adolescents with non-narcotic substance dependence syndrome (substance abuse)

The table shows that in Russia, the rate of initial visits among adolescents with dependence syndrome on non-narcotic psychoactive substances for 2010—2020 showed a steady downward trend of 87 % (respectively from 6.81 in 2010 to 0.9 in 2020 adolescents per 100 thousand adolescents). On fig. 11 indicates that in Moscow the studied indicator in both 2010 and 2020 was equal to 0, only in 2012—2013 there was a slight increase in turnover.

Government measures aimed at reducing the prevalence of narcological disorders among the population have had positive results, which was reflected in a decrease in the rate of initial treatment with narcological disorders (total) among adolescents in both Russia and Moscow.

According to the results of the Anti-Alcohol Concept 2010—2020 in Russia and Moscow, there was a steady downward trend in this type of drug addiction among adolescents.

Despite the global upward trend in the number of drug use disorders [11, 12], on average in Russia, there has been a decrease in the initial referral among adolescents with disorders caused by the use of narcotic

and non-narcotic substances, but the situation remains difficult.

Moscow, as a large metropolis and capital, has its own peculiarities in the development of the drug situation. So, despite the situation with disorders caused by the use of non-narcotic drugs (other toxic substances) similar to the all-Russian situation, there was an increase in primary indicators among adolescents with disorders caused by drug use. The trend towards an increase in the proportion of adolescents with mental and behavioral disorders caused by drug use may be due to a change in both the drug market situation (the emergence of new types of drugs), this trend coincides with the global and active state policy in the field of prevention of addictive behavior from psychoactive substances, including measures for the early detection of illegal use of narcotic drugs and psychotropic substances among students in accordance with the Order of the Ministry of Health 581-n [13], which could contribute to the identification of illegal use of psychoactive substances among adolescents.

The results of the study showed the importance and necessity of continuing the epidemiological study of the narcological situation among adolescents, as well as assessing the effectiveness of preventive measures aimed at reducing the prevalence of mental and behavioral disorders caused by substance use among adolescents.

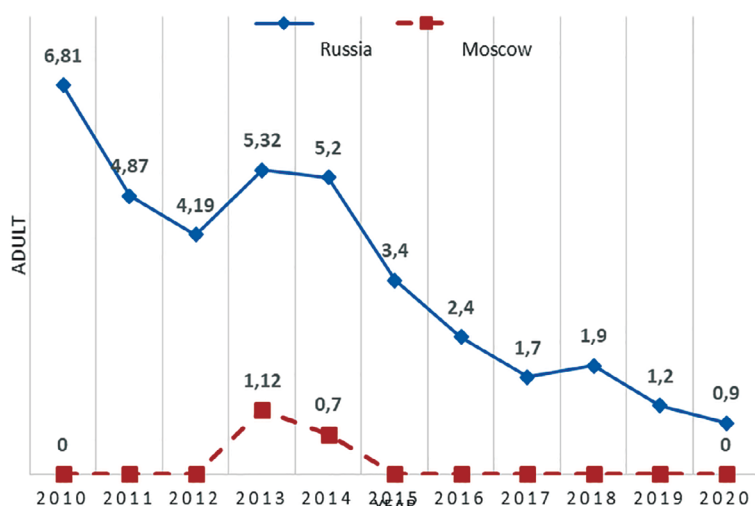


Fig. 11. Primary incidence among young adults aged 15–17 suffering from non-narcotic psychoactive substances dependence syndrome (inhalant abuse) across Russia and in Moscow for the years 2010—20s (per 100k adolescent population)

Conclusions

In Russia and Moscow, there was a steady downward trend in the overall rate of initial contact among adolescents with substance abuse disorders (total). In Moscow and Russia, both in 2010 and 2020, the largest proportion of appeals among adolescents was diagnosed with «harmful use (with harmful consequences)», only in Moscow during the study period there was a slight increase in the proportion of appeals of adolescents with addiction syndrome.

The largest numbers of visits were caused by alcohol consumption, with the majority of cases diagnosed as harmful use (with harmful consequences) of alcohol on average in Russia and Moscow in 2010. However, in 2020, both on averages in Russia and in Moscow, there were a decrease in the proportion of requests for mental and behavioral disorders caused by alcohol use, in Moscow this trend was more pronounced.

For the period 2010—2020 in Russia and Moscow, the proportion of adolescents with mental and behavioral disorders caused by drug use increased; in Moscow, this trend was more pronounced.

The trend of treatment with drug dependence syndrome among adolescents has its own characteristics. So in Russia, the studied indicator for the period 2010—2020 showed a decline, while from 2012 to 2015 in the country there was an increase in initial applications, followed by a decline. In Moscow, the trend of applications has a more complex structure: in 2012, 2015, 2018, there was an increase in initial applications, and for the period 2010—2020 indicator showed an increase.

The indicator of primary contact with the harmful use of drugs (with harmful consequences) among adolescents in 2010 in Russia and Moscow was almost at the same level, however, by 2020 in Russia, the indicator under study showed a decrease, and in Moscow the increase became higher than in average for the country.

Both in Russia and in Moscow for 2010—2020 there was a slight increase in the proportion of adolescents with mental and behavioral disorders caused by the use of non-narcotic psychoactive substances, in Moscow this trend was more pronounced. At the same

time, during the study period in Russia, there was a steady trend towards a decrease in applications for the syndrome of dependence on non-narcotic psychoactive substances (substance abuse), in Moscow in 2010 and 2020 no new cases were reported among adolescents with substance abuse. At the same time, in Russia and Moscow, there was a decrease in cases of harmful use (with harmful consequences) of non-narcotic PAS, and if in 2010 this indicator in Russia was higher than in Moscow, then by 2020 it was practically on the same level with Moscow.

References

1. Slobodskaya ER. Psikhicheskoe zdorov'e detei i podrostkov: rasprostranennost' otklonenii i faktory riska i zashchity. *Voprosy psikhicheskogo zdorov'ya detei i podrostkov*. 2008;8(2):8—21 (in Russian).
2. Jane-Llopis EVA, Matytsina I. Mental health and alcohol, drugs and tobacco: a review of the comorbidity between mental disorders and the use of alcohol, tobacco and illicit drugs. *Drug and alcohol review*. 2006;25(6):515—536.
3. Di Forti M, Sallis H, Allegrì F, Trotta A, Ferraro L, Stilo SA, Marconi A, La Cascia C, Reis Marques T, Pariante C, Dazzan P, Mondelli V, Paparelli A, Kolliakou A, Prata D, Gaughran F, David AS, Morgan C, Stahl D, Khondoker M, MacCabe JH, Murray RM. Daily use, especially of high-potency cannabis, drives the earlier onset of psychosis in cannabis users. *Schizophrenia bulletin*. 2014;40(6):1509—1517.
4. Oluwabusi OO, Lobach L, Akhtar U, Youngman B, Ambrosini PJ. Synthetic cannabinoid-induced psychosis: two adolescent cases. *Journal of child and adolescent psychopharmacology*. 2012;22(5):393—395.
5. Kardangusheva AM, Ehl'garova LV, Ehl'garov AA. Rasprostranennost' i mnogoletnie trendy faktorov riska neinfektsionnykh zabolevanii u shkol'nikov 10—17 let. *Profilakticheskaya meditsina*. 2013;16(6):55—60 (in Russian).
6. The United Nations. *The Sustainable Development Goals*. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/health/> (accessed 14.07.2022)
7. Prezident Rossii. *Ukaz ob utverzhenii Strategii gosudarstvennoi antinarkoticheskoi politiki Rossiiskoi Federatsii na period do 2030 goda*. <http://www.kremlin.ru/acts/news/64480> (accessed 14.07.2022) (in Russian).
8. Klimenko TV, Kozlov AA. Global preventive space as a mechanism for preventing non-medical use of psychoactive substances and creating a healthy lifestyle. *Voprosy narkologii*. 2021;(3):7—18. (in Russian). DOI:10.47877/0234-0623_2021_03_7
9. Pravitel'stvo Rossii. Rasporyazhenie Pravitel'stva Rossiiskoi Federatsii ot 30.12.2009 g. № 2128-r. <http://government.ru/docs/all/71034/> (accessed 14.07.2022) (in Russian).
10. Pravitel'stvo Rossii. Ukaz Prezidenta Rossiiskoi Federatsii ot 09.06.2010 g. № 690. <http://government.ru/docs/all/72736/> (accessed 14.07.2022) (in Russian).

Библиографический список

1. Слободская Е.Р. Психическое здоровье детей и подростков: распространенность отклонений и факторы риска и защиты // Вопросы психического здоровья детей и подростков. 2008. Т. 8. № 2. С. 8—21.

2. Jane-Llopis E.V.A., Matysina I. Mental health and alcohol, drugs and tobacco: a review of the comorbidity between mental disorders and the use of alcohol, tobacco and illicit drugs // Drug and alcohol review. 2006. Т. 25. № 6. P. 515—536.

3. Di Forti M., Sallis H., Allegri F., Trotta A., Ferraro L., Stilo S.A., Marconi A., La Cascia C., Reis Marques T., Pariante C., Dazzan P., Mondelli V., Paparelli A., Kolliakou A., Prata D., Gaughran F., David A.S., Morgan C., Stahl D., Khondoker M., MacCabe J.H., Murray R.M. Daily use, especially of high-potency cannabis, drives the earlier onset of psychosis in cannabis users // Schizophrenia bulletin. 2014. Т. 40. № 6. P. 1509—1517.

4. Oluwabusi O.O., Lobach L., Akhtar U., Youngman B., Ambrosini P.J. Synthetic cannabinoid-induced psychosis: two adolescent cases. Journal of child and adolescent psychopharmacology. 2012. Т. 22. № 5. P. 393—395.

5. Кардангушева А.М., Эльгарова Л.В., Эльгаров А.А. Распространенность и многолетние тренды факторов риска неинфекци-

онных заболеваний у школьников 10—17 лет // Профилактическая медицина. 2013. Т. 16. № 6. С. 55—60.

6. The United Nations. The Sustainable Development Goals. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/health/> (дата обращения 14.07.2022)

7. Утверждена Стратегия государственной антинаркотической политики России до 2030 года // Президент России URL: <http://www.kremlin.ru/acts/news/64480> (дата обращения 14.07.2022).

8. Клименко Т.В., Козлов А.А. Глобальное профилактическое пространство как механизм профилактики немедицинского потребления психоактивных веществ и формирования здорового образа жизни // Вопросы наркологии. 2021. № 3. С. 7—18. DOI:10.47877/0234-0623_2021_03_7

9. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 30.12.2009 г. № 2128-р // Правительство России URL: <http://government.ru/docs/all/71034/> (дата обращения 14.07.2022).

10. Указ Президента Российской Федерации от 09.06.2010 г. № 690 // Правительство России URL: <http://government.ru/docs/all/72736/> (дата обращения 14.07.2022).

Анализ наркологической ситуации среди подростков Москвы и России за 2010—2020 годы

А.Ю. Абрамов¹ , Е.А. Кошкина² , Д.И. Кича¹ , А.О. Алексеенко²  

¹Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

²Московский научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Российская Федерация
✉ antonalekseenko88@gmail.com

Аннотация. Актуальность. Статистическое исследование наркозависимости среди молодежи за 2010—2020 годы необходимо с целью разработки рекомендаций по лечению наркомании. Цель исследования состояла в том, чтобы проанализировать тенденции расстройств зависимости от психоактивных веществ среди подростков. Цель исследования. Анализ наркологической ситуации среди подростков за 2010—2020 гг. на основе статистических данных, для разработки рекомендаций по организации наркологической помощи. Материалы и методы. Исследование основано на данных государственной статистики: форма федерального статистического наблюдения № 11 «Сведения о заболеваемости наркологическими расстройствами», форма федерального статистического наблюдения № 37 «Сведения о пациентах, больных алкоголизмом, наркоманиями, токсикоманиями», содержащие сведения по первичной обращаемости за наркологической помощью среди подростков 15—17 лет в государственные медицинские учреждения России и Москвы. Период наблюдения 2010—2020 гг. Были проанализированы показатели общей распространенности всех видов наркологических расстройств согласно МКБ-10 — синдром зависимости и пагубное употребление — зарегистрированные впервые, а также по диагностическим группам. Сбор, создание базы данных и анализ был произведен с помощью программы Microsoft Office Excel 2016. Результаты и обсуждение. Определено, что для подростков наиболее характерна первичная обращаемость за наркологической помощью с диагнозом «пагубное употребление (с негативными последствиями)». В России и Москве за 2010—2020 гг. наблюдалось устойчивое снижение первичной обращаемости за наркологической помощью, что в первую очередь было обусловлено снижением наркологических расстройств, вызванных употреблением

алкоголя. При этом доля первичных обращений с наркологическими расстройствами, вызванными употреблением алкоголя, остается преобладающей. Как в России, так и в Москве среди подростков наблюдалась тенденция снижения расстройств, вызванных употреблением ненаркотических психоактивных веществ. Вместе с тем тенденция расстройств, вызванных употреблением наркотических средств в России, имела тенденцию на снижение, когда как в Москве показатели продемонстрировали прирост. **Выводы.** Совокупность государственных мер, направленных на борьбу с распространением наркологических расстройств среди подростков в России и Москве, имеет положительные результаты. При этом ситуация с распространенностью психических и поведенческих расстройств, вызванных употреблением наркотических средств среди подростков, остается трудной, в Москве такое положение выражено сильнее. Данная тенденция совпадает с общемировой.

