

DOI: 10.47093/2218-7332.2023.14.3



СЕЧЕНОВСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
НАУК О ЖИЗНИ

ISSN 2218-7332 (Print)
ISSN 2658-3348 (Online)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет)

СЕЧЕНОВСКИЙ *SECHENOV MEDICAL JOURNAL* ВЕСТНИК

Том/Volume 14
№ 3, 2023

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

СПЕЦИАЛЬНЫЙ ВЫПУСК:
КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ,
ГИСТОЛОГИЯ

SPECIAL ISSUE:
CELL BIOLOGY,
CITOLOGY, HISTOLOGY





СЕЧЕНОВСКИЙ ВЕСТНИК

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ
Sechenovskii vestnik

Цели и задачи

К основным целям журнала относятся представление актуальных научных достижений российских и зарубежных ученых в области медико-биологических наук, фундаментальной и клинической медицины, увеличение значимости и авторитета российской медицинской науки за счет повышения качества научных публикаций.

Научно-практический медицинский журнал «Сеченовский вестник» публикует статьи по актуальным вопросам медико-биологических наук, клинической медицины. Издание предназначено для профессионалов в области здравоохранения.

Главный редактор

П.В. Глыбочко – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, ректор Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-5541-2251>, Scopus Author ID: 26435273000

Заместитель главного редактора

Д.В. Бутнару – канд. мед. наук, доц., проректор по научной и международной деятельности Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-2173-0566>, Scopus Author ID: 15758889100

Редактор выпуска

С.Л. Кузнецов – д-р мед. наук, член-корр. РАН, проф. кафедры анатомии и гистологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, Scopus Author ID: 27267733100

Научные редакторы

М.Ю. Надинская – канд. мед. наук, доц., руководитель Издательского центра Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-1210-2528>, Scopus Author ID: 6507949442

Н.В. Эберле – научный редактор Издательского центра Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0009-0006-6165-8983>

Ответственный секретарь

С.С. Кардашева – канд. мед. наук, доц. каф. пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-5116-2144>, Scopus Author ID: 57212196771

Редакционный совет

• **Е. Айкава** – канд. мед. наук, доц. медицинской школы Гарвардского университета (Бостон, США); <https://orcid.org/0000-0001-7835-2135>, Scopus Author ID: 55303859000 • **Г.Б. Белякович** – д-р мед. наук, проф. Нишского университета (Ниш, Сербия); <https://orcid.org/0000-0002-3796-9945>, Scopus Author ID: 34567603700 • **Э. Грандоне** – д-р мед. наук, проф. госпиталя Casa Sollievo della Sofferenza (Сан-Джованни-Ротондо, Италия); <https://orcid.org/0000-0002-8980-9783>, Scopus Author ID: 7006391091 • **М.Ю. Капитонова** – д-р мед. наук, проф. кафедры фундаментальных медицинских наук факультета Медицины и Здравоохранения Университета Малайзии Sarawak (Unimas) (Кота Самаранх, Малайзия); <https://orcid.org/0000-0001-6055-3123>, Scopus Author ID: 8854275100 • **О.Д. Мяделец** – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета (Витебск, Беларусь); <https://orcid.org/0000-0001-8796-052X>, Scopus Author ID: 55790984400 • **С. Петанидис** – канд. мед. наук, науч. сотрудник Университета имени Аристотеля в Салониках (Салоники, Греция); <https://orcid.org/0000-0001-7482-6559>, Scopus Author ID: 55362289600 • **Д. Риццо** – MD, профессор, Университет Рома Тор Вергата, зав. кафедрой акушерства и гинекологии, Центральная поликлиника Тор Вергата (Рим, Италия); <https://orcid.org/0000-0002-5525-4353>, Scopus Author ID: 7102724281 • **Х.Э. Санер** – д-р мед. наук, проф. Бернского университета (Берн, Швейцария); <https://orcid.org/0000-0002-8025-7433>, Scopus Author ID: 55835032800 • **А.А. Свиустов** – д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН, первый проректор Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); Scopus Author ID: 55578030700 • **А. Спаллоне** – д-р мед. наук, проф., директор отделения клинических

нейронаук нейроцентра Latium NCL (Рим, Италия); <https://orcid.org/0000-0002-7017-1513>, Scopus Author ID: 7005531516 • **В. Яковлевич** – д-р мед. наук, проф.; декан факультета медицинских наук Университета г. Крагуевац (Крагуевац, Сербия); <https://orcid.org/0000-0002-0071-8376>, Scopus Author ID: 56425747600

Редакционная коллегия

• **В.Б. Аникин** – канд. мед. наук, проф. The Royal Brompton & Harefield NHS Foundation Trust (Лондон, Великобритания); Scopus Author ID: 7005592092 • **О.Б. Блюсс** – канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник Лондонского университета королевы Марии (Лондон, Великобритания); <https://orcid.org/0000-0002-0194-6389>, Scopus Author ID: 56020531500 • **С.Б. Белевич** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. патологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-1574-477X>, Scopus Author ID: 6603144931 • **А.А. Заикин** – канд. физ.-мат. наук, проф. системной медицины Университетского колледжа Лондона (Лондон, Великобритания); <https://orcid.org/0000-0001-7540-1130>, Scopus Author ID: 7103103296 • **А.В. Зорькина** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. амбулаторно-поликлинической терапии Национального исследовательского Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-1122-9532>, Scopus Author ID: 6508247780 • **В.Т. Ивашкин** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-6815-6015>, Scopus Author ID: 57201595785 • **А.М. Казарян** – д-р мед. наук, проф. Университета Осло (Осло, Норвегия); <https://orcid.org/0000-0001-9960-0820>, Scopus Author ID: 7003922201 • **С.Л. Кузнецов** – д-р мед. наук, член-корр. РАН, проф. кафедры анатомии и гистологии человека Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, Scopus Author ID: 27267733100 • **А.Д. Макацария** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. акушерства и гинекологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>, Scopus Author ID: 6602363216 • **Д. Макфарланд** – доц., Автономный Мадридский университет (Мадрид, Испания); <https://orcid.org/0000-0003-3994-4570>, Scopus Author ID: 57203783686 • **Л. Матронарди** – руководитель отделения нейрохирургии, больница Сан-Филиппо Нери (Рим, Италия); <https://orcid.org/0000-0003-0105-5786>, Scopus Author ID: 56228961100 • **Д.Б. Мунблит** – канд. мед. наук, проф. Imperial College London (Лондон, Великобритания); <https://orcid.org/0000-0001-9652-6856>, Scopus Author ID: 55233686800 • **Д.А. Напалков** – д-р мед. наук, проф. каф. факультетской терапии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-6241-2711>, Scopus Author ID: 7801384884 • **Ч.С. Павлов** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. терапии, руководитель Центра доказательной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-5031-9798>, Scopus Author ID: 57196355076 • **С.В. Пирожков** – д-р мед. наук, проф. каф. патофизиологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-7116-3398>, Scopus Author ID: 7004383734 • **И.В. Решетов** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-0909-6278>, Scopus Author ID: 6701353127 • **М.И. Секачева** – д-р мед. наук, проф., директор Института персонализированной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-0015-7094>, Scopus Author ID: 24342526600 • **А.Н. Стрижаков** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. акушерства, гинекологии и перинатологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-7718-7465>, Scopus Author ID: 7005104683 • **А.А. Суфьянов** – д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, главный врач Федерального центра нейрохирургии (Тюмень, Россия); <https://orcid.org/0000-0001-7580-0385>, Scopus Author ID: 6603558501 • **Г.Т. Сухих** – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, директор НИИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова (Москва, Россия); <https://orcid.org/0000-0003-0214-1213>, Scopus Author ID: 7005776727 • **А.С. Шершев** – д-р мед. наук, проф. Свердловского областного онкологического диспансера (Екатеринбург, Россия); <https://orcid.org/0000-0002-8515-6017>, Scopus Author ID: 7006207122

История издания журнала: издается с 2010 г.