Ключевые слова: аналитика, подростки, наркотики, психоактивные вещества, психические и поведенческие расстройства, зависимость

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов: Абрамов А.Ю. — концепция и дизайн исследования; Кошкина Е.А. — дизайн исследования, обзор литературы; Кича Д.И. — концепция исследования, обработка данных Алексеенко А.О. — статистическая обработка данных, написание текста. 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 — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 23.07.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Abramov A. Yu., Koshkina E.A., Kicha D.I., Alekseyenko A.O. Drug dependence analysis in young adults living in Moscow and across Russia for the years 2010—2020 // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 304—315. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-304-315

Corresponding author: Anton Olegovich Alekseyenko — doctor psychiatrist-narcologist in Moscow Research and Practical Center on Addictions, 109390, Lublinskaya str., 37/1, Moscow, Russian Federation. E-mail: Antonalekseenko88@gmail.com

Abramov A.Y. ORCID 0000-0001-7178-1260

Koshkina E.A. ORCID 0000-0001-7694-8533

Kicha D.I. ORCID 0000-0001-6529-372X

Alekseyenko A.O. ORCID 0000-0003-1663-617X

Ответственный за переписку: Антон Олегович Алексеенко — врач психиатр-нарколог в Московском научно-практическом центре наркологии Департамента здравоохранения города Москвы, Российская Федерация, 109390, Москва, ул. Люблинская, д. 37/1. E-mail: Antonalekseenko88@gmail.com

1. Абрамов А.Ю. SPIN-код 1235-6273; ORCID 0000-0001-7178-1260

2. Кошкина Е.А. SPIN-код 5950-5442; ORCID 0000-0001-7694-8533









3. Кича Д.И. SPIN-код 5622-0128; ORCID 0000-0001-6529-372X

4. Алексеенко А.О. SPIN-код 8926-4318; ORCID 0000-0003-1663-617X

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-316-324

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Development and application experience of the clinical and organizational management algorithm for tuberculosis medical care at the regional level

Andrey A. Kostin¹ , Aleksey Yu. Abramov¹ , Andrey I. Tsvetkov² , Dmitry I. Kicha¹  ,
Oleg V. Rukodaynyy¹ , Roman S. Goloshchapov-Aksenov¹  

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

²Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Yekaterinburg, Russian Federation

 Kicha_di@pfur.ru,  goloshchapov_rs@pfur.ru

Abstract. Relevance. The high incidence, prevalence and mortality in tuberculosis determines the relevance of improving clinical and organizational processes in terms of algorithmization. *The aim* of the study was to develop and evaluate the effectiveness of the clinical and organizational management algorithm for tuberculosis medical care at the regional level. *Materials and Methods.* The object of the study (2007—2021) were the tuberculosis medical care system of the Sverdlovsk region, Russian Federation. The scientific and methodological bases were Department of Health Organization, Drug Supply, Medical Technologies and Hygiene of the Peoples' Friendship University of Russia topic SRW № 214791-3-000. The development of the algorithm was carried out on the basis of a scientifically proven universal clinical management system. The epidemiological tuberculosis author data and of Rosstat in the Sverdlovsk region for 2007—2020 were used — general and structural morbidity, prevalence, mortality, as well as the number of 3, 4 and 6 groups of dispensary registration of patients. The efficiency of the algorithm was evaluated by the dynamics of the complex of epidemiological indicators of tuberculosis. Research methods were applied: content analysis, analytical, statistical, comparative, expert. Significance was assessed using the t-White test. Differences in the compared parameters were considered significant at $p < 0.05$. *Results and Discussion.* The effectiveness of the developed algorithm for managing regional tuberculosis medical care, including the components of needs analysis, systematization, automation and telecommunications, interdisciplinary integration, resource provision and performance evaluation, was confirmed by a significant decrease in the Sverdlovsk region for the period 2007—2020 general incidence by 2.05 times (from 119.9 to 51.7 per 100 thousand of the population), the incidence of children 0—14 years old by 1.48 times (from 18.7 to 12.6 per 100 thousand children of the corresponding age), prevalence in the population by 1.8 times (from 258.6 to 143 per 100 thousand of the population) and mortality from tuberculosis by 2.675 times (from 21.4 to 8.02 per 100 thousand of the population) ($p < 0.001$). The COVID-19 pandemic (2020—2021) did not worsen the epidemiological situation for tuberculosis in the region. In 2020, an active form of tuberculosis was detected in 2201 people, which is 16 % less than in 2019 ($p < 0.05$). The prevalence of epidemiologically dangerous bacillary forms of the disease for the period 2019—2020 decreased by 15.4 %, from 73.2 to 61.9 per 100 thousand population ($p < 0.05$). *Conclusion.* Clinical and organizational management of tuberculosis medical care based

© Kostin A.A., Abramov A.Yu., Tsvetkov A.I., Kicha D.I., Rukodaynyy O.V., Goloshchapov-Aksenov R.S., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

on the algorithmization of scientifically evidence processes increases the effectiveness of therapeutic and preventive measures and the social and epidemiological well-being of the population.

Key words: tuberculosis; algorithm; morbidity, mortality, prevalence, clinical and organizational management

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

Author contributions. Kostin A.A., Kicha D.I., Abramov A. Yu., Rukodainy O.V., Tsvetkov A.I.—concept and design of the study; Goloshchapov-Aksenov R.S., Tsvetkov A.I.—collection and processing of the material, Kicha D.I., Tsvetkov A.I.—writing the text; Kicha D.I., Tsvetkov A.I.; Goloshchapov-Aksenov R.S.—literature review and compiling a list of references; Kicha D.I., Tsvetkov A.I.; Goloshchapov-Aksenov R.S.—statistical evaluation of data; Kostin A.A., Kicha D.I., Abramov A. Yu., Rukodainy O.V., Tsvetkov A.I.—scientific editing. All authors have made significant contributions to the development concepts, research and manuscript preparation, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval—not applicable.

Acknowledgements—not applicable.

Consent for publication—not applicable.

Received 23.07.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Kostin AA, Abramov AYu, Tsvetkov AI, Kicha DI, Rukodaynyy OV, Goloshchapov-Aksenov RS. Development and application experience of the clinical and organizational management algorithm for tuberculosis medical care at the regional level. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):316—324. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-316-324

Introduction

Management of the incidence and prevalence of infectious diseases, including socially important tuberculosis, HIV infection and COVID-19, is an actuality public health problem in all countries of the world [1—6].

The high prevalence of HIV-associated forms of tuberculosis, the disability of children and the working-age population caused by tuberculosis infection, the high frequency of acute and antibiotic-resistant forms of the disease determine the relevance of improving anti-tuberculosis care as a strategy to combat global socially dangerous phenomena [5, 6].

Management of tuberculosis medical care in a «manual» mode, through an exclusively analysis of epidemiological coefficients and mathematical modeling of tuberculosis measures, is not an effective process. Most of the developed algorithms for managing the epidemiological coefficients of tuberculosis are of

an analytical nature and are not always effective in practice [7, 8].

Scientifically and practically proven effective resource technologies, including tuberculosis vaccination, laboratory and radiation diagnostics, and treatment of latent forms of tuberculosis, which allow managing epidemic trends, are used at the regional level with varying degrees of effectiveness [1, 7—11].

Despite the positive dynamics of the decrease in the overall incidence, prevalence and mortality associated with tuberculosis infection in the Russian Federation, the incidence of tuberculosis in the children's population and men of all age groups by 2013 exceeded similar indicators of European countries by 5 times or more [3—6].

The Sverdlovsk region is a subject of the Russian Federation characterized by high rates of incidence and prevalence of tuberculosis, exceeding the national average by 1.3—1.5 times. The tense epidemiological situation with respect to tuberculosis in the Sverdlovsk

region is due to a number of factors, including high rates of HIV infection for the period of December 2012 prevalence — 1347.5 cases per 100,000 population, morbidity — 136.4 cases per 100,000 population, the presence in the region of a significant number of institutions of the Main Directorate of the Federal Penitentiary Service, the social, economic and geographical characteristics of the region in the national economic positioning and health care in general [13].

In the context of the observed epidemiological tension caused by tuberculosis infection, not all risk factors can be eliminated or their influence weakened.

Management of clinical and organizational processes based on algorithms has been scientifically proven in various diseases. The effectiveness of the developed clinical and organizational systems is widely presented in the available scientific literature [8, 9, 13].

Strategically effective is the systematic management of tuberculosis medical care based on the processes of algorithmization and automation, primarily tuberculosis dispensaries, a process-oriented approach and efficient use of resource opportunities available to regional healthcare [1, 7, 10, 11].

The aim of this study was to develop a clinical and organizational management algorithm of the regional tuberculosis medical care and analyze and evaluate its effectiveness in terms of a set of evidence-based epidemiological monitoring coefficients.

Materials and methods

The object of a comprehensive milestone study conducted in 2007—2021 was the system of tuberculosis medical care in the Sverdlovsk region. The base and scientific and methodological support was carried out by the Department of Health Organization, Drug Supply, Medical Technologies and Hygiene of the Peoples' Friendship University of Russia in accordance with the Research topic No. 214791-3-000. The development of the algorithm was carried out on the basis of a scientifically proven universal clinical management system [9]. Epidemiological data on tuberculosis of Rosstat in the Sverdlovsk region for 2007—2020 were used. The regional indicators of general and

structural morbidity and prevalence of tuberculosis, mortality, as well as the number of groups 3, 4 and 6 of dispensary registration of patients with tuberculosis were studied. The analysis and evaluation of the clinical and organizational effectiveness of the algorithm was carried out according to the dynamics of the complex of epidemiological indicators of tuberculosis. Research methods were applied: content analysis, analytical, statistical, comparative, expert. Statistical processing of the material was carried out on the basis of the Statistica 6.0 package. Significance was assessed using the t-White test. Differences in the compared parameters were considered significant at $p < 0.05$.

Results and discussion

The study found high incidence, prevalence and mortality rates due to tuberculosis in the Sverdlovsk region, 1.3—1.8 times higher than the average for the Russian Federation for the period 2008—2012. The region during the study period is characterized by an increase in the incidence of children aged 7—14 years to 46.2 per 100 thousand of the population, a high proportion of newly diagnosed tuberculosis patients in the age group of 25—44 years, including those with lung tissue decay of more than 36 %, and high numbers of multidrug resistant infections.

To develop an algorithm for clinical and organizational management in tuberculosis at the regional level, a model of clinical management at the level of the health care system was created, which is shown in Figure 1 (Fig. 1).

Clinical management of tuberculosis at the level of the health care system and medical organization is based on the processes of effective clinical practice and continuing medical education of specialists.

Tuberculosis medical organizations, including dispensaries, offices and departments, are structural and functional components of the model of clinical management of tuberculosis medical care, on the basis of which a database of epidemiological coefficients is created and monitoring indicators are introduced, and the medical, economic, clinical and analytical aspects of medical care are implemented.

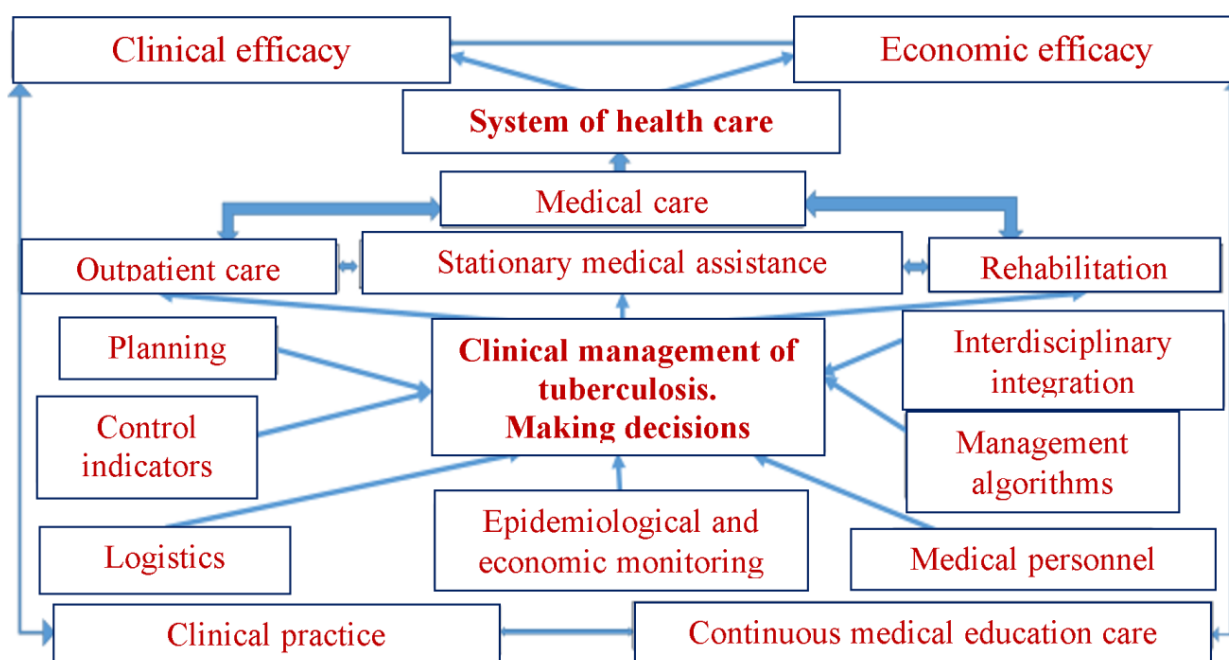


Fig 1. Clinical management model for tuberculosis medical care

Medical and economic planning, development of patient routing, interdisciplinary integration, implementation of indicators for monitoring and evaluating the effectiveness of tuberculosis medical organizations, continuous epidemiological and economic analysis of the effectiveness of tuberculosis activities and integrated personnel improvement are established as integral processes of the clinical management model for tuberculosis at the level of a medical organization.

The role of medical personnel is strategically important for solving the problems of clinical management of a complete and objective continuous formation of a base of the tuberculosis epidemiological coefficients for evidence-based clinical and economic monitoring of the effectiveness of tuberculosis medical organizations at the stage of primary health care, including outpatient care and rehabilitation and inpatient care.

Based on the universal model of clinical management, an algorithm for managing regional tuberculosis medical care has been developed as a system for integrating evidence-based and proven best clinical and organizational processes, including components of analysis, systematization, automation

and telecommunications, interdisciplinary integration, resource provision and performance evaluation. The Clinical and organizational management algorithm of regional tuberculosis medical care is shown in Figure 2.

The effectiveness of the implementation of clinical and organizational algorithm for managing regional tuberculosis medical care is confirmed by the results of a significant decrease in the Sverdlovsk region for the period 2007—2020 the overall incidence of tuberculosis by 2.05 times (from 119.9 to 51.7 per 100 thousand of the population), the incidence of tuberculosis in children aged 0—14 by 1.48 times (from 18.7 to 12.6 per 100 thousand children of the corresponding age), prevalence of the disease in the population by 1.8 times (from 258.6 to 143 per 100 thousand population) and mortality from tuberculosis in the region by 2.675 times (from 21.4 to 8.02 per 100 thousand population), $p < 0.001$.

The COVID-19 pandemic (2020—2021) did not affect the deterioration of the epidemiological situation for tuberculosis in the region, and reasonably led to an increase in the number of performed lung examinations using computed tomography.

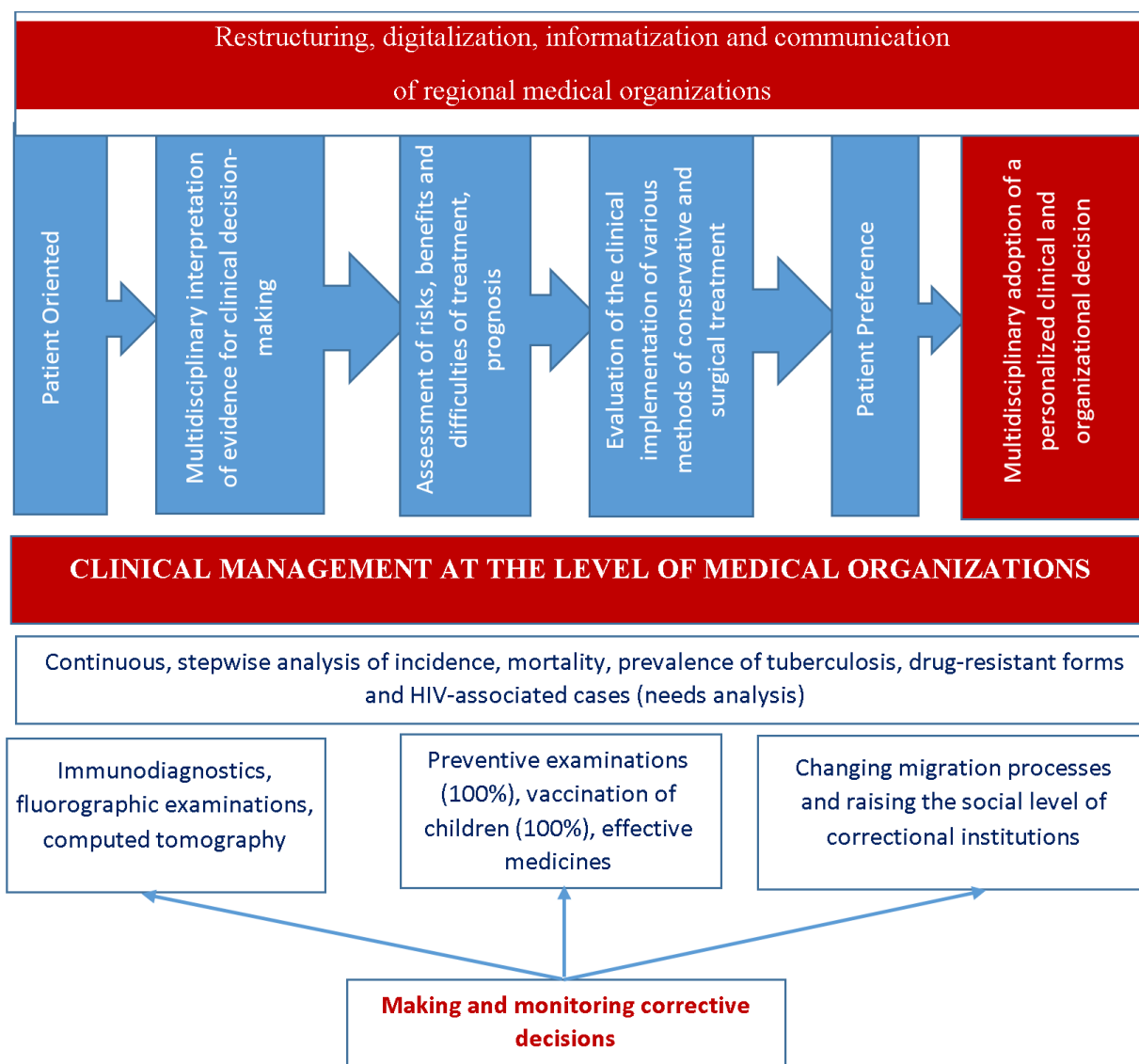


Fig 2. Clinical and organizational management algorithm of regional tuberculosis medical care

Mortality from tuberculosis in 2021 decreased to 7.2 per 100,000 population. In 2020, the active form of tuberculosis was detected in the population of the region in 2201 people, which is 16 % less than in 2019 ($p < 0.05$).

The prevalence of the most epidemically dangerous bacillary forms for the period 2019—2020 decreased by 15.4 %, from 73.2 to 61.9 per 100 thousand population ($p < 0.05$).

Among the positive epidemiological trends in tuberculosis in the Sverdlovsk region in 2020 after

the implementation of the algorithm, the following can be distinguished:

1. A downward trend in the overall incidence of tuberculosis. For the period 2019—2020 the overall incidence of tuberculosis in the region significantly decreased by 22.5 %, from 66.7 to 51.7 per 100,000 population ($p < 0.05$);

2. The downward trend in the incidence of children aged 0—14 years, which for the period 2019—2020 significantly decreased by 15.4 %, from 14.9 to 12.6 per 100 thousand children ($p < 0.05$);

3. The downward trend in the incidence of children aged 15—17 years, which for the period 2019—2020 significantly decreased by 20 %, from 19 to 15.2 per 100 thousand children ($p < 0.05$);

4. The downward trend in the prevalence of tuberculosis in the Sverdlovsk region, which for the period 2019—2020 significantly decreased by 16.3 %, from 170.8 to 143.0 cases per 100 thousand population ($p < 0.05$);

5. A downward trend in distribution prevalence of the most epidemically dangerous bacillary forms, which for the period 2019—2020 significantly decreased by 15.4 %, from 73.2 to 61.9 per 100 thousand population ($p < 0.05$);

6. A downward trend in the mortality of the population of the region from tuberculosis. For the period 2019—2020 tuberculosis mortality in the Sverdlovsk region decreased from 8.6 to 8.0 per 100,000 population.

The scientific and practical results of a comprehensive medical and social study, the introduction of which into the regional health care system of the Sverdlovsk region confirmed their scientific and practical significance for improving anti-tuberculosis care, made it possible to issue author's clinical and organizational inventions and protect patents for industrial designs, presented below:

1. Scheme of the study of patients with pulmonary tuberculosis dated April 16, 2014, № 87962;

2. Scheme of an integrated methodology in pulmonology and phthisiopulmonology dated February 16, 2014, № 87963;

3. Scheme of examination of patients for exercise therapy in pulmonology and phthisiopulmonology dated February 16, 2014, № 87964;

4. Scheme of the results of the study of patients with pulmonary tuberculosis in comparison between the main and control groups dated February 16, 2014, № 87965;

5. A set of pages of guidelines «Tactics of selecting a patient with drug-resistant tuberculosis for a course of second-line chemotherapy» dated December 27, 2016, № 101554;

6. A set of pages of the algorithm «Analysis of the activities of the tuberculosis dispensary based on the results of the quarter» dated December 27, 2016 № 101556;

7. «Algorithm of medical tactics in detecting tuberculosis of extra pulmonary localizations of their high-risk group» dated August 07, 2017, № 104472.

Conclusion

Clinical-organizational management using algorithms underlies the efficiency, safety and resource thrift of medical care processes. The choice of a strategy for clinical and organizational management in tuberculosis is a complex medical and economic task in the face of the difficulty of predicting the influence of numerous risk factors for the development, spread, progression and formation of drug resistance of tuberculosis infection. The algorithm for managing regional tuberculosis medical care is presented as a system for integrating evidence-based and proven clinical and organizational practices and processes, including components of needs analysis, systematization, automation and telecommunications, interdisciplinary integration, resource provision and performance evaluation, and as a result, making adequate management decisions. Analysis of the results of the development and implementation of an innovative clinical and organizational management algorithm for tuberculosis at the regional level testified to its effectiveness for a sustainable progressive reduction in the overall incidence, prevalence and mortality associated with tuberculosis.

References/ Библиографический список

1. Vasilyeva I, Belilovsky E, Borisov S, Sterlikov S. Incidence, mortality and prevalence as indicators of the burden of tuberculosis in WHO regions, countries of the world and in the Russian Federation. *Part 1. Incidence and prevalence of tuberculosis. Tuberculosis and lung diseases*. 2017;95(6):9—21. (In Russian) [Васильева И.А., Беллиловский Е.М., Борисов С.Е., Стерликов С.А. Заболеваемость, смертность и распространенность как показатели бремени туберкулеза в регионах ВОЗ, странах мира и в Российской Федерации. Часть 1. Заболеваемость и распространённость туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2017; 95(6): 9—21.].
2. Erokhin V. Tuberculosis in Russia. Socially significant diseases in the Russian Federation. *Under rel. L.A. Bokeria and I.N. Stupakov*. М.: NTSSSH им. А.Н. Бакулева РАМС. 2006:263—266 (In Russian). [Ерохин В.В. Туберкулез в России // Социально значимые болезни в Российской Федерации / Под ред. Л.А. Бокерия и И.Н. Ступакова. М.: НИЦСХ им. А.Н. Бакулева РАМН. 2006: 263—266.].

3. Naigovzina N, Filatov V, Erokhin V, Punga V. Tuberculosis in the Russian Federation. *Epidemiology and infectious diseases*. 2009;3:4—11 (In Russian). [Найговзина НБ, Филатов ВБ, Ерохин ВВ, Пунга ВВ. Туберкулез в Российской Федерации // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2009;(3):4—11.].

4. Krivonos O, Mikhailova L, Skachkova E, Kormacheva E, Son I, Sterlikov S, Perelman M, Bogorodskaya E, Frolova O, Shilova M, Popov S, Aksenova V, Borisov S, Punga V, Galkin V, Mushkin A, Baryshev S, Odintsov V, Safonova S, Belilovsky E, Danilova I, Pashkevich D, Yurasova E, Malakhov V, Shulgina M, Zaikin E. Mortality rate of patients with tuberculosis in the Russian Federation. Tuberculosis in the Russian Federation, 2009. An analytical review of the TB statistical indicators used in the Russian Federation. Moscow., 2011; 208p.

5. World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2019. 283p. WHO REFERENCE NUMBER: WHO/CDS/TB/2019.15 www.who.int/tb/publications/global_report/en/external icon.

6. World Health Organization. Systematic screening for active tuberculosis. principles and recommendations. World Health Organization Document; 2013. (WHO/HTM/TB/2013.04:1—133).

7. Khovanov A, Nechaev V, Krylov V, Vasiliev V, Skvortsov A. Object-relational approach in modeling the dispensary registration of patients with tuberculosis. Problems of tuberculosis and lung diseases. 2007;4:10—13. (In Russian) [Хованов А., Нечаев В., Крылов В., Васильев В., Скворцов А. Объектно-реляционный подход в моделировании диспансерного учета больных туберкулезом // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007;4:10—13.].

8. Shchepin O, Starodubov V, Lindenbraten A. *Methodological bases and mechanisms for ensuring the quality of medical care*. M.: Medicine, 2002. 146p. (In Russian) [Щепин О., Стародубов В., Линденбратен А. Методологические основы и механизмы обеспечения качества медицинской помощи. М.: Медицина, 2002. 146 с.].

9. Kicha D, Abramov A, Rukodaynyy O, Makaryan A, Goloshchapov-Aksenov R. Evidence-Based Health Systems Effectiveness. *Modern problems of public health and medical statistics*. 2019;5:87—88.

(In Russian) [Кича Д.И., Абрамов А.Ю., Рукодайный О.В., Макарян А.С., Голощчапов-Аксенов Р.С. Доказательные основы эффективности систем здравоохранения // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2019; 5: 87—88.].

10. Skachkova E, Matinyan N, Shestakov M, Kucheryavaya D, Vladimirov S. Assessment of the influence of social factors on the incidence of tuberculosis. Characteristics of the socio-professional composition of newly diagnosed patients with tuberculosis. *Problems of health care management*. 2009; 3(46): 34—39. (In Russia) [Скачкова Е.И., Матинян Н.С., Шестаков М.Г., Кучерявая Д.А., Владимиров С.К. Оценка влияния социальных факторов на заболеваемость туберкулезом. Характеристика социально-профессионального состава впервые выявленных больных туберкулезом // Проблемы управления здравоохранением. 2009; 3(46): 34—39.].

11. Skvortsov A, Maslennikov B, Vasiliev V, Khovanov A. Computer simulation in managing the epidemic situation of tuberculosis in the Russian region. *Bulletin of the Tver State Technical University*. Tver: TSTU. 2009; issue 14:63—68. (In Russian) [Скворцов А., Масленников Б., Васильев В., Хованов А. Компьютерное моделирование в управлении эпидемической ситуацией по туберкулезу в регионе России // Вестник Тверского государственного технического университета. Тверь: ТГТУ. 2009 г.; выпуск 14:63—68.].

12. Eitmont N, Tsvetkov A, Kozhekina N, Fomenko N, Boyarkina V, Senin A, Byzov N. The incidence of tuberculosis in the Sverdlovsk region. *Ural Medical Journal*. 2013;2(107):14—17. (In Russian) [Эйтмонт Н.В., Цветков А.И., Кожекина Н.В., Фоменко Н.В., Бояркина В.А., Сенин А.М., Бызов Н.С., Базите И.И. Заболеваемость туберкулезом в Свердловской области. Уральский медицинский журнал. 2013; 2(107): 14—17.].