Периодичность: выходит 4 раза в год.

Префикс DOI: 10.47903

Свидетельство о регистрации средства массовой информации: ПИ № ФС77-78884 от 28 августа 2020 года выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Условия распространения материалов: контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.

Учредитель, издатель, редакция: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Телефон редакции: +7 (905) 517-27-99

Сайт: <https://www.sechenovmedj.com/jour>

E-mail: sechenovmedj@staff.sechenov.ru

Выход в свет: 28.09.2023

Копирит: © Сеченовский вестник, 2023

Индексирование: журнал входит в перечень изданий, рекомендованных ВАК, и библиографическую базу данных РИНЦ.

Журнал представлен в Федеральной электронной медицинской библиотеке:

<http://www.femb.ru>

Подписной индекс: в каталоге агентства «Пресса России» – 29124

Цена: свободная

Заведующая редакцией: А.В. Седова

Редакторы-корректоры: И.С. Пигулевская, Л.А. Зелексон

Верстка: О.А. Юнина

Отпечатано: ООО «БЕАН»

Адрес: ул. Баррикад, д. 1, Нижний Новгород, 603003, Россия

Формат 60х90 1/8.

Печать офсетная. Тираж 1000 экз.

SECHENOV MEDICAL
JOURNAL

SCIENTIFIC AND PRACTICAL MEDICAL JOURNAL

265 лет

СЕЧЕНОВСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
НАУК О ЖИЗНИ

Focus and Scope

The Sechenov Medical Journal is committed to presenting important scientific achievements in the field of biomedical sciences, fundamental and clinical medicine, increasing the authority of the Russian medical science by improving the quality of scientific publications.

The academic and clinical Sechenov Medical Journal publishes articles related to the issues of medical and biological sciences, clinical medicine. The information contained in Sechenov Medical Journal is intended for healthcare professionals only.

Editor-in-Chief

Peter V. Glybochko – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Rector of Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-5541-2251>, Scopus Author ID: 26435273000

Deputy Editor-in-Chief

Denis V. Butnaru – MD, PhD, Associate Professor, Vice-rector (Scientific and International Affairs), Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-2173-0566>, Scopus Author ID: 1575889100

Editor of the issue

Sergey L. Kuznetsov – MD, PhD, DMSc, Corresponding member of the RAS, Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, Scopus Author ID: 27267733100

Scientific Editors

Maria Yu. Nadinskaia – MD, PhD, Associate Professor, Head of Publishing Center, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-1210-2528>, Scopus Author ID: 6507949442

Nataliya V. Eberle – MD, Scientific Editor of Publishing Center, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0009-0006-6165-8983>

Executive Secretary

Svetlana S. Kardasheva – MD, PhD, Associate Professor, Department of Internal Medicine Propaedeutics, Gastroenterology and Hepatology, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-5116-2144>, Scopus Author ID: 57212196771

Editorial Council

• **Elena Aikawa** – MD, PhD, Associate Professor of Medicine Harvard Medical School (Boston, USA); <https://orcid.org/0000-0001-7835-2135>, Scopus Author ID: 55303859000 • **Goran B. Bjelaković** – MD, DMSc, Professor, University of Nis (Nis, Serbia); <https://orcid.org/0000-0002-3796-9945>, Scopus Author ID: 34567603700 • **Elvira Grandone** – MD, PhD, Professor, Hospital Casa Sollevo della Sofferenza (San Giovanni Rotondo, Italy); <https://orcid.org/0000-0002-8980-9783>, Scopus Author ID: 7006391091 • **Marina Yu. Kapitonova** – MD, PhD, DMSc, Professor, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak (Kota Samarahan, Malaysia); <https://orcid.org/0000-0001-6055-3123>, Scopus Author ID: 8854275100 • **Oleg D. Myadelets** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Vitebsk State Order of Friendship of Peoples Medical University (Vitebsk, Belarus); <https://orcid.org/0000-0001-8796-052X>, Scopus Author ID: 55790984400 • **Savvas Petanidis** – PhD, Research Assistant, Aristotle University of Thessaloniki (Thessaloniki, Greece); <https://orcid.org/0000-0001-7482-6559>, Scopus Author ID: 55362289600 • **Giuseppe Rizzo** – MD, Professor and Chairman, University of Rome Tor Vergata, Department of Obstetrics and Gynecology, Fondazione Policlinico Tor Vergata (Rome, Italy); <https://orcid.org/0000-0002-5525-4353>, Scopus Author ID: 7102724281 • **Hugo E. Saner** – MD, DMSc, Professor, University of Bern (Bern, Switzerland); <https://orcid.org/0000-0002-8025-7433>, Scopus Author ID: 55835032800 • **Andrey A. Svistunov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Corresponding Member of RAS, First Vice-rector, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); Scopus Author ID: 55578030700 • **Aldo Spallone** – MD, PhD, Professor of Neurosurgery, Department Director, Neurological Centre of Latium NCL (Rome, Italy); <https://orcid.org/0000-0002-7017-1513>, Scopus Author ID: 7005531516 • **Vladimir Jakovljevic** – MD, PhD, DMSc, Professor, Dean of the Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac (Serbia); <https://orcid.org/0000-0002-0071-8376>, Scopus Author ID: 56425747600