13. Abramov A, Goloshchapov-Aksenov R, Kicha D, Rukodaynyy O. Organizational and technological algorithm of primary specialized health care at cardiovascular diseases. *Kazan medical journal*. 2020;101(3):394—402.

Опыт разработки и применения алгоритма клиничко-организационного управления при туберкулезе на региональном уровне

А.А. Костин¹ , А.Ю. Абрамов¹ , А.И. Цветков² , Д.И. Кича¹  

О.В. Рукодайный¹ , Р.С. Голощчапов-Аксенов¹  

¹Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

²Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Российская Федерация

*Kicha_di@pfur.ru goloshchapov_rs@pfur.ru

Аннотация. *Актуальность.* Высокая заболеваемость, распространенность и смертность при туберкулезе определяет актуальность совершенствования клиничко-организационных процессов управления методом алгоритмизации. Цель исследования — разработать, внедрить и оценить эффективность алгоритма клиничко-организационного управления

противотуберкулезной помощью на уровне региона. *Материалы и методы.* Объектом исследования (2007—2021 гг.) явилась система противотуберкулезной помощи Свердловской области, база и научно-методическое сопровождение осуществлялось кафедрой организации здравоохранения, лекарственного обеспечения, медицинских технологий и гигиены Российского университета дружбы народов в соответствии с темой НИР № 214791-3-000. Разработку алгоритма осуществляли на основании научно доказанной универсальной системы клинического управления. Использована авторская информация и данные по туберкулезу Росстата по Свердловской области 2007—2020 гг. — структура заболеваемости, распространенности, смертность, а также численность пациентов 3, 4 и 6 групп диспансерного учета. Оценка эффективности алгоритма проводили по динамике комплекса эпидемиологических показателей туберкулеза. Применены методы исследования: контент-анализ, аналитический, статистический, сравнительный, экспертный. Для оценки достоверности применялся критерий t-Уайта. Различия сравниваемых показателей считали достоверными при $p < 0,05$. *Результаты и обсуждение.* Эффективность разработанного алгоритма управления региональной противотуберкулезной помощью, включающего компоненты анализа потребности, систематизации, автоматизации и телекоммуникации, междисциплинарной интеграции, ресурсного обеспечения и оценки эффективности, подтверждена достоверным снижением в Свердловской области за период 2007—2020 гг. общей заболеваемости в 2,05 раза (с 119,9 до 51,7 на 100 тыс. населения), заболеваемости детей 0—14 лет в 1,48 раза (с 18,7 до 12,6 на 100 тыс. детей соответствующего возраста), распространенности в популяции в 1,8 раза (с 258,6 до 143 на 100 тыс. населения) и смертности от туберкулеза в 2,675 раза (с 21,4 до 8,02 на 100 тыс. населения) ($p < 0,001$). Пандемия COVID-19 (2020—2021 гг.) не ухудшила эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу в регионе. В 2020 г. активная форма туберкулеза выявлена у 2201 человек, что на 16 % меньше, чем в 2019 г. ($p < 0,05$). Распространенность эпидемиологически опасных бациллярных форм заболевания за период 2019—2020 гг. снизилась на 15,4 %, с 73,2 до 61,9 на 100 тысяч населения ($p < 0,05$). *Заключение.* Клинико-организационное управление противотуберкулезной помощью на основе научно-доказанных процессов алгоритмизации повышает результативность лечебно-профилактических мероприятий и социально-эпидемиологическое благополучие населения.

Ключевые слова: туберкулез, алгоритм, заболеваемость, смертность, распространенность, клинико-организационное управление

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования — Костин А.А., Кича Д.И., Абрамов А.Ю., Рукодачный О.В., Цветков А.И.; сбор и обработка материала — Голощапов-Аксенов Р.С., Цветков А.И., написание текста — Кича Д.И., Цветков А.И.; обзор литературы и составление списка литературы — Кича Д.И., Цветков А.И.; Голощапов-Аксенов Р.С. статистическая оценка данных — Кича Д.И., Цветков А.И.; Голощапов-Аксенов Р.С. научное редактирование — Костин А.А., Кича Д.И., Абрамов А.Ю., Рукодачный О.В., Цветков А.И. 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 — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 23.07.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: Kostin A.A., Abramov A. Yu., Tsvetkov A.I., Kicha D.I., Rukodaynyy O.V., Goloshchapov-Aksenov R.S. Development and application experience of the clinical and organizational management algorithm for tuberculosis medical care at the regional level // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 316—324. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-316-324

Corresponding author: Kicha Dmitry Ivanovich—DSc, professor, Department of public health, health care, medical technology and hygiene, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, 117198, ul. Miklukho-Maklaya, 6, Moscow, Russian Federation. E-mail: Kicha_di@pfur.ru

Kostin A.A. ORCID 0000-0002-0792-6012
Abramov A. Yu. ORCID 0000-0001-7178-1260
Tsvetkov A.I. ORCID 0000-0002-8751-6872
Kicha D.I. ORCID 0000-0001-6529-372X
Rukodaynyy O.V. ORCID 0000-0001-9134-7189
Goloshchapov-Aksenov R.S. ORCID 0000-0003-3085-7729

Ответственный за переписку: Кича Дмитрий Иванович—доктор медицинских наук, профессор, кафедра общественного здоровья, здравоохранения и гигиены, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая 6. E-mail: Kicha_di@pfur.ru, goloshchapov_rs@pfur.ru

Костин А.А. SPIN-код 8073-0899; ORCID 0000-0002-0792-6012
Абрамов А.Ю. SPIN-код 1235-6273; ORCID 0000-0001-7178-1260
Цветков А.И. SPIN-код 7081-0400; ORCID 0000-0002-8751-6872
Кича Д.И. SPIN-код 5622-0128; ORCID 0000-0001-6529-372X
Рукодачный О.В. SPIN-код 4199-8328; ORCID 0000-0001-9134-7189
Голощяпов-Аксенов Р.С. SPIN-код 7768-7460; ORCID 0000-0003-3085-7729



АНАТОМИЯ. ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

ANATOMY. PATHOLOGICAL ANATOMY

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-325-337


ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Влияние микроокружения на развитие эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке легкого

Р.Б. Кондратюк¹  , И.С. Греков¹ , Е.А. Селезнёв² 

¹Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк, Донецкая народная республика

²Амвросиевская центральная районная больница, г. Амвросиевка, Донецкая народная республика

 rbkondrat@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) во многом определяет биологическое поведение и прогноз раков различных локализаций. Известно, что определяющее значение в контроле и реализации перехода эпителиального фенотипа в мезенхимальный принадлежит микроокружению. Вместе с тем остается не совсем понятным гистохимические и микроскопические характеристики стромальных элементов, поэтому целью нашего исследования было установление морфологических особенностей стромы, влияющих на развитие ЭМТ в раке легкого. *Материалы и методы.* Нами было исследовано 32 случая рака легкого с окраской срезов гематоксилином и эозином, альциановым синим при рН 1,0 и 2,5, PAS-реакцией, а также с иммуногистохимическим исследованием с моноклональными антителами к HMW, AE1/AE3, цитokerатину 18, c-erb B2, виментину E-кадгерину, альфа-гладкомышечному актину, GFAP и хромогранину A, Ki-67. В 16 случаях была распространенная эпителиально-мезенхимальная трансформация, в 14 случаях — очаговая и в 2 случаях ЭМТ отсутствовала. В половине случаев распространенной ЭМТ она была полной, среди случаев очаговой ЭМТ полная не встречалась. Переходу от эпителиального к мезенхимальному фенотипу способствовала активизация стромы, а именно: наличие миофибробластов и альцианофилия экстрацеллюлярного матрикса, воспалительная клеточная инфильтрация, экспрессия в клетках стромы рецептора к эпидермальному фактору роста (c-erb B2), пролиферация и нейрогенная дифференцировка клеток стромы. *Результаты и обсуждение.* Активизированная строма коррелирует с частотой ЭМТ. Так, более часто встречаются крупные участки активизированной стромы с наличием миофибробластов и альцианофилией экстрацеллюлярного матрикса в случаях

© Кондратюк Р.Б., Греков И.С., Селезнёв Е.А., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

распространенной ЭМТ (14 из 16—87,5 %), чем в случаях очаговой (4 из 14—28,6 %). Различия статистически достоверны, $p < 0,01$. Воспалительная клеточная инфильтрация, являющаяся источником сигнала для трансформации, экспрессия в клетках стромы рецептора к эпидермальному фактору роста (с-erb B 2), пролиферация, нейрогенная дифференцировка клеток стромы также коррелировали с частотой ЭМТ. Во всех случаях различия статистически достоверны, $p < 0,01$. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о несомненном влиянии сигналов из активированной стромы на развитие эпителиально-мезенхимальной трансформации опухолевых клеток.

Ключевые слова: рак легкого, эпителиально-мезенхимальная трансформация, микроокружение, строма, патологическая анатомия

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования—Р.Б. Кондратюк, И.С. Греков. Сбор и обработка материала—Р.Б. Кондратюк, И.С. Греков, Е.А. Селезнёв. Написание текста—И.С. Греков, Р.Б. Кондратюк. Редактирование—И.С. Греков, Р.Б. Кондратюк, Е.А. Селезнёв. 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—неприменимо.

Благодарности—неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), обработку персональных данных и согласие на публикацию.

Поступила 01.08.2022. Принята 07.09.2022.


Для цитирования: Кондратюк Р.Б., Греков И.С., Селезнёв Е.А. Влияние микроокружения на развитие эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке легкого // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 325—337. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-325-337

Microenvironment influence on the development of epithelial-mesenchymal transformation in lung cancer

Roman B. Kondratyuk¹  , Ilya S. Grekov¹ , Evgenii A. Seleznev² 

¹ M. Gorky Donetsk national medical University, Donetsk, Donetsk People Republic

² Amvrosievsky Central District Hospital, Amvrosievka, Donetsk People Republic

 rbkondrat@gmail.com

Abstract. Relevance. Epithelial-mesenchymal transformation (EMT) largely determines the biological behavior and prognosis of cancers of various localizations. It is known that the determining role in the control and implementation of the transition of the epithelial phenotype to the mesenchymal belongs to the microenvironment. At the same time, the histochemical and microscopic

characteristics of stromal elements remain unclear; therefore, the aim of our study was to establish the morphological features of the stroma that affect the development of EMT in lung cancer. *Materials and Methods*. We studied 32 cases of lung cancer with hematoxylin and eosin staining of sections, Alcian blue at pH 1.0 and 2.5, PAS reaction, as well as immunohistochemical studies with monoclonal antibodies to HMW, AE 1 / AE 3, cytokeratin 18, c-erb B2, vimentin E-cadherin, alpha-smooth muscle actin, GFAP and chromogranin A, Ki-67. In 16 cases, there was widespread epithelial-mesenchymal transformation (EMT), in 14 cases—focal and in 2 cases EMT was absent. In half of the cases of widespread EMT, it was complete; among the cases of focal EMT, it was not complete. The transition from the epithelial to the mesenchymal phenotype was facilitated by the activation of the stroma, namely, the presence of myofibroblasts and alcianophilia of the extracellular matrix, inflammatory cell infiltration, expression of the epidermal growth factor receptor (c-erb B2) in stromal cells, proliferation and neurogenic differentiation of stromal cells of stromal cells. *Results and Discussion*. The activated stroma correlates with the frequency of EMT. Thus, large areas of activated stroma with the presence of myofibroblasts and alcianophilia of the extracellular matrix are more common in cases of widespread EMT (14 out of 16—87.5 %) than in cases of focal EMT (4 out of 14—28.6 %). The differences are statistically significant, $p < 0.01$. Inflammatory cell infiltration, which is the source of a signal for transformation, expression of the epidermal growth factor receptor (c-erb B2) in stromal cells, proliferation, and neurogenic differentiation of stromal cells also correlated with the frequency of EMT. In all cases, the differences are statistically significant, $p < 0.01$. *Conclusions*. The data obtained indicate the undoubted influence of signals from the activated stroma on the development of epithelial-mesenchymal transformation of tumor cells.

Key words: lung cancer, epithelial-mesenchymal transformation, microenvironment, stroma, pathological anatomy

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

Author contributions. The concept and design of the study—R.B. Kondratyuk, I.S. Grekov. Collection and processing of material—R.B. Kondratyuk, I.S. Grekov, E.A. Seleznev. Writing the text—I.S. Grekov, R.B. Kondratyuk. Editing—I.S. Grekov, R.B. Kondratyuk, E.A. Seleznev.

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

Ethics approval—not applicable.

Acknowledgements—not applicable.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for the investigation and publication of relevant medical information according to WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013.

Received 01.08.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Kondratyuk RB, Grekov IS, Seleznev EA. Microenvironment influence on the development of epithelial-mesenchymal transformation in lung cancer. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):325—337. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-325-337

Введение

Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) представляет собой сложный молекулярно-детерминированный процесс перехода клеток эпителиального фенотипа в мезенхимальное состояние. Данный процесс является необходимым этапом нормального гисто- и органогенеза во время эмбрионального развития организма, а также лежит в основе многих патологических процессов, в осо-

бенности склеротических изменений и прогрессии опухолевого роста [1, 2]. Как правило, индукторами ЭМТ являются сигналы, поступающие в клетку из микроокружения, т.е. из стромы [3]. Так миофибробласты, клетки воспалительного инфильтрата, продуцируют цитокины, факторы роста, интерлейкины, активные формы кислорода, которые также являются индукторами ЭМТ. И, несмотря на то, что многие из индукторов идентифицированы

на генетическом уровне, остается неясным, какие морфологические особенности стромы опухоли влияют на развитие ЭМТ, а следовательно и на прогноз [3, 4].

К настоящему времени установлено, что для развития ЭМТ необходима так называемая «активизированная» строма, богатая клетками фибробластами и миофибробластами, с рыхло расположенными тонкими волокнами, базофилией экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Миофибробласты отличаются крупным светлым овальным ядром и наличием маркеров соединительной (виментина) и мышечной ткани (альфа-гладкомышечного актина и/или десмина) [5]. На установление морфологических особенностей стромы, влияющих на развитие ЭМТ в раке легкого, направлено данное исследование.

Материал и методы

Нами изучены 32 случая рака легкого с использованием иммуногистохимии во всех исследуемых случаях. У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), обработку персональных данных и согласие на публикацию. По морфологическим признакам это были 6 случаев плоскоклеточного рака, 8 случаев аденокарциномы, 8 случаев нейроэндокринных опухолей (6 случаев составляли карциноиды и 2 случая мелкоклеточного рака), а также 10 крупноклеточных опухолей (6 с выраженной и 4 со слабой и очаговой нейроэндокринной дифференцировкой).

При иммуногистохимическом исследовании использовали моноклональные антитела к высокомолекулярному цитокератину (HMW), панцитокератину AE1/AE3, цитокератину 18, который является прямой мишенью Snail, а также к рецептору эпидермального фактора роста c-erb B2, виментину, E-кадгерину, альфа-гладкомышечному актину, глиальному фибриллярному кислом протеину (GFAP) и хромогранину А (маркерам нейроэндокринной

дифференцировки), для оценки пролиферативной активности использовался маркер Ki-67 (mib-1).

Длину сосудистого русла опухоли определяли стереометрическим методом по Г.Г. Автандилову, подсчитывали число концов сосудов в срезе после иммуногистохимического мечения эндотелия сосудов с маркером CD34. Более 20 концов в поле зрения при увеличении 100х оценивали как большое количество сосудов. Качественный состав воспалительного и иммунноклеточного инфильтрата стромы оценивался с использованием маркеров к общелейкоцитарному антигену CD45, Т-лимфоцитам CD3, CD4, CD8, В-лимфоцитам CD20, макрофагам CD68.

Для изучения всех микропрепаратов был использован светооптический микроскопом Olympus BX-40 с цифровой фотокамерой Olympus U-TV1X на соответствующем программном обеспечении Olympus DP-Soft.

Статистический анализ полученных результатов проводился в программе Medstat с применением стандартных методов математической статистики. Статистические показатели отличаются от нормального (на уровне $p < 0,001$), поэтому при проведении дальнейшего статистического расчета применялись непараметрические критерии. Критерий Манна–Уитни использовали для сравнения двух независимых выборок.

Результаты и обсуждение

Ключевым морфологическим признаком ЭМТ служит обособление опухолевых клеток из-за частичной или полной утраты экспрессируемого E-кадгерина, приводящей к локальному нарушению клеточно-клеточной адгезии. В нашем материале этот признак присутствовал в мелкоклеточном раке с выраженной экспрессией хромогранина А, где также резко снижена, вплоть до полного отсутствия экспрессия мембранного E-кадгерина (Рис. 1). Вместе с тем в этом конкретном случае отсутствовали другие типичные признаки трансформации, а именно снижения активности пролиферации неопластических клеток (здесь в больше половины клеток обнаруживали экспрессию Ki-67 в ядрах) [6].

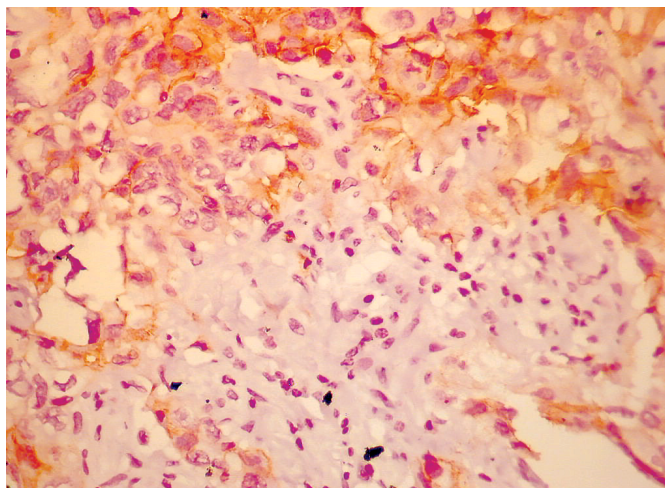


Рис. 1. Один из главных признаков развития ЭМТ — снижение экспрессии мембранного E-кадгерина (окраска антителами к E-кадгерину, x400)

Fig. 1. One of the main signs of the development of EMT is a decrease in the expression of membrane E-cadherin (staining with antibodies to E-cadherin, x400)

В остальных случаях новообразований легкого экспрессия E-кадгерина сохраняется в более крупных клеточных комплексах опухоли и/или является цитоплазматической с тенденцией к полному исчезновению в мелких клеточных группировках, которые инвазируют строму.

Обособление неопластических клеток часто сопровождается изменением их формы, приобретением ими фибробластоподобной формы с последующей

стромальной инвазией. Данный признак хорошо заметен уже при обычной окраске микропрепаратов гематоксилином и эозином.

Еще одним характерным признаком ЭМТ является потеря опухолевыми клетками специфических эпителиальных цитокератинов, в частности потеря маркера AE1/AE3 в тяжах эпителия, инвазирующих строму при сохранении его экспрессии в основном пласте клеток (Рис. 2).

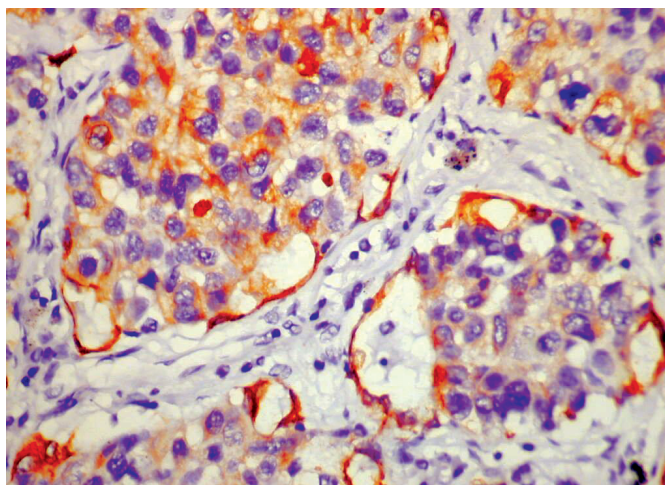


Рис. 2. Снижение экспрессии панцитокератина AE 1/AE 3 в опухолевых клетках (окраска антителами к панцитокератину AE 1/AE 3 x400)

Fig. 2. Reduced expression of pan-cytokeratin AE 1/AE 3 in tumor cells (staining with antibodies to pan-cytokeratin AE 1/AE 3 x400)

Нередко наблюдается и его цитоплазматическая экспрессия. В целом нарушение экспрессии цитокератинов иногда коррелирует с изменением самой морфологии клеток, а именно приобретением последними вытянутой, фибробластоподобной формы. Вместе с тем иногда экспрессия цитокератинов сохраняется и в резко вытянутых фибробластоподобных клетках с потерей таковой в неопластических клетках солидных или железистых структур.

Также наблюдается потеря и другого цитокератина (цитокератин 18), который служит мишенью фактора транскрипции Snail и реализует многие молекулярно-генетические пути ЭМТ, в том числе подавляет синтез E-кадгерина [3, 7]. В таком случае одновременно можно видеть и обособление клеток с приобретением ими вытянутой фибробластоподобной формы и снижение и/или полную потерю синтеза цитокератина 18.

Описанные выше признаки с изменением морфологии клеток являются достоверными критериями приобретения мезенхимального фенотипа. Если

при этом часть клеток экспрессирует виментин, то в таком случае следует говорить о полной мезенхимальной трансформации (полная ЭМТ). При неполной ЭМТ эпителиальные клетки теряют свои признаки и свойства, однако не экспрессируют каких-либо мезенхимальных маркеров (Рис. 3).

Необходимо также различать распространенную и очаговую ЭМТ. В первом случае процесс трансформации может занимать всю опухоль или имеет крупных локусов в пределах новообразования. Очаговая отличается тем, что имеются единичные, мелкие очаги чаще всего на границе опухолевых клеток и нормальной ткани.

В нашем исследовании распространенная ЭМТ обнаруживалась в 16 случаях, а в 14 случаях трансформация была очаговой и в 2 случаях типичного карциноида ЭМТ отсутствовала вовсе. В половине препаратов с распространенной ЭМТ трансформация была полной, однако среди препаратов с очаговой ЭМТ полная трансформация не наблюдалась.

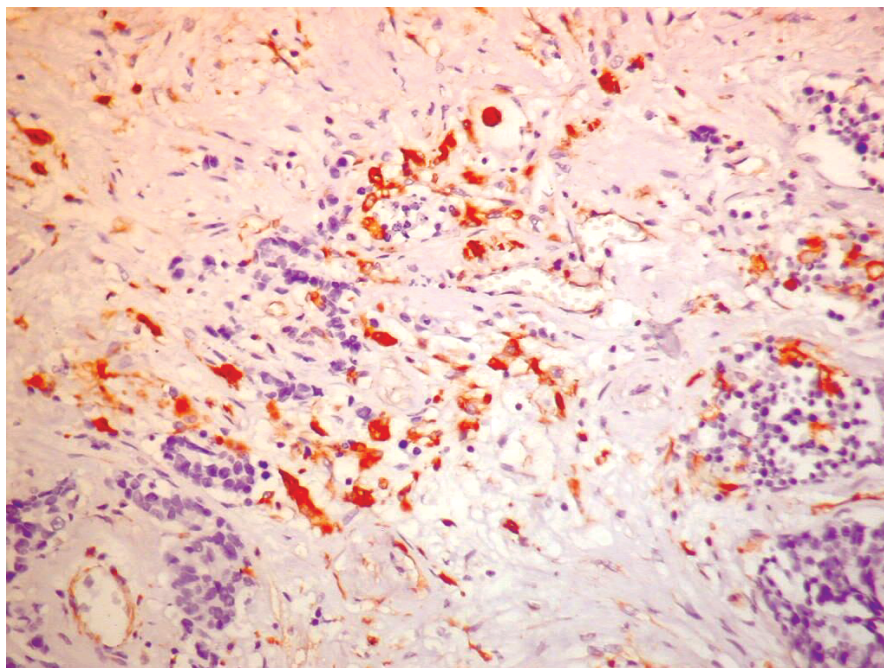


Рис. 3. Появление участков экспрессии виментина в опухолевых клетках, признак полной ЭМТ (окраска антителами к виментину, x200)

Fig. 3. Appearance of a site of vimentin expression in tumor cells, a sign of complete EMT (staining with antibodies to vimentin, x200)

Уже при окраске гематоксилином и эозином можно видеть в опухоли часто крупные очаги рыхлой волокнистой соединительной ткани с большим числом вытянутых крупных клеток с дисперсным хроматином в овальной формы ядрах, что характерно для миофибробластов. Это подтверждается при иммуногистохимическом исследовании с антителами к альфа-гладкомышечному актину, обнаруживающему разных размеров пучки, скопления миофибробластов (Рис. 4); очень редко, по одному случаю в каждой группе, обнаруживалась экспрессия десмина в единичных группах клеток. Миофибробласты являются главным стромальным компонентом и прогностическим маркером многих опухолей [8, 9]. Они секретируют цитокины, протеазы и матриксные белки, обнаруживаются чаще в инвазивном крае опухоли [8, 10]. Ответственными за трансдифференцировку фибробластов в миофи-

бробласты является трансформирующий фактор роста β (TGF β), один из экстрацеллюлярных сигналов, индуцирующих ЭМТ [11, 12]. TGF β стимулирует синтез в миофибробластах гепатоцитарного фактора роста (HGF), называемого также «фактором рассеивания», который вовлечен в процессы инвазии и метастазирования опухолей, быть может также путем включения ЭМТ [13—15]. Редко, только в 4 случаях распространенной ЭМТ и 2 случаях без ЭМТ в клетках стромы встречалась экспрессия гепатоцитарного фактора роста (HGF), при этом только в 2 случаях она была высокой, сравнимой с экспрессией в паренхиме.

Характерна для таких очагов базофилия экстрацеллюлярного матрикса, в основе которой лежит накопление в строме гликозаминогликанов, дающих альцианофилию разной степени выраженности от слабой, умеренной до резко выраженной.

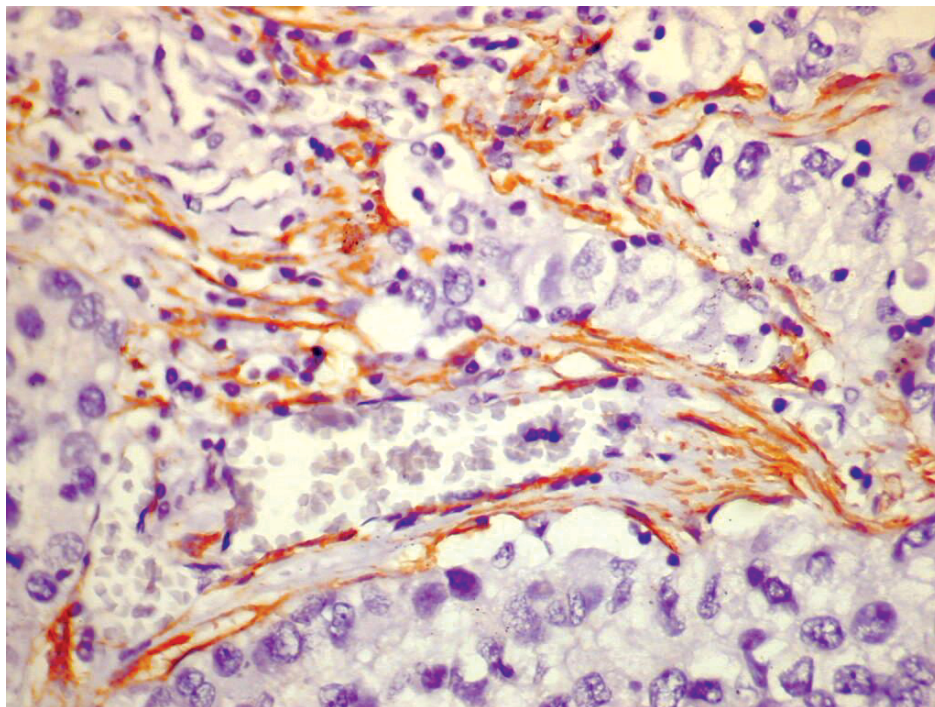


Рис. 4. Экспрессия α -актина гладких мышц в «активированной» строме (окраска антителами к гладкомышечному α -актину, $\times 400$)

Fig. 4. Expression of α -actin smooth muscle actin in the «activated» stroma (staining with antibodies to smooth muscle α -actin, $\times 400$)

Более часто встречаются крупные участки активизированной стромы в случаях распространенной ЭМТ (14 из 16—87,5 %), чем в случаях очаговой (4 из 14—28,6 %). Различия статистически достоверны, $p < 0,01$.