Editorial Board

• **Vladimir B. Anik** – MD, PhD, Professor of Thoracic Surgery and Consultant Thoracic Surgeon, The Royal Brompton & Harefield NHS Foundation Trust, Harefield Hospital (London, UK); Scopus Author ID: 7005592092 • **Oleg B. Blyuss** – PhD, Research Associate, Queen Mary University of London (London, UK); <https://orcid.org/0000-0002-0194-6389>, Scopus Author ID: 56020531500 • **Sergey B. Bolevich** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of Pathology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-1574-477X>, Scopus Author ID: 6603144931 • **Alexey A. Zaikin** – PhD, Professor of Systems Medicine and Applied Mathematics, University College London (London, UK); <https://orcid.org/0000-0001-7540-1130>, Scopus Author ID: 7103103296 • **Angelina V. Zorkina** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of Department of Outpatient Polyclinic Therapy, National Research Mordovia State University (Saransk, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-6815-6015>, Scopus Author ID: 6508247780 • **Vladimir T. Ivashkin** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Department of Internal Medicine Propaedeutics, Gastroenterology and Hepatology, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-5116-2144>, Scopus Author ID: 57201595785 • **Airazat M. Kazaryan** – MD, PhD, Professor of Surgery, Oslo University Hospital (Oslo, Norway); <https://orcid.org/0000-0001-9960-0820>, Scopus Author ID: 7003922201 • **Sergey L. Kuznetsov** – MD, PhD, DMSc, Corresponding member of the RAS, Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, Scopus Author ID: 27267733100 • **Alexander D. Makatsariya** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Obstetrics and Gynaecology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>, Scopus Author ID: 6602363216 • **J. McFarland** – Associate Professor, Autonomous University of Madrid (Madrid, Spain); <https://orcid.org/0000-0003-3994-4570>, Scopus Author ID: 57203783686 • **L. Mastronardi** – Head of the Division of Neurosurgery, San Filippo Neri Hospital (Rome, Italy); <https://orcid.org/0000-0003-0105-5786>, Scopus Author ID: 56228961100 • **Daniel B. Munblit** – MD, MSc, PhD, Honorary Senior Lecturer, Imperial College London (London, UK); <https://orcid.org/0000-0001-9652-6856>, Scopus Author ID: 55233686800 • **Dmitrii A. Napalkov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Faculty Therapy Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-6241-2711>, Scopus Author ID: 7801384884 • **Chavdar S. Pavlov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Head of Therapy Department, Head of Center for Evidence-Based Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-5031-9798>, Scopus Author ID: 57196355076 • **Sergey V. Pirozhkov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Pathophysiology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-7116-3398>, Scopus Author ID: 7004383734 • **Igor V. Reshetov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Oncology, Radiotherapy and Plastic Surgery Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-0909-6278>, Scopus Author ID: 6701353127 • **Marina I. Sekacheva** – MD, PhD, DMSc, Professor, Director of the Institute of Personalized Medicine of Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-0015-7094>, Scopus Author ID: 24342526600 • **Alexander N. Strizhakov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Head of Obstetrics, Gynaecology and Perinatology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-7718-7465>, Scopus Author ID: 7005104683 • **Albert A. Sufianov** – MD, PhD, DMSc, Professor, Corresponding member of RAS, Head of Federal Center of Neurosurgery (Tyumen, Russia); <https://orcid.org/0000-0001-7580-0385>, Scopus Author ID: 6603558501 • **Gennadiy T. Sukhikh** – MD, PhD, DMSc, Professor, Academician of RAS, Director of Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (Moscow, Russia); <https://orcid.org/0000-0003-0214-1213>, Scopus Author ID: 7005776727 • **Alexander S. Shershever** – MD, PhD, DMSc, Professor, Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary (Yekaterinburg, Russia); <https://orcid.org/0000-0002-8515-6017>, Scopus Author ID: 7006207122

Founded: the journal has been published since 2010.

Frequency: quarterly

DOI Prefix: 10.47093

Mass Media Registration Certificate: PI No FS77-78884 as of 28 August 2020 issued by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor).

Distribution: content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License

Founder, Publisher, Editorial Office: Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

Address: 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991

Editorial office phone number: +7 (905) 517-27-99

Website: <https://www.sechenovmedj.com/jour>

E-mail: sechenovmedj@staff.sechenov.ru

Published: 28.09.2023

Copyright: © Sechenov Medical Journal, 2023

Indexation: the Journal is included in the index of periodical publications recommended by the State Commission for Academic Degrees and Titles, and in the Russian Science Citation Index database

The Journal is available in the Federal Electronic Medical Library: <http://www.femb.ru>

Subscription index in the Russian Press Agency catalog – 29124.

Price: flexible

Managing Editor: Alla V. Sedova

Editors-proofreaders: Irina S. Pigulevskaya, Lev A. Zelexon

Page layout: Olga A. Yunina

Printed by LLC BEAN

Address: 1, Barrikad str., Nizhny Novgorod, 603003, Russia
Format 60x90 1/8. Off set print. Print run 1000 copies.

СОДЕРЖАНИЕ

ОТ РЕДАКЦИИ

КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

О.В. Паюшина, Д.А. Цомартова, Е.В. Черешнева, М.Ю. Иванова, С.Г. Мухамедова, М.С. Павлова, С.Л. Кузнецов

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОГЛИИ В ЭПИЦЕНТРЕ И В УДАЛЕННОЙ ОТ ТРАВМЫ ОБЛАСТИ ПРИ КОНТУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СПИННОГО МОЗГА У МИНИ-СВИНЬИ

Р.Р. Гарифулин, А.А. Измайлов, В.А. Маркосян, И.С. Миняева, В.В. Валиуллин, Р.Р. Исламов

ВОЗРАСТНОЕ РАЗВИТИЕ СОМАТОСТАТИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ СИМПАТИЧЕСКИХ ПРЕВЕРТЕБРАЛЬНЫХ УЗЛОВ

А.И. Емануйлов, В.В. Порсева, А.В. Павлов, П.М. Маслюков

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ НЕСЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА NO-СИНТАЗЫ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ НА РАЗВИТИЕ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ДВАДЦАТИСУТОЧНЫХ КРЫСЯТ

Т.С. Русак, Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, А.Д. Бернацкая, А.С. Кусмарцева

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ НАРУЖНОГО СФИНКТЕРА ПРЯМОЙ КИШКИ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНДРОГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

А.С. Пронина, Г.Н. Суворова, Н.Н. Вологодина

CONTENT

4 EDITORIAL

CELL BIOLOGY, CITOTOLOGY, HISTOLOGY

7 WAYS TO INCREASE THE REGENERATIVE POTENTIAL OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS

Olga V. Payushina, Dibakhan A. Tsomartova, Elizaveta V. Cheresheva, Marina Yu. Ivanova, Svetlana G. Mukhamedova, Mariya S. Pavlova, Sergey L. Kuznetsov

19 FEATURES OF NEUROGLIA AT THE EPICENTER OF SPINAL CORD CONTUSION INJURY AND AT DISTANT AREAS IN MINI-PIGS

Ravil R. Garifulin, Andrey A. Izmailov, Vage A. Markosyan, Irina S. Minyazeva, Victor V. Valiullin, Rustem R. Islamov

28 AGE-DEPENDENT PATTERNS OF SOMATOSTATINERGIC NEURONS IN SYMPATHETIC PARAVERTEBRAL GANGLIA

Andrey I. Emanuilov, Valentina V. Porseva, Alexei V. Pavlov, Petr M. Masliukov

37 EFFECT OF NON-SELECTIVE NO-SYNTHASE INHIBITOR ADMINISTERED DURING PREGNANCY ON THE DEVELOPMENT OF THE CEREBRAL CORTEX IN 20-DAY-OLD RAT PUPS

Tatiana S. Rusak, Nataliya E. Maksimovich, Elizaveta I. Bon, Anna D. Bernatskaya, Angelina S. Kusmartseva

45 EXPERIMENTAL ANDROGEN DEFICIENCY AND ASSOCIATED STRUCTURAL CHANGES IN THE MUSCLE TISSUE OF THE EXTERNAL ANAL SPHINCTER

Antonina S. Pronina, Galina N. Suvorova, Natalya N. Vologdina

Уважаемые коллеги, дорогие друзья!

В 2023 году Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова празднует 265 лет!

На протяжении всей своей деятельности Университет является флагманом высших научных достижений и занимает лидирующие позиции на российском и мировом рынках образовательных услуг, воспитывает поколения врачей с большой буквы, следуя девизу «Первый среди равных».

Мы гордимся нашим историческим наследием – многовековыми традициями медицинского факультета Императорского Московского университета, которые включали в себя безупречную репутацию, профессионализм, междисциплинарный подход, строгие этические и нравственные принципы.