В строме опухоли, особенно часто по периферии ее, обнаруживается выраженная воспалительная инфильтрация, включающая клетки с экспрессией CD 45, CD 3, CD 20, чаще в виде крупных скоплений, а также CD 68-положительные гистиоциты-макрофаги. Иногда CD 3-положительные Т-лимфоциты кажутся более крупными, т.е., возможно, они незрелые. Инфильтрация клетками с экспрессией общего лейкоцитарного антигена была выраженной во 100 % случаях с распространенной ЭМТ и в 28,6 % случаев с очаговой ЭМТ. Резкая инфильтрация гистиоцитами (CD 68-положительные клетки) была обнаружена в 50 % случаев распространенной ЭМТ и лишь в 2 случаях из 14 с очаговой трансформацией.

Иммуногистохимическое исследование часто обнаруживает в клетках стромы экспрессию рецептора к эпидермальному фактору роста (c-erb B 2) разной степени выраженности, от слабой до высокой, во всех случаях распространенной ЭМТ, достигая выраженной в половине случаев (Рис. 5). Только в 4 из 14 случаев с очаговой ЭМТ в строме встречались единичные клетки с экспрессией c-erb B 2.

В клетках стромы обнаруживались признаки пролиферации с экспрессией Ki-67, в половине всех препаратов с распространенной трансформацией она была умеренно выраженной (в одном из них даже выраженной), в половине случаев слабой (Рис. 6). Среди случаев с очаговой — только в одном экспрессия Ki-67 была умеренно выраженной, в остальных случаях слабой, а в 4-х случаях карциноидов (2 с очаговой, 2 — без ЭМТ) она отсутствовала.

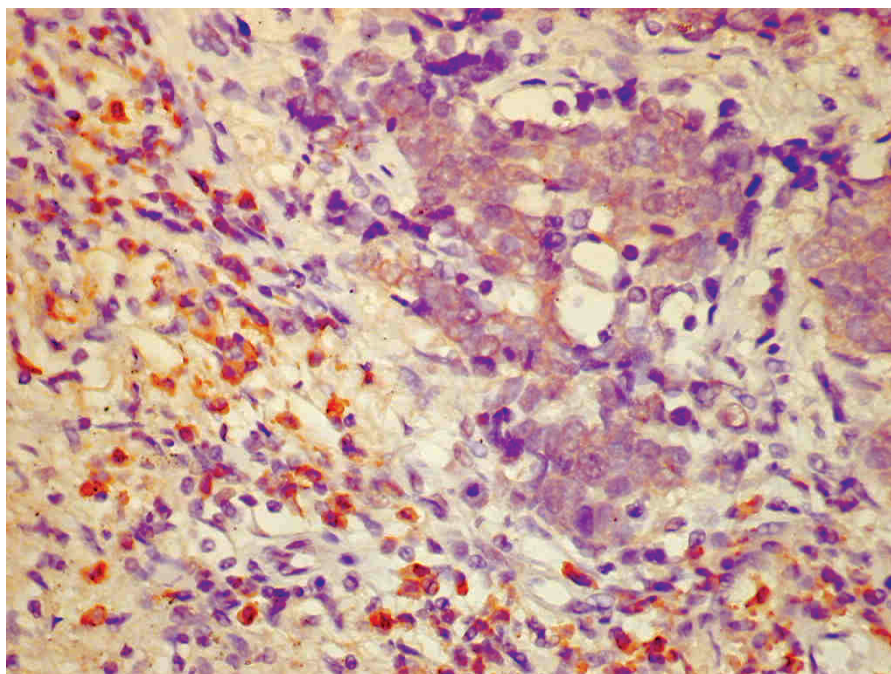


Рис. 5. Высокая экспрессия эпидермального фактора роста (c-erb B 2) в строме и низкая экспрессия в опухолевых клетках (окраска антителами к c-erb B 2, x 400)

Fig. 5. High expression of epidermal growth (c-erb B 2) in the stroma and reduced expression in tumor cells (staining with antibodies to c-erb B 2, x 400)

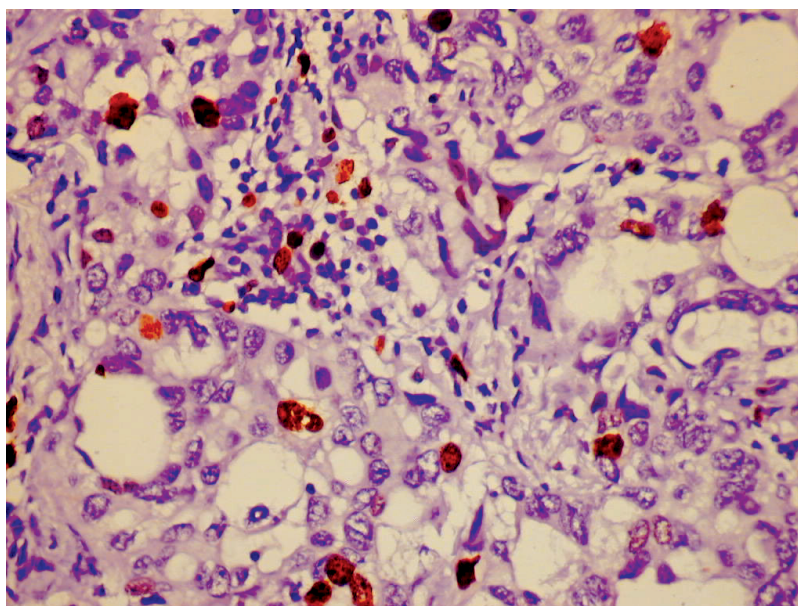


Рис. 6. Слабая пролиферативная активность стромы (окраска антителами к Ki-67, x400)
Fig. 6. Weak proliferative activity of the stroma (staining with antibodies to Ki-67, x400)

Антиапоптотический bcl-2 экспрессировался в высокой степени в 12 из 16 случаев и в низкой степени в 2 случаях при распространенной ЭМТ, а также только в 4 случаях с низкой и умеренной

выраженностью среди 16 случаев очаговой ЭМТ и отсутствия таковой. Экспрессия локализовалась в ядрах лимфоцитов, иногда на внутренней поверхности кариолеммы (Рис. 7).

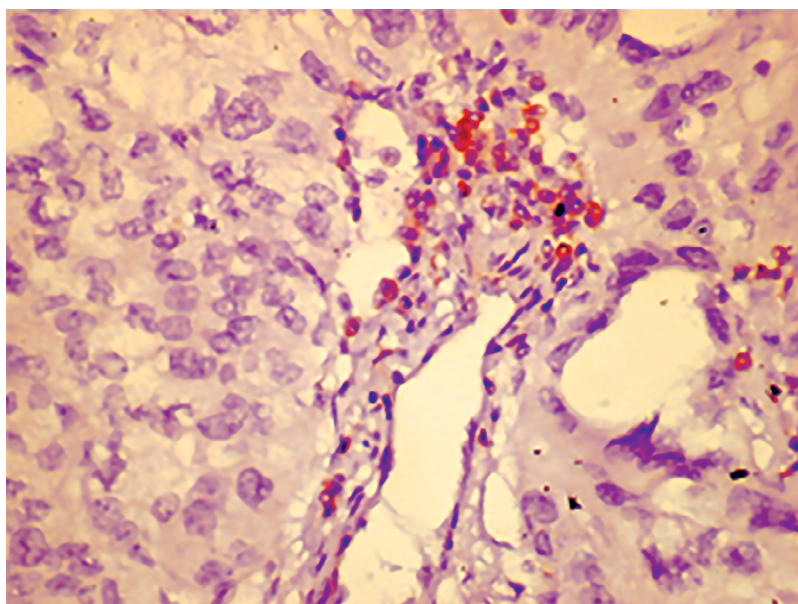


Рис. 7. Умеренно выраженная экспрессия антиапоптотического белка bcl-2 в строме (окраска антителами к антиапоптотическому белку bcl-2, x400)
Fig. 7. Moderate expression of the anti-apoptotic protein bcl-2 in the stroma (staining with antibodies to the anti-apoptotic protein bcl-2, x400)

Основываясь на выявлении новообразованных сосудов по экспрессии CD 34 определяли длину сосудистого русла в 1 мм^3 по Г.Г. Авгандилову. В преобладающем большинстве случаев она была высокой независимо от наличия и распространенности ЭМТ и составляла от 150 до $360 \text{ мм}/\text{мм}^3$. Только в одном наблюдении она была низкой ($72 \text{ мм}/\text{мм}^3$) в случае с распространенной ЭМТ, но это был единственный случай без инвазии сосудов и метастазирования в этой группе. Качественная оценка показала не только большое число сосудов в опухоли, но и часто выраженную пролиферацию эндотелия в виде тяжёлой его без просвета, наличия утолщений стенки сосудов, выбухания эндотелия в просвет сосудов (Рис. 8).

Следует отметить, что экспрессия CD 34 в эндотелии помогает выявлению инвазии сосудов опухолевыми клетками, наличия опухолевых эмболов даже в мелких сосудах.

В 14 из 16 случаев с распространенной ЭМТ в строме обнаруживались признаки нейрогенной дифференцировки по наличию разной степени выраженности экспрессии глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) (12 случаев) и/или хромогранина А (10 случаев); при очаговой ЭМТ или отсутствии ее только в 2 случаях обнаружены следы экспрессии GFAP и в одном случае следы экспрессии хромогранина А.

Для оценки влияния характера стромы и ее особенностей на развитие ЭМТ нами разработана шкала признаков активации стромы. При этом каждый признак оценивался полуколичественно: 0 — отсутствие признака; 1 — слабая выраженность; 2 — умеренная выраженность; 3 — высокая выраженность признака).

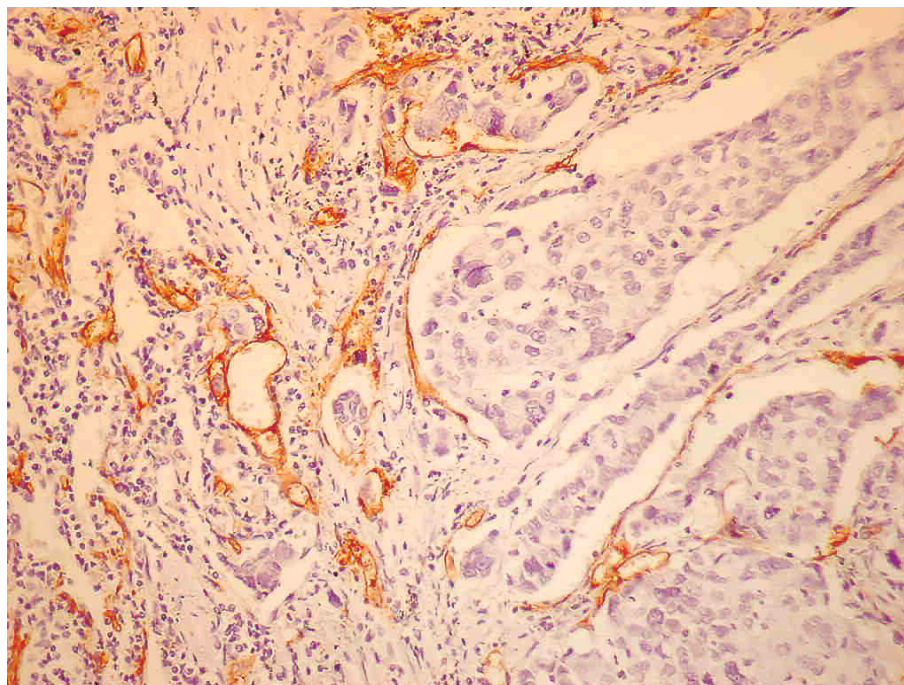


Рис. 8. Опухолевые сосуды, с очаговой пролиферацией эндотелия и наличием опухолевых эмболов (окраска антителами к CD-34, x200)

Fig. 8. Tumor vessels, with focal endothelial proliferation and the presence of tumor emboli (staining with antibodies to CD-34, x200)

1. Количество стромы (малое, умеренное, большое) с наличием рыхлой волокнистой соединительной ткани.

2. Базофилия экстрацеллюлярного матрикса, наличие альцианофилии его (слабая, умеренная, выраженная).

3. Наличие в строме миофибробластов с экспрессией альфа-гладкомышечного актина (малое количество их, умеренное, большое), экспрессия десмина в них (есть, нет).

4. Выраженность воспалительной клеточной инфильтрации в строме с экспрессией CD 45, CD 3 и CD 20 (также 3 степени выраженности). Инфильтрация стромы гистиоцитами-макрофагами с экспрессией CD 68, S-100-протеина (разной степени выраженности).

5. Наличие в клетках стромы экспрессии факторов роста и их рецепторов (c-erb B 2, HGF), оценка пролиферативной (Ki-67) и антиапоптотической активности (bcl-2) в них разной степени выраженности.