Сеченовский Университет является alma mater для выдающихся деятелей отечественной медицины разных эпох. И сегодня, как и на протяжении более двух с половиной веков, ученые и врачи с мировым именем щедро передают свои знания и опыт следующим поколениям.

По счастливому совпадению в дни празднования юбилея Университета выходит юбилейный – 50-й номер нашего журнала, который мы предлагаем вашему вниманию. Это результат работы блестящих специалистов, выступивших его авторами, а также высокопрофессионального редакционного коллектива, скрупулезно, ответственно и с полной отдачей готовящего каждый выпуск.

Нам есть чем гордиться: «Сеченовский вестник» издается четырнадцать лет, непрерывно развиваясь и совершенствуясь. Он с честью выполняет изначально взятую на себя миссию предоставлять современную информацию по актуальным вопросам фундаментальных и клинических наук, а также о лучших клинических практиках. Мы уверенно владеем всем арсеналом классических и новейших публикационных форматов, включая современные медиатеchnологии, открыты для разнообразных научных жанров, передаем уникальный опыт известных врачей и ученых и создаем тематические спецвыпуски с привлечением авторитетных экспертов мирового уровня.

*Главный редактор —
д.м.н., профессор, академик РАН,
ректор Сеченовского Университета;
Председатель Совета ректоров медицинских
и фармацевтических вузов России;
Вице-президент Российского Союза ректоров;
Сопредседатель Российско-китайской ассоциации
медицинских университетов*



Знаменательно, что в разгар подготовки юбилейного номера журнал получил признание мирового сообщества: вошел в международную наукометрическую базу Scopus.

Полагаю, не будет преувеличением утверждать, что сегодняшний «Сеченовский вестник» – больше, чем просто журнал. Это открытая платформа, объединяющая усилия исследователей, экспертов и практикующих специалистов в разных областях медицины с целью ответа на острые вопросы и вызовы современности. Журнал будет развиваться и дальше, ориентируясь на новые направления наук о жизни. При этом наше особое внимание уделяется молодым исследователям, за которыми будущее науки и медицины.

На протяжении всей истории человечества образ врача неотделим от образа исследователя и в совокупности с высшими нравственными началами олицетворяет защиту и опору самой жизни. Весь коллектив Сеченовского Университета искренне стремится соответствовать этой высокой миссии!

П.В. Глыбочко

Dear colleagues, dear friends!

In 2023, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University celebrates 265 years!

Throughout the whole time of its activity the University has been a flagship of the highest scientific achievements and occupies a leading position in the Russian and world markets of educational services educating generations of Doctors with a Capital Letter, following the motto "First among equals".

We are proud of our historical heritage – the centuries-old traditions of the Medical Faculty of Imperial Moscow University that includes impeccable reputation, expertise, interdisciplinary approach, strict ethical and moral principles.

Sechenov University is Alma Mater for outstanding figures of the Russian medicine of different historical periods. And today, as for more than two and a half centuries, world-known scientists and doctors generously pass their knowledge and experience to the next generations. By a lucky coincidence, during the celebration of the University's Anniversary, the 50th Anniversary issue of our Sechenov Medical Journal is published – and we offer it to your attention. It is a work result of brilliant specialists who acted as its authors, as well as a highly professional editorial board that carefully, responsibly and with a full dedication prepare each issue of the Medical Journal.

We have a lot to be proud of: Sechenov Medical Journal has been published for fourteen years, continuously developing and improving. It honorably

fulfills its original mission to provide up-to-date information on topical issues of fundamental and clinical sciences, as well as on the best clinical practices. We are confidently mastering the entire arsenal of classic and latest publication formats, including modern media technologies, are open to a variety of scientific genres, transfer the unique experience of famous physicians and scientists and create thematic special issues with the involvement of authoritative world-class experts. It is a significant fact that during the preparation of the anniversary issue the Journal was recognized by the world community by entering the international scientific database Scopus.

I believe it is no exaggeration to say that today's Sechenov Medical Journal is more than just a journal. It is an open platform that unites the efforts of researchers, experts and practicing professionals in different fields of medicine in order to answer acute questions and challenges of our time. The journal will continue to evolve further, focusing on new areas of life sciences. At the same time, our special attention is paid to young researchers, who are the future of science and medicine.

Throughout the history of mankind, the image of a doctor is inseparable from the image of a researcher and, together with the highest moral principles, represents the defense and support of life itself. The entire staff of Sechenov University sincerely strives to fulfill this high mission!

*Editor-in-Chief,
Dr. of Sci. (Medicine), Professor,
member of the Russian Academy of Sciences,
Rector of Sechenov University;
Chairman of the Association "Council of Rectors
of Medical and Pharmaceutical Educational
Institutes of Russia";
Vice-President of the Russian Union of Rectors;
Co-Chairman of the Sino-Russian Association
of Medical Universities*



Petr V. Glybochko

Уважаемые коллеги!

Мы рады представить вашему вниманию специальный выпуск журнала «Сеченовский вестник», посвященный вопросам гистологии и клеточной биологии, а также смежных дисциплин.

Гистология и клеточная биология являются фундаментальными разделами медицинской науки, открывающими перед учеными почти безграничный потенциал для исследования. Практическая значимость новых разработок в этой области не может быть переоценена: знание о структуре всегда неразрывно связано с пониманием нормальной функции и возможных механизмов ее нарушения.

Данный выпуск включает в себя обзорные и экспериментальные работы по особенностям структурно-функционального состояния различных органов и тканей: строению центральной и периферической нервной систем в норме и при различных воздействиях; путям повышения регенеративного потенциала мезенхимных стромальных клеток; структурным изменениям мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки на фоне гипогонадизма.

Важно отметить, что этот номер выходит в дни празднования 265-летнего юбилея нашего университета, выпускник которого русский гистолог, эмбриолог и физиолог Александр Иванович Бабухин (1827–1891 гг.) посвятил свою жизнь становлению и развитию московской гистологической школы.

И сегодня, в условиях научно-технического прогресса и доступности новейших методов диагностики, морфологические исследования не только не теряют своей актуальности, но, активно развиваясь, позволяют построить множество междисциплинарных взаимосвязей, без которых немислим научный рост.

Надеемся, что содержание данного тематического номера окажется полезным не только с позиции понимания строения органов и тканей человека, но и сподвигнет на развитие этого важнейшего научного направления.

Dear Colleagues!

We are pleased to present to your attention a special issue of the Sechenov Medical Journal, dedicated to histology and cell biology, as well as related disciplines.

Histology and cell biology are fundamental branches of medical science, opening almost limitless research potential for scientists. The practical significance of new developments in this area cannot be overestimated: knowledge of structure is always inextricably linked with an understanding of normal function and possible mechanisms for its violation.

This issue presents reviews and experimental research focusing on the structure and function of various organs and tissues: the structure of the central and peripheral nervous system in normal conditions and under various factors; ways to increase the regenerative potential of mesenchymal stromal cells; structural changes in the muscle tissue of the external sphincter of the rectum against the background of hypogonadism.

It is important to note that this issue is published during the celebration of the 265th anniversary of our university, whose graduate, Russian histologist, embryologist, and physiologist Alexander Babukhin (1827–1891) devoted his life to the formation and development of the Moscow Histological School.



Кузнецов Сергей Львович

доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН,
академик РАЕН,
член Президиума Научного медицинского общества
анатомов, гистологов и эмбриологов России,
профессор кафедры анатомии и гистологии человека
Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского
ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
(Сеченовский Университет)

And today, in the context of scientific and technological progress and the availability of the latest diagnostic methods, morphological studies not only stay completely relevant but continue to actively develop, allow us to build many interdisciplinary relationships, without which scientific growth is unthinkable.

We hope that the content of this theme issue will be useful not only from the standpoint of understanding the structure of human organs and tissues but will also encourage the development of this one of the most important scientific disciplines.

Sergey L. Kuznetsov

Dr. of Sci. (Medicine), Corresponding Member
of the Russian Academy of Sciences, Academician
of the Russian Academy of Natural Sciences, Member
of the Presidium of the Scientific Medical Society of Anatomists,
Histologists and Embryologists of Russia,
Professor of the Department of Human Anatomy and
Histology, Institute of Clinical Medicine
named after N.V. Sklifosovsky, Sechenov First Moscow State
Medical University (Sechenov University)

Обзор / Review

УДК 616-003.93-085(048)

<https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.7-18>

Пути повышения регенеративного потенциала мезенхимных стромальных клеток

О.В. Паюшина[✉], Д.А. Цомартова, Е.В. Черешнева, М.Ю. Иванова,
С.Г. Мухамедова, М.С. Павлова, С.Л. Кузнецов

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет

им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119991, Россия

Аннотация

Способность мезенхимных стромальных клеток (МСК) мигрировать в тканевые дефекты и стимулировать регенерацию делает их ценным ресурсом для клеточной терапии. Однако во многих случаях культивирование *in vitro* и влияние патологического микроокружения в организме пациента снижают жизнеспособность и терапевтическую эффективность МСК, поэтому их регенеративный потенциал нуждается в усилении. Преколонизирование гормонами, цитокинами, различными химическими или физическими факторами, культивированием в трехмерном окружении или при пониженном содержании кислорода позволяет повысить способность МСК заселять поврежденную ткань, выживать в ней и продуцировать регуляторные молекулы для регенерации. Тех же целей можно достичь путем генетической модификации МСК. Кроме того, с помощью трансфицированных МСК возможна доставка в ткань генов, необходимых для лечения наследственных или онкологических заболеваний. Наконец, альтернативой, позволяющей избежать снижения терапевтического потенциала трансплантируемых в последующем МСК при культивировании, может служить стимуляция миграции эндогенных клеток пациента из тканевых ниш через системный кровоток в область повреждения. Разработка перечисленных подходов открывает путь к повышению эффективности использования МСК в регенеративной медицине.

Ключевые слова: регенеративная медицина; клеточная терапия; преколонизирование; генетическая модификация; мобилизация клеток; миграция клеток; хемоаттрактанты

Рубрики Mesh:

МЕДИЦИНА РЕГЕНЕРАТИВНАЯ – МЕТОДЫ

СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЕЗЕНХИМНЫХ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ – МЕТОДЫ

ОБЗОР

Для цитирования: Паюшина О.В., Цомартова Д.А., Черешнева Е.В., Иванова М.Ю., Мухамедова С.Г., Павлова М.С., Кузнецов С.Л. Пути повышения регенеративного потенциала мезенхимных стромальных клеток. Сеченовский вестник. 2023; 14(3): 7–18. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.7-18>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Паюшина Ольга Викторовна, д-р биол. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

Адрес: ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119991, Россия

Тел.: +7 (926)505-84-27

E-mail: payushina@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

Поступила: 30.06.2023

Принята: 09.08.2023

Дата публикации: 28.09.2023

Ways to increase the regenerative potential of mesenchymal stromal cells

Olga V. Payushina[✉], Dibakhan A. Tsomartova, Elizaveta V. Cheresheva,
Marina Yu. Ivanova, Svetlana G. Mukhamedova, Mariya S. Pavlova, Sergey L. Kuznetsov
Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

Abstract

The ability of mesenchymal stromal cells (MSCs) to migrate into tissue defects and stimulate regeneration makes them a valuable resource for cell therapy. However, in many cases, *in vitro* cultivation and the influence of the pathological microenvironment in the patient's body reduce the viability and therapeutic efficacy of MSCs, so their regenerative potential needs to be strengthened. Preconditioning with hormones, cytokines, various chemical or physical factors, cultivation in a three-dimensional environment or at a reduced oxygen content improves the ability of MSCs to colonize damaged tissue, survive in it, and produce regulatory molecules for regeneration. The same goals can be achieved by genetic modification of MSCs. In addition, with the help of transfected MSCs, it is possible to deliver genes necessary for the treatment of hereditary or oncological diseases into the tissue. Finally, an alternative to avoid a decrease in the therapeutic potential of subsequently transplanted MSCs during cultivation can be stimulation of the migration of endogenous patient cells from tissue niches through the systemic circulation to the area of damage. The development of these approaches opens the way to increasing the efficiency of using MSCs in regenerative medicine.

Keywords: regenerative medicine; cell therapy; preconditioning; genetic modification; cell mobilization; cell migration; chemoattractants

MeSH terms:

REGENERATIVE MEDICINE – METHODS

MESENCHYMAL STEM CELL TRANSPLANTATION – METHODS

REVIEW

For citation: Payushina O.V., Tsomartova D.A., Cheresheva E.V., Ivanova M.Yu., Mukhamedova S.G., Pavlova M.S., Kuznetsov S.L. Ways to increase the regenerative potential of mesenchymal stromal cells. *Sechenov Medical Journal*. 2023; 14(3): 7–18. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.7-18>

CONTACT INFORMATION

Olga V. Payushina, Dr. of Sci. (Biology), Associate Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

Address: 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

Tel.: +7 (926) 505-84-27

E-mail: payushina@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

Financial support. The study was not sponsored (own resources).

Received: 30.06.2023

Accepted: 09.08.2023

Date of publication: 28.09.2023

Список сокращений:

МСК – мезенхимные стромальные клетки

Bcl-2 – B-cell lymphoma 2, регулятор апоптоза белок В-клеточной лимфомы-2

bFGF – Basic fibroblast growth factor, основной фактор роста фибробластов

BMP-2 – Bone morphogenetic protein-2, костный морфогенетический белок-2

EGF – Epidermal growth factor, эпидермальный фак-

тор роста

ERK – Extracellular signal-regulated kinase, киназа, регулируемая внеклеточными сигналами

G-CSF – Granulocyte colony-stimulating factor, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

GM-CSF – Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

HGF – Hepatocyte growth factor, фактор роста гепатоцитов
 IGF-1 – Insulin-like growth factor-1, инсулиноподобный фактор роста
 ILK – Integrin-linked kinase, интегрин-связанная киназа
 NO – оксид азота
 AKT – protein kinase B, протеинкиназа B (более подробно о происхождении аббревиатуры AKT см. в сноске)¹
 O₂ – кислород
 PDGF – Platelet-derived growth factor, тромбоцитарный фактор роста
 PI3K – Phosphoinositide 3-kinase, фосфоинозитид-3-киназа
 RhoA – Ras homolog family member A, член семей-