6. Количество сосудов по экспрессии CD 34, признаки пролиферации эндотелия (очаговые утолщения его).

7. Признаки нейроэндокринной дифференцировки клеток стромы с экспрессией GFAP, хромогранина А.

Полуколичественная оценка выраженности этих признаков позволила суммировать баллы в каждом случае. В двух случаях распространенной ЭМТ в каждом из них были очаги 2-х разных типов ее (по морфологическим проявлениям) и соответственно им различная выраженность активации стромы в этих участках.

Был оценен в баллах каждый признак активации стромы и суммирован. Если в одном случае были колебания выраженности отдельных признаков в разных участках опухоли, число баллов усредняли.

При распространенной ЭМТ число баллов колебалось от 36,5 до 15,5, в среднем составляя 25,6 баллов. При очаговой ЭМТ или отсутствии ее оно колебалось от 23,5 до 8 баллов, в среднем — 12,6 баллов, т.е. в 2 раза ниже, чем при распространенной ЭМТ. Следует отметить, что при распространенной ЭМТ

в половине случаев она была полной, тогда как при очаговой полная ЭМТ не встречалась. Таким образом, можно сделать вывод, что распространенность и полнота ЭМТ связана с выраженностью активации стромы. Следовательно, активность стромы может быть мишенью терапевтических воздействий на опухоль.

Знание механизмов развития и морфологических проявлений ЭМТ помогают понять механизмы возникновения инвазии и метастазирования. Результаты многих исследований показывают, что в первичной опухоли не может быть селекции клеток, направленных на метастазирование (обычно клетки первичной опухоли и метастазов имеют сходный фенотип). Кроме того, диссеминация из первичного новообразования является почти случайным побочным эффектом в первичной опухоли. В первичной опухоли постепенно происходят изменения в строме, ее активация, и она становится источником сигналов для ЭМТ в соседних раковых клетках. После ЭМТ опухолевые клетки приобретают способность к инвазии сосудов из-за клеточной подвижности и освобождения многих ферментов для расщепления экстрацеллюлярного матрикса, способность сохраняться во время циркуляции в крови или лимфе из-за резистентности к апоптозу, и способность к экстравазации. Однако они «поселяются» в различных органах, строма которых не изменена. К ней опухолевые клетки не адаптированы, отсутствие совместимости между вновь пришедшими раковыми клетками и окружающими тканями объясняет низкую частоту успеха последнего этапа метастазирования — роста микрометастазов в макрометастазы (возможно за счет обратимости ЭМТ в противоположный процесс — мезенхимально-эпителиальную трансформацию). Таким образом, возникающая на определенном генетическом фоне в процессе прогрессии и длительного взаимодействия паренхимы и стромы эпителиальных опухолей ЭМТ ведет к резкому усилению инвазивных и метастатических потенциалов опухоли, приобретение устойчивости к химиотерапии благодаря резистентности к апоптозу, а также определяет неблагоприятный прогноз таких новообразований.

Выводы

1. Активизированная строма коррелирует с частотой ЭМТ. Так, более часто встречаются крупные участки активизированной стромы с наличием миофибробластов и альцианофилией экстрацеллюлярного матрикса в случаях распространенной ЭМТ (14 из 16—87,5 %), чем в случаях очаговой (4 из 14—28,6 %). Различия статистически достоверны, $p < 0,01$.

2. Воспалительная клеточная инфильтрация, являющаяся источником сигнала для трансформации, также коррелировала с частотой ЭМТ. Инфильтрация клетками с экспрессией общего лейкоцитарного антигена была выраженной во всех случаях с распространенной ЭМТ и в 28,6 % случаев с очаговой. Резкая инфильтрация гистиоцитами (CD 68-положительные клетки) была выявлена в половине случаев с распространенной ЭМТ и только в 2 случаях из 14 с очаговой. Различия статистически достоверны, $p < 0,01$.

3. Также с ЭМТ коррелирует экспрессия в клетках стромы рецептора к эпидермальному фактору роста (с-erb B2): она была во всех случаях распространенной ЭМТ, достигая выраженной в половине случаев и только в 4 из 14 случаев с очаговой ЭМТ в строме встречались единичные клетки с экспрессией с-erb B2. Различия статистически достоверны, $p < 0,01$.

4. Такой признак активизации стромы, как пролиферация ее клеток, имел тенденцию к прямо пропорциональной связи с ЭМТ: признаки пролиферации с экспрессией Ki-67 в клетках стромы были умеренно выражены и выражены в половине случаев распространенной ЭМТ, а среди случаев с очаговой ЭМТ только в одном.

5. Четкая корреляция обнаружена между нейрогенной дифференцировкой клеток стромы и ЭМТ. В 14 из 16 случаев с распространенной ЭМТ в строме обнаруживались признаки нейрогенной дифференцировки; при очаговой ЭМТ или отсутствии ее только в 2 случаях обнаружены следы экспрессии GFAP и в одном случае следы экспрессии хромогранина А.

6. При суммировании баллов по 7 признакам активации стромы две независимые выборки (случаи с полной ЭМТ и случаи с очаговой и без ЭМТ) статистически достоверно отличаются на уровне $p < 0,01$, из чего следует вывод о несомненном влиянии сигналов из активированной стромы на развитие эпителиально-мезенхимальной трансформации опухолевых клеток.

Библиографический список / References

1. Radisky DC. Epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci.* 2005;1;118(19):325—326. doi: 10.1242/jcs.02552
2. Mnihovich MV, Vernigorodskij SV, Bun'kov KV, Mishina ES. Jepitelial'no-mezenhimal'nyj perehod, transdifferenciacija, reprogramirovanie i metaplazija: sovremennyj vzgljad na problemu. *Vestnik Nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo Centra im. N.I. Pirogova.* 2018;13(2):145—152 (In Russian). [Мнихович М.В., Вернигородский С.В., Буньков К.В., Мишина Е.С. Эпителиально-мезенхимальный переход, трансдифференциация, репрограммирование и метаплазия: современный взгляд на проблему // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2018. Т. 13. № 2. С. 145—152].
3. Kondratjuk RB, Grekov IS, Jarkov A.M., Rusika A.A., Shvorob D.S. Rol' jepitelial'no-mezenhimal'noj transformacii v rakah razlichnoj lokalizacii (Chast' 1). *Novoobrazovanie.* 2021;13(2):91—95. doi: 10.26435/neoplas.v13i2.376 (In Russian). [Кондратьев Р.Б., Греков И.С., Ярков А.М., Русика А.А., Швороб Д.С. Роль эпителиально-мезенхимальной трансформации в раках различной локализации (Часть 1) // Новообразование. 2021. Т. 13. № 2. С. 91—95. doi: 10.26435/neoplas.v13i2.376]
4. Nisticò P, Bissell MJ, Radisky DC. Epithelial-mesenchymal transition: general principles and pathological relevance with special emphasis on the role of matrix metalloproteinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012;4(2):115—130. doi: 10.1101/cshperspect.a011908.
5. Chou MY. Interplay of Immunometabolism and Epithelial-Mesenchymal Transition in the Tumor Microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22 (18):110—118.
6. Lung cancer-associated mesenchymal stem cells promote tumor metastasis and tumorigenesis by induction of epithelial-mesenchymal transition and stem-like reprogram. *Aging (Albany NY).* 2021;13(7):9780—9800.
7. Vasilenko IV, Kondratyuk RB, Grekov IS, Yarkov AM. Epithelial-mesenchymal transition in main types of gastric carcinoma. *Clin Exp Morphol.* 2021;10(2):13—20. doi: 10.31088/CEM2021.10.2.13—20
8. Wanna-Udom S. KDM2B is involved in the epigenetic regulation of TGF- β -induced epithelial- mesenchymal transition in lung and pancreatic cancer cell lines. *J. Biol. Chem.* 2021;296(1): 345—348.
9. Shi J, Liu F, Zhang W, Liu X, Lin B, Tang X. Epigallocatechin-3-gallate inhibits nicotine-induced migration and invasion by the suppression of angiogenesis and epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep.* 2015;33(6):2972—2980.

10. Chuang WI, Yeh CJ, Chao YK, Liu YH, Chang IS, Treng CK. Concozdant podoplanin expression in cancer-associated fibroblast and tumor cells is an adverse prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2014;7(8):4847—4856.
11. Ramesh V, Brabletz T, Ceppi P. Targeting EMT in Cancer with Repurposed Metabolic Inhibitors. *Trends Cancer*. 2020;6(11):942—950.
12. Saitoh M. Involvement of partial EMT in cancer progression. *J Biochem*. 2018;164(4):257—264. doi: 10.1093/jb/mvy047
13. Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease: old views and new perspectives. *Int J Dev Biol*. 2009;53(1):1541—1547. doi: 10.1387/ijdb.072410mn
14. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transition in development of disease. *Cell*. 2009;139(5):871—890. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.007
15. Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res*. 2006;66(17):8319—8326. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0410

Ответственный за переписку: Кондратюк Роман Борисович — кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецкая народная республика, 83003, г. Донецк, пр. Ильича, 16. E-mail: rbkondrat@gmail.com
Кондратюк Р.Б. SPIN-код 5926-0286; ORCID 0000-0001-5928-8799
Греков И.С. SPIN-код 1887-6655; ORCID 0000-0001-5928-8799
Селезнёв Е.А. SPIN-код 1887-6655; ORCID 0000-0002-2413-8843

Corresponding author: Roman Borisovich Kondratyuk — PhD, MD, Associate Professor at the Department of pathological anatomy, M. Gorky Donetsk National Medical University, 83003, Ilyich Ave., 16, Donetsk, Donetsk People Republic. E-mail: rbkondrat@gmail.com
Kondratyuk R.B. ORCID 0000-0001-5928-8799
Grekov I.S. ORCID 0000-0001-5928-8799
Seleznev E.A. ORCID 0000-0002-2413-8843

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-3-338-343

SHORT COMMUNICATION
КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

Suprascapular notch morphometric study


Maheshwar Chawla¹ , Pankaj Sinsinwar² , Abhibhusan Mishra³ ,
Jitender Sorout⁴  , Aayushee Rao⁴ 

¹Alfalah school of medical science and research centre, Dhauj, Faridabad, Haryana, India

²Yogita Dental College and hospital, Khed, Ratnagiri, Maharashtra, India

³Kanti Devi Medical College and Hospital, Mathura, Uttarpradesh, India

⁴Rajasthan University of Health Sciences College of Medical Sciences, Jaipur, Rajasthan, India

 jitendersorout123@gmail.com

Abstract. Relevance. The suprascapular notch is one of the most crucial areas of the scapula from a clinical standpoint. Aside from its anatomical relevance, the suprascapular notch type may also have some clinical implications for suprascapular nerve entrapment. *Aim of the study* was the determination of the different dimensions of the suprascapular notch based on the maximum depth (MD) and superior transverse diameter (STD), as well as the clinical relation between those dimensions and suprascapular nerve entrapment. *Materials and Methods.* The study's materials were 100 unknown dry human scapulae from the anatomy department of the Mahatma Gandhi Medical College, Sitapura, Jaipur, Rajasthan. Each scapula was studied for suprascapular notch. From each of the scapulae, maximum depth and superior transverse diameter were determined. Fifty were from right side and Fifty were from left side. Different types of suprascapular notches were observed based on maximum depth and superior transverse diameter. *Results and Discussion.* In this study, the overall percentage distribution frequency of the suprascapular notch in 100 scapulae is MD > STD (25 %), MD = STD (0 %), STD > MD (60 %) and SSN Absent (15 %) respectively. The most common SSN type is STD > MD (60 %) type and least common SSN type is MD = STD (0 %) type. *Conclusion.* Morphological examination of the scapular notch reveals a common site of nerve compression and also demonstrates the surgical importance of the scapular nerve during shoulder surgery.

Key words: suprascapular notch, morphometry, entrapment, maximal depth, superior transverse diameter

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

Author contributions. Chawla D.—research concept, data collection; Sinsinwar P.—analysis of data obtained, writing of the data obtained; Mishra A.B.—entry of the data obtained; Sorout J.—analysis of data obtained; Rao A.—text writing. Each author contributed personally to the interpretation of the data and manuscript writing. All authors read and approved the final manuscript.

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

© Chawla M., Sinsinwar P., Mishra A., Sorout J., Rao A., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Ethics approval—not applicable.

Acknowledgements. Sincere thanks to Principal, and Professor Hod for studying the scapulae of Mahatma Gandhi Medical College and Hospital, Jaipur, Rajasthan.

Consent for publication—not applicable.

Received 05.08.2022. Accepted 07.09.2022.

For citation: Chawla M, Sinsinwar P, Mishra A, Sorout J, Rao A. Suprascapular notch morphometric study. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(3):338—343. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-338-343

Introduction

The suprascapular notch is one of the most crucial areas on the scapula from a clinical standpoint (SSN). This is a depression in the outer part of the upper edge of the scapula, inside the coracoid process. The SSN is closed through the advanced transverse scapular ligament. Below this ligament are the supra scapular nerve and vein, and the suprascapular artery runs above the superior transverse scapular ligament. The suprascapular nerve provides sensory branches to the rotator cuff muscles, motor branches to the supraspinatus and infraspinatus muscles, and motor branches to the ligamentous structures of the shoulder and acromio- clavicular joints. Accordingly, during arthroscopic shoulder procedures, this notch serves as a crucial landmark for the suprascapular nerve [1—4].

Clinically viable predisposing factors for compression neuropathy and suprascapular nerve entrapment include morphological variations of the SSN [5]. According to Kopell and Thompson, suprascapular nerve entrapment results in arm weakness, difficulties performing external rotation and abduction, and atrophy of the supra and infra spinatus muscles [6]. The Rengachary et. Al. divided this notch into six varieties based on its shape, and they also claimed that the size of the suprascapular notch contributed to the likelihood of entrapment of the suprascapular nerve. They believed that a little notch offered a higher risk of a nerve impingement than a large one. The suprascapular notch is one of the scapula's key clinical landmarks [7, 8]. Aside from its anatomical significance, the

suprascapular notch type may also have some clinical significance for suprascapular nerve entrapment. The purpose of the current research was to determine the different dimensions of the suprascapular notch based on the maximum depth (MD) and superior transverse diameter (STD), as well as the clinical relation between those dimensions and suprascapular nerve entrapment.