ства гомологов Ras A
 ROCK – Rho-associated coiled-coil kinase, Rho-ассоциированная спиральная киназа
 SDF-1 – Stromal cell-derived factor-1, фактор стромального происхождения-1
 TGF-β – Transforming growth factor-β, трансформирующий фактор роста-β
 TNF-α – Tumor necrosis factor alpha, фактор некроза опухолей альфа
 TRAIL – Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, родственник фактору некроза опухоли апоптоз-индуцирующий лиганд
 VEGF – Vascular endothelial growth factor, сосудистый эндотелиальный фактор роста

КЛЮЧЕВЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ	HIGHLIGHTS
Мезенхимные стромальные клетки представляют собой перспективный ресурс для клеточной терапии, однако во многих случаях их способность стимулировать регенерацию тканей нуждается в усилении.	Mesenchymal stromal cells are a promising resource for cell therapy, but in many cases their ability to stimulate tissue regeneration needs to be improved.
Преко кондиционирование мезенхимных стромальных клеток, направленное на модификацию свойств клеток, адаптацию к микроокружению поврежденной ткани или активацию определенных сигнальных путей, позволяет повысить их выживаемость в неблагоприятных условиях в организме реципиента и терапевтическую эффективность.	Preconditioning of mesenchymal stromal cells, aimed at modification of cell properties, adapting to the damaged tissue microenvironment, or activating certain signaling pathways, can increase their survival in the recipient's body and therapeutic efficacy.
С помощью генетической модификации повышают способность мезенхимных стромальных клеток заселять поврежденные ткани и продуцировать факторы, способствующие регенерации.	The ability of mesenchymal stromal cells to engraft in damaged tissues and produce factors promoting regeneration can also be enhanced by their genetic modification.
Преко кондиционирование и генетическая модификация позволяют не только усилить прорегенеративные свойства мезенхимных стромальных клеток, но и изменить их в необходимом направлении.	Both preconditioning and genetic modification of mesenchymal stromal cells make it possible not only to improve their pro-regenerative properties but also to change them in the required direction.
Альтернативой трансплантации размноженных <i>in vitro</i> донорских или аутологичных мезенхимных стромальных клеток может служить воздействие на эндогенные клетки пациента с целью их мобилизации в кровотоке и/или стимуляции миграции в область повреждения.	An alternative to transplantation of donor or autologous mesenchymal stromal cells can be an impact on patient's endogenous cells in order to mobilize them from tissue niches into the bloodstream and/or stimulate their migration into the site of injury.

Развитие регенеративной медицины, направленной на восстановление пораженных патологическим процессом ткани или органа, представляет собой одно из актуальных направлений медицинской науки. Перспективным ресурсом служат мезенхимные стромальные клетки (МСК). Это гетерогенная популяция стволовых клеток с фибробластоподобной морфологией и высоким пролиферативным потенциалом. Они обладают способностью к продукции биоактивных факторов и дифференцировке в различных направлениях [1]. МСК присутствуют во многих тканях и органах (в частности, в костном мозге, жировой ткани и пуповине), локализуясь прежде всего среди периваскулярных клеток [2], и могут быть

идентифицированы по адгезивности к культуральному пластику, присутствию поверхностных антигенов *CD73*, *CD90*, *CD105* при отсутствии *CD11b*, *CD14*, *CD19*, *CD34*, *CD45*, *CD79a* или *HLA-DR*, а также по наличию остеогенных, адипогенных и хондрогенных потенциалов [3].

Согласно современным представлениям, МСК являются не только предшественниками клеток различных соединительных тканей, но и универсальными регуляторами тканевого гомеостаза. Ценность МСК для регенеративной медицины обусловлена их способностью мигрировать в зоны повреждения тканей в ответ на выделяемые последними хемотаксические стимулы [4–6] и оказывать комплексное воздействие

¹ Xie J., Weiskirchen R. What Does the “AKT” Stand for in the Name “AKT Kinase”? Some Historical Comments. Front Oncol. 2020 Aug 11;10:1329. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01329>. PMID: 32850422

на все стадии процесса восстановления, главным образом за счет паракринной секреции широкого набора регуляторных молекул [7]. Терапевтические эффекты трансплантации аутологичных или донорских МСК, размноженных *in vitro*, исследуются в многочисленных клинических испытаниях, число которых только за период с 2015 по 2021 г. превышает 400 [7]. Терапия с помощью локального или системного введения МСК демонстрирует обнадеживающие результаты при иммуноконфликтных состояниях, заболеваниях сердца, нервной системы, опорно-двигательного аппарата, почек и в ряде других случаев [2, 7, 8]. В частности, противовоспалительные и иммуномодулирующие свойства МСК дают надежду на их успешное применение в лечении новой коронавирусной инфекции COVID-19, что подтверждается данными ряда клинических испытаний о снижении смертности и уменьшении выраженности симптомов у пациентов с тяжелой формой заболевания при терапии этими клетками [9].

Однако не во всех случаях трансплантация МСК пациентам дает ожидаемый терапевтический эффект. Отчасти это связано с тем, что в ходе культивирования *in vitro*, необходимого для наращивания клеточной массы с целью последующей трансплантации, МСК подвергаются репликативному старению, снижающему не только их пролиферативный потенциал, но и способность стимулировать регенеративные процессы. Подобные изменения свойств аутологичных МСК происходят также *in vivo* у пожилых пациентов [10]. Другая серьезная проблема – негативное влияние патологически измененного микроокружения на выживаемость МСК. Повреждение тканей, как правило, сопровождается развитием гипоксии, окислительного стресса, выделением эндогенных токсинов и воспалительных медиаторов. В этих условиях трансплантированные МСК преждевременно гибнут, не успевая в полной мере проявить свои про-регенеративные свойства [1].

Широкомасштабное использование МСК в клинической практике требует разработки методов, в наибольшей степени обеспечивающих сохранение их жизнеспособности и терапевтической эффективности. Эта цель может быть достигнута путем пре-кондиционирования или генетической модификации МСК в ходе их экспансии *in vitro* либо путем активации эндогенных МСК пациента без необходимости их выделения, культивирования и трансплантации в условиях сопутствующих проблем и ограничений. Рассмотрение данных подходов к повышению эффективности применения МСК в регенеративной медицине является целью настоящего обзора.

ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ *IN VITRO*

Под пре-кондиционированием понимают различные физические или фармакологические воздействия на организм с целью повышения его устойчивости

к повреждающим факторам (таким, как, например, гипоксия). Пре-кондиционированию могут быть подвергнуты и отдельные органы. Так, в работе Гаджиевой и соавторов [11] обработка изолированного сердца крысы креатинфосфатом перед индукцией ишемии оказывала защитное действие на сократительную способность миокарда. Применительно к клеткам пре-кондиционирование означает их культивирование в условиях, способствующих повышению их терапевтического потенциала при последующем введении пациенту. В случае МСК оно может быть направлено на повышение способности к миграции и адгезии, размножению и заполнению области дефекта (за счет усиления пролиферативной активности), а также на придание устойчивости к неблагоприятным условиям поврежденной ткани. Кроме того, пре-кондиционирование позволяет клеткам усилить секрецию цитокинов и иных регуляторных молекул и/или изменить в необходимом направлении спектр продуцируемых факторов. Эти цели могут быть достигнуты введением в состав среды гормонов, цитокинов или факторов роста, воздействием на клетки физическими факторами, культивированием в трехмерных условиях, при пониженном содержании кислорода (O_2) или в присутствии бактериальных токсинов и другими способами.

Можно выделить три основные стратегии пре-кондиционирования МСК.

Стратегия 1. Создание наиболее физиологичных условий культивирования, воспроизводящих естественное микроокружение МСК.

Этот подход направлен на то, чтобы наилучшим образом сохранить свойства клеток, присущие им в организме и теряющиеся при культивировании в стандартных условиях. В частности, в обычной монослойной культуре не удается в полной мере воспроизвести контактные взаимодействия клеток между собой и с внеклеточным матриксом, существующие в трехмерном окружении их тканевых ниш. Культивирование МСК в виде сфероидов, в определенной степени имитирующее это окружение, приводит к усиленной экспрессии маркеров стволовых клеток [12], ангиогенных, антиапоптотических и противовоспалительных факторов [12–14], повышению устойчивости к окислительному стрессу [14] и потенций к дифференцировке [15]. В экспериментах *in vivo* сфероиды МСК демонстрируют более высокую способность выживать в организме реципиента [13, 16] и улучшать состояние поврежденных органов [12, 13, 16], чем суспензии клеток из монослойных культур.

Для пре-кондиционирования МСК используют и различные гуморальные регуляторы их активности, в частности: основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF), эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF), тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived

growth factor, PDGF), инсулиноподобный фактор роста-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1). Они стимулируют пролиферацию и миграцию МСК [17–19], а bFGF, кроме того, препятствует их старению *in vitro* [20]. Известно также, что под действием bFGF [21] и EGF [22] МСК усиленно продуцируют регуляторные молекулы, стимулирующие регенеративные процессы. После культивирования в присутствии этих факторов МСК, трансплантированные экспериментальным животным, демонстрируют повышенную терапевтическую эффективность. Например, на модели инфаркта миокарда показано усиленное функциональное восстановление сердца в случае preconditionирования МСК PDGF [23], а также bFGF и IGF-1 [24], а МСК, обработанные EGF, эффективнее стимулировали ангиогенез и восстанавливали кровоснабжение в областях ишемии конечностей [25]. Повышение регенеративного потенциала МСК может быть достигнуто и с помощью фактора роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF), трансформирующего фактора роста- β (transforming growth factor- β , TGF- β), фактора стромального происхождения-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1), мелатонина, окситоцина и др. [26].

Важной особенностью тканевого микроокружения МСК является низкое содержание O_2 – от 1 до 14% [10]. Таким образом, стандартные условия культивирования при 20–21% O_2 не оптимальны. Снижение содержания O_2 до физиологических величин (от 1 до 5%) повышает генетическую стабильность культивируемых МСК, их пролиферативный потенциал и способствует миграции, лучшему выживанию, сохранению недифференцированного статуса, усилению продукции цитокинов и факторов роста [1, 10, 27–29], подавлению процессов репликативного старения [30] и снижению чувствительности к окислительному стрессу [31]. После трансплантации животным-реципиентам такие МСК лучше приживаются в патологически измененных тканях, в частности при повреждении мышц [29], ишемии нижних конечностей [27] и головного мозга [28].

Стратегия 2. Культивирование в стрессовых условиях.

В известной степени противоположный предыдущему, этот подход направлен на адаптацию МСК к неблагоприятным условиям микроокружения. Он включает культивирование в условиях жесткой гипоксии (менее 1% O_2) [1], повышенной температуры (выше стандартных +37 °C) [10], дефицита сыrovоротки [32] или глюкозы [10], в присутствии перекиси водорода [33], бактериальных эндотоксинов [34] и провоспалительных цитокинов [35–37], воздействия ультрафиолетовым [38] или лазерным [39] излучением. Культивирование позволяет повысить устойчивость клеток к апоптозу [10, 34, 38, 40], пролиферацию [10], миграцию [38] и секреторную активность [10, 33, 36–40], предупредить старение [10].

Варьируя набор стрессовых условий, можно воспроизвести особенности микроокружения при конкретном заболевании и получить МСК со свойствами, необходимыми для его лечения. Так, ишемическое микроокружение с характерными тканевой гипоксией и окислительным стрессом может быть смоделировано добавлением в культуру перекиси водорода или снижением содержания O_2 до 0,5% – preconditionированные этими условиями МСК усиленно стимулируют ангиогенез при инфаркте миокарда [33, 40]. Культивирование МСК с бактериальными липополисахаридами [34] или интерфероном- γ [35], в том числе при его сочетании с интерлейкином-1 β [36] или фактором некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) [37], придает клеткам противовоспалительные свойства, которые проявляются, в частности на моделях сепсиса [34] и колита [35]. При добавлении в культуральную среду экстракта поврежденной мозговой ткани МСК усиливают продукцию сигнальных молекул, стимулирующих нейрогенез и восстановление когнитивных функций у крыс с травмой головного мозга [41].

Стратегия 3. Направленное изменение характеристик МСК.

Придание клеткам необходимых свойств для повышения их эффективности в лечении тех или иных заболеваний возможно не только путем имитации *in vitro* патологического микроокружения, но и с помощью фармакологических агентов, воздействующих на внутриклеточные сигнальные пути. Показано, например, что preconditionирование S-нитрозо-N-ацетилпеницилламином как донором оксида азота (NO) улучшает выживание МСК в культуре и приживление в зоне ишемии почки посредством активации внутриклеточного сигнального пути, центральными компонентами которого являются ферменты фосфоинозитид-3-киназа (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) и протеинкиназа B (АКТ) [42], а обработка клеток полирибонуклеотидовой кислотой, являющейся лигандом Toll-подобного рецептора-3, через активацию пути Notch-1 повышает иммуносупрессивные свойства МСК на экспериментальной модели колита [43]. Эффект аторвастатина, повышающего терапевтическую эффективность и приживление МСК в поврежденном миокарде, связан с ингибированием сигналинга через член семейства гомологов Ras A (Ras homolog family member A, RhoA) / Rho-ассоциированную спиральную киназу (Rho-associated coiled-coil kinase, ROCK)/киназу, регулируемую внеклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinase, ERK) [44] и активацией NO-синтазы [45].

В тех случаях, когда прорегенеративный эффект МСК связан не только с их паракринной активностью, но и с замещением погибших клеток ткани путем дифференцировки, МСК могут быть обработаны индукторами *in vitro*. По некоторым данным, такие

клетки демонстрируют повышенную способность к образованию костной ткани в организме реципиента [46] и заживлению дефектов хряща [47].

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ

В экспериментальных исследованиях изучается возможность повышения и направленного изменения терапевтического потенциала МСК методами генетической инженерии. Для введения дополнительных генов в МСК могут быть использованы как векторы на основе аденовирусов, лентивирусов и ретровирусов, так и невирусные системы доставки ДНК с помощью плазмид, полимеров, липосом, методом электропорации, а также технологии редактирования генома *CRISPR/Cas9* [26, 48]. Как и preconditionирование, генетическая модификация повышает выживаемость МСК и способность заселять поврежденные ткани в организме пациента. МСК, трансфицированные генами, кодирующими регулятор апоптоза белок В-клеточной лимфомы-2 (B-cell lymphoma 2, Bcl-2) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF), менее склонны к апоптозу в ишемическом микроокружении [49], а трансдуцированные геном каталазы более устойчивы к окислительному стрессу [50]. Важную роль в миграции МСК в тканевой дефект играет взаимодействие с хемокином SDF-1, усиленно продуцируемым в поврежденных тканях, через рецептор CXCR4 [5, 6].