Materials and methods

Materials for the present research included 100 unidentified dried scapulae from the anatomy department of the Mahatma Gandhi Medical College, Sitapura, Jaipur, Rajasthan. 50 of the 100 scapulae belonged to the right side and 50 to the left. With the aid of a vernier calliper, the suprascapular notch's (SSN) maximum depth (MD) and superior transverse diameter (STD) were examined and measured. Following that, the suprascapular notch's maximum depth and superior transverse diameter were determined. On the basis of maximum depth (MD) and superior transverse diameter (STD), the percentage distribution of the suprascapular notch was categorised into four categories.

MD > STD

MD = STD

STD > MD

Absent

The table that is provided below under results contains a summary of all the results of the aforementioned findings.

Results and discussion

An analytical morphometric analysis of 100 dry, unidentified suprascapula (50 right and 50 left) (Table 1).

Sinkeet et. al. described 6 types of SSN but in our study 4 types of SSN observed, i.e. (that) MD>STD, MD=STD, STD>MD, SSN absent patterns occurred in 25 %, 0 %, 60 %, & 15 % respectively [10].

STD>MD frequency pattern observed highest (60 %) which is in conformity with highest available frequency in others respectively. In the present study, the STD of the notch was more than the MD (60 %) [12, 13].

The least frequency pattern MD=STD was 0 % in our study but Sinkeet et. al. and Rengachary et. al. (Table 2) observed 4 % in contrast to Natsis et. al. (6 %) and Murlidhar (8.65 %) [7, 9, 11].

The total percentage distribution frequency of suprascapular notch in 100 scapulae as MD>STD (25 %), MD=STD (0 %), STD>MD (60) and SSN Absent (15 %) respectively.

However in comparison with other studies, in the present study, SSN type III was the most prevalent while type II was the least prevalent.

SSN-I type observed by Sinkeet, Rangachary, Natsis and Murlidhar was 22 %, 8 %, 6 % and 21.15 %

respectively in comparison to these 15 % is in present study. This probably reflects the racial population differences.

The coexistence of notch type-I (25 %) with the foramen can theoretically lead to a decrease in the size of the foramen formed, thereby increasing the probability of nerve entrapment in the foramen, calls extra caution for surgeons operating on the shoulder joint.

Table 1
Suprascapular notch (SSN) measured on the basis of maximal depth (MD) and superior transverse diameter (STD)

Types of SSN	Right side		Left side		Total	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
MD> STD	8	8	17	17	25	25
MD = STD	0	0	0	0	0	0
STD> MD	26	26	34	34	60	60
Absent	6	6	9	9	15	15

Abbreviations: SSN – suprascapular notch's; MD – maximum depth; STD – superior transverse diameter.

Table 2
Incidences of various authors on different suprascapular notch kinds

Author, reference	Year	Population	Sample size	Type (I) MD>STD	Type (II) MD=STD	Type (III) STD>MD	Type (IV) SSN Absent	Type (V)	Type (VI)
Rengachary et al. [7]	1979	American	211	31 %	4 %	48 %	8 %	3 %	6 %
Natsis et al. [9]	2007	Greek	423	24 %	6 %	40 %	6 %	13 %	11 %
Sinkeet et al. [10]	2010	Kenyan	138	21 %	4 %	29 %	22 %	5 %	18 %
Muralidhar [11]	2013	India	104	21.15 %	8.65 %	59.61 %	2.88 %	5.76 %	1.93 %
Urguden [12]	2011	Turkish	100	40 %	-	24 %	-	-	-
Wang [13]	2011	China	295	28 %	58.16 %	28.23 %	3 %	-	-
Present study	2019	Indian	100	25 %	0	60 %	15 %	-	-

Abbreviations: SSN – suprascapular notch's; MD – maximum depth; STD – superior transverse diameter.

In the study done by Apurba Patra et al., in 67.34 % scapulae transverse diameter of the notches is more than vertical diameter and in 14.28 % vertical diameter was more than transverse diameter [14, 15]. Which was also same in present study (Transverse diameter > Vertical diameter). When diagnosing and treating cases of shoulder pain brought on by suprascapular nerve entrapment, as well as when performing suprascapular nerve blocks during shoulder procedures, the many types of suprascapular notch and measures are highly important. In order to prevent iatrogenic suprascapular nerve damage during shoulder surgical operations, safe zone distances are crucial [16]. Open surgical methods that necessitate dissection of the posterior shoulder joint, depend on the distance between the suprascapular notch and the edge of the glenoid cavity [17, 18]. Based on the crucial distance within which these procedures can be performed safely, a safe zone has been developed in order to prevent damage to the suprascapular nerve during these procedures [19, 20]. To prevent nerve damage, greater caution must be used when doing shoulder surgeries.

Conclusion

Our morphological study of suprascapular notch reveals the typical location for nerve compression. Choosing the right type of notch can assist prevent iatrogenic nerve lesions in patients with torn rotator cuffs. The suprascapular nerve's surgical value is further demonstrated by the morphological analysis of the suprascapular notch after shoulder surgery.

References / Библиографический список

1. Rengachary SS, Burr D, Lucas S, Hassanein KM, Mohn MP, Matzke H. Suprascapular entrapment neuropathy: a clinical, anatomical, and comparative study. Part 2: anatomical study. *Neurosurgery*. 1979;5:447—451.
2. Rengachary SS, Neff JP, Singer PA, Brackett CF. Suprascapular entrapment neuropathy: a clinical, anatomical, and comparative study. Part 1: clinical study. *Neurosurg*. 1979;5:441—446.
3. Iannotti JP, Gabriel JP, Schneck SL, Evans BG, Misra S. The normal glenohumeral relationships. An anatomical study of one hundred and forty shoulders. *J Bone Joint Surg Am*. 1992;74:491500.
4. Mallon WJ, Brown HR, Vogler JB 3rd, Martinez S. Radiographic and geometric anatomy of the scapula. *Clinical orthopedics*. 1992;277:142—154.
5. Łabętowicz P, Synder M, Wojciechowski M, Orczyk K, Jezierski H, Topol M, Polguj M. Protective and Predisposing Morphological Factors in Suprascapular Nerve Entrapment Syndrome: A Fundamental Review Based on Recent Observations. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4659761.
6. Thompson WA, Kopell HP. Peripheral entrapment neuropathies of the upper extremity. *N Engl J Med*. 1959;260(25):1261—5.
7. Rengachary SS, Burr D, Lucas S, Hassanein KM, Mohn MP, Matzke H. Suprascapular entrapment neuropathy: a clinical, anatomical, and comparative Study. Part 2: anatomical study. *Neurosurgery*. 1979;5(4):447—451.
8. Kannan U, Kannan NS, Anbalagan J, Rao S. Morphometric study of suprascapular notch in Indian dry scapulae with specific reference to the incidence of completely ossified superior transverse scapular ligament. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(3):7—10.
9. Natsis K, Totlis T, Tsikaras P, Appell HJ, Skandalakis P, Koebeke J. Proposal for classification of the suprascapular notch: a study on 423 dried scapulas. *Clin Anat*. 2007;20(2):135—139.
10. Sinkeet SR, Awori KO, Odula PO, Ogeng'o JA, Mwachaka PM. The suprascapular notch: its morphology and distance from the glenoid cavity in a Kenyan population. *Folia Morphol (Warsz)*. 2010;69(4):241—245.
11. Sangam MR. A Study on the Morphology of the Suprascapular Notch and Its Distance from the Glenoid Cavity. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(2):189—192.
12. Urgüden M, Ozdemir H, Dönmez B, Bilbaşar H, Oğuz N. Is there any effect of suprascapular notch type in iatrogenic suprascapular nerve lesions? An anatomical study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2004;12(3):241—5.
13. Wang HJ, Chen C, Wu LP, Pan CQ, Zhang WJ, Li YK. Variable morphology of suprascapular notch: an investigation and quantitative measurements in Chinese population. *Clin Anat*. 2011;24:47—55.
14. Apurba Patra, Manjeet Singh, Harsimarjit Kaur. Variations in the Shape and Dimension of the Suprascapular Notch in Dried Human Scapula-An Osteological Study with its Clinical Implications. *International Journal of Anatomy, Radiology and Surgery*, 2016;5(2) 1—5.
15. Kumar A, Sharma A, Singh P. Anatomical study of the suprascapular notch: quantitative analysis and clinical considerations for suprascapular nerve entrapment. *Singapore Med J*. 2014;55(1):41—4.
16. Daripelli S, Tolupunoori B, Vinodini L. Morphometric Study of Suprascapular Notch and Its Safe Zone in Indian Population. *Maedica (Bucur)*. 2020;15(4):461—467.
17. Warner JJP, Krushell RJ, Masquelet A, Gerber C. Anatomy and relationships of suprascapular nerve: anatomical constraints to mobilization of the supraspinatus and infraspinatus muscles in management of massive rotator-cuff tears. *J Bone Joint Surg Am*. 1992;74:36—45.
18. De Mulder K, Marynissen H, Van Laere C. Arthroscopic transglenoid suture of Bankart lesions. *Acta Orthop Belg*. 1998;64:160—166.
19. Bigliani LU, Dalsey RM, Mc Cann PD, April EW. An anatomical study of suprascapular nerve. *Arthroscopy*. 1990;6:301—305.
20. M Venkata Raga Mayuri, T Naveen Sagar. The suprascapular notch: its morphology morphometry and clinical significance. *Int J Anat Res*. 2020;8(1.1):7237—7240.

Морфометрическое исследование лопаточной вырезки

М. Чавла¹ , П. Синсинвар² , А. Мишра³ , Д. Сорут⁴  , А. Рао⁴ 

¹Школа медицинской науки и исследований Алфалах, г. Дхаудж, Фаридабад, Харияна, Индия

²Стоматологический колледж и больница Йогита, г. Кхед, Ратнагири, Махараштра, Индия

³Медицинский колледж и больница Канти Деви, г. Матхура, Уттарпрадеш, Индия

⁴Колледж медицинских наук Раджастанского университета медицинских наук, г. Джайпур, Раджастан, Индия

*jitendersorout123@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Лопаточная вырезка является одной из наиболее важных областей лопатки с клинической точки зрения. Помимо анатомического значения, тип надлопаточной вырезки может также иметь некоторые клинические последствия при ущемлении надлопаточного нерва. Целью исследования было определение различных размеров надлопаточной вырезки на основе максимальной глубины (MD) и верхнего поперечного диаметра (STD), а также клинической связи между этими размерами и ущемлением надлопаточного нерва. *Материалы и методы.* Материалами для исследования послужили 100 сухих лопаток человека из отделения анатомии Медицинского колледжа Махатмы Ганди, Ситапура, Джайпур, Раджастан. Каждую лопатку исследовали на наличие лопаточной вырезки. Для каждой лопатки определяли максимальную глубину и верхний поперечный диаметр. Пятьдесят были правосторонних и пятьдесят были левосторонних. Наблюдались различные типы надлопаточных вырезок, основанные на максимальной глубине и верхнем поперечном диаметре. *Результаты и обсуждение.* В этом исследовании общая процентная частота распределения надлопаточной вырезки в 100 лопатках составляет MD>STD (25 %), MD=STD (0 %), STD>MD (60 %) и отсутствие лопаточной вырезки (15 %) соответственно. Наиболее распространенным типом лопаточной вырезки является тип STD>MD (60 %), а наименее распространенным типом MD=STD (0 %). *Вывод.* Морфологическое исследование вырезки лопатки выявляет обычное место сдавления нерва, а также демонстрирует хирургическую важность лопаточного нерва при операциях на плече.

Ключевые слова: лопаточная вырезка, морфометрия, ущемление, максимальная глубина, верхний поперечный диаметр

Информация о финансировании. Авторы не получали финансовой поддержки для исследования и публикации статьи.

Этическое утверждение — неприменимо.

Вклад авторов. Чавла Д. — концепция исследования, сбор данных; Синсинвар П. — анализ полученных данных, запись полученных данных; Мишра А.Б. — ввод полученных данных; Сорут Ж. — анализ полученных данных; Рао А. — написание текста. Каждый автор внес личный вклад в интерпретацию данных и написание рукописи. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

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

Благодарности. Искренняя благодарность директору, профессору Ход за предоставленную возможность изучения лопаток в Медицинском колледже и больнице Махатмы Ганди, Джайпур, Раджастан.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 05.08.2022. Принята 07.09.2022.

Для цитирования: *Chawla M., Sinsinwar P., Mishra A., Sorout J., Rao A. Suprascapular notch morphometric study // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 3. С. 000—000. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-3-000-000*

Corresponding author: Jitender Sorout—PhD Scholar, Department of Physiology, Rajasthan University of Health Sciences College of Medical Sciences, Jaipur, Rajasthan, India. 302033. E-mail: jitendersorout123@gmail.com

Chawla D. ORCID 0000-0001-7738-7811
Sinsinwar P. ORCID 0000-0002-8806-947X
Mishra A.B. ORCID 0000-0002-3448-6569
Sorout J. ORCID 0000-0002-1510-0982
Rao A. ORCID 0000-0002-0343-5777

Ответственный за переписку: Джитендер Сорут—доктор наук, факультет физиологии, Колледж медицинских наук Раджастанского университета медицинских наук, Индия, 302033, г. Джайпур, штат Раджастан. E-mail: jitendersorout123@gmail.com

Чавла Д. ORCID 0000-0001-7738-7811
Синсинвар П. ORCID 0000-0002-8806-947X
Мишра А.Б. ORCID 0000-0002-3448-6569
Сорут Дж. ORCID 0000-0002-1510-0982
Рао А. ORCID 0000-0002-0343-5777