Генетическая модификация МСК позволяет повысить их регенеративный потенциал за счет усиления продукции цитокинов и факторов роста. Так, МСК, сверхэкспрессирующие CXCR4, активнее заселяют ткани реципиента и стимулируют регенерацию, в частности на моделях инфаркта миокарда [51] и воспалительных заболеваний кишечника [52]. МСК, сверхэкспрессирующие VEGF, с высокой эффективностью стимулируют ангиогенез, например в области инфаркта головного мозга [53]. Внедрение в МСК гена костного морфогенетического белка-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) усиливает остеогенные потенциалы как *in vitro*, так и *in vivo* на модели трансплантации в костные дефекты критического размера [54]. Ускорение регенерации костной ткани за счет стимуляции остео- и ангиогенеза показано также на примере трансплантации МСК, трансфицированных геном *bFGF* [55]. Повышенная терапевтическая эффективность МСК, сверхэкспрессирующих ген *PDGF*, была отмечена на модели остеонекроза [56], сверхэкспрессирующих ген *IGF-1* – на модели остеоартрита [57], а клетки, трансфицированные геном *HGF*, улучшали состояние печени при циррозе [58].

Удержание трансплантированных МСК в зоне дефекта можно усилить и путем введения в них генов, контролирующей адгезию к компонентам внеклеточного матрикса, – например интегрин-связанной

киназы (integrin-linked kinase, ILK) [59]. Кроме того, модифицированные МСК могут служить средством доставки в ткань материала, необходимого для коррекции генетических дефектов при наследственных заболеваниях: генов, кодирующих $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -цепи коллагена I типа *COL1A1* и *COL1A2*, для лечения несовершенного остеогенеза [60]; гена фактора свертывания VIII для лечения гемофилии [61] и др.

Клетки, трансфицированные геном интерлейкина-10, обладают усиленной способностью подавлять иммунные реакции, в частности отторжение аллотрансплантатов роговицы [62]. Ведутся исследования применимости МСК в генной терапии онкологических заболеваний, позволяющей за счет тропности к опухолям адресно доставлять гены с противоопухолевой активностью. МСК могут быть трансфицированы генами цитокинов, усиливающих иммунный ответ, таких как интерферона- β [63], или родственного фактору некроза опухоли апоптоз-индуцирующего лиганда (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL), вызывающего гибель опухолевых клеток [64], либо ферментов бактериальной цитозиндезаминазы или вирусной тимидинкиназы, катализирующих образование цитотоксических веществ [65]. Способность генетически модифицированных МСК подавлять рост опухолей показана как *in vitro* [64, 65], так и на экспериментальных животных [63, 65]. Однако введение онкологическим пациентам МСК с иммуносупрессивными свойствами сопровождается определенным риском. Трансфекция генами цитозиндезаминазы или тимидинкиназы, продукты которых токсичны не только для клеток опухоли, но и для самих МСК, может снизить терапевтический эффект вследствие преждевременной гибели трансплантированных клеток.

В этой связи разрабатываются методы, позволяющие контролировать судьбу МСК в организме пациента путем инициации в них апоптоза. Результаты экспериментов по совместной трансфекции МСК геном *TRAIL* и индуцибельным геном каспазы-9, в которых клетки эффективно уничтожали агрессивный тип саркомы *in vitro*, свидетельствуют о том, что проапоптотические механизмы могут успешно сосуществовать с противоопухолевыми [64].

АКТИВАЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ МСК

Альтернативным подходом к трансплантации аутологических или донорских МСК, размноженных *in vitro*, может служить воздействие на эндогенные МСК пациента с целью их мобилизации из тканевых ниш и привлечения в пораженную область. Применение подхода, основанного на усилении способности МСК к миграции в дефекты тканей, позволяет избежать проблем, связанных с выделением и культивированием клеток *in vitro*, в частности снижением терапевтического потенциала в ходе пассивирования.

Как известно, при повреждении тканей МСК способны выходить в системный кровоток для последующей миграции в пораженную область [6, 66]. Их мобилизация из депо в периферическую кровь может быть стимулирована путем внутривенного введения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF) [67, 68], гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) [69], TGF- β [70], субстанции P [71], VEGF [71]. Для усиления мобилизующего эффекта ряд авторов сочетают применение этих факторов с обратимой блокировкой связывания рецептора CXCR4 на поверхности МСК с присутствующим в их тканевых нишах SDF-1. Введение ингибитора CXCR4 AMD3100 препятствует удержанию МСК в костном мозге и других депо и ведет к их более эффективному выходу в циркуляцию в ответ на G-CSF [72], VEGF [73] и другие стимулы [74].

Вместо мобилизации эндогенных МСК в кровоток или в дополнение к ней возможна также стимуляция их направленной миграции в зону поражения путем локального введения хемоаттрактантов, прежде всего SDF-1 [75–78]. Хемотаксическими стимулами для МСК могут служить также bFGF [79], TGF- β [80], а по данным исследований *in vitro* – EGF, IGF-1, BMP-2, -4 и -7, HGF и ряд других факторов [81]. Эти вещества могут быть введены в пораженную область путем инъекции [75, 76, 79] или в составе скаффолда, обеспечивающего длительное поддержание высокой местной концентрации и постепенное высвобождение [77, 78, 80].

Следует отметить, что вместо непосредственного введения мобилизующих или хемотаксических факторов можно стимулировать их выработку в организме пациента с помощью физических воздействий и фармакологических агентов. Так, кратковременная гипоксия, мобилизующий эффект которой связан с активацией экспрессии гена, кодирующего SDF-1, повышает содержание МСК в периферической крови [82]. Аналогичное действие оказывает и имитация гипоксии введением хлорида кобальта (в сочетании с ингибированием CXCR4) [74]. Сообщалось также о возможности мобилизации МСК в кровоток с помощью электроакупунктурного воздействия, предположительно за счет активации гипоталамуса и симпатической нервной системы [83] и привлечения их в поврежденную область путем обработки последней ультразвуком, усиливающим локальную продукцию хемоаттрактантов [84]. Стимуляцией миграции МСК через кровоток в поврежденные ткани могут быть обусловлены и прорегенеративные свойства ряда биологически активных веществ растительного происхождения, таких как каннабиноиды,

протокатехиновая кислота, проантоцианидины, флавоноиды [85].

О перспективности воздействия на миграцию эндогенных МСК для стимуляции регенеративных процессов свидетельствуют результаты многочисленных экспериментальных исследований. В частности, генерализованная мобилизация МСК показала свою эффективность на: моделях болезни Альцгеймера [68], химических ожогов [71], повреждения сосудов [70], токсического поражения почек [72], переломов костей [73], разрывов сухожилий [83]; при локальном воздействии на область поражения – при инфаркте миокарда [75], костно-хрящевых дефектах [77, 79, 80] и повреждениях периодонта [78]; при сочетании обоих подходов – при травмах легкого [76]. Во всех упомянутых случаях улучшение состояния экспериментальных животных было достигнуто только за счет активации эндогенных МСК. Однако локальное введение хемоаттрактантов или стимуляция их продукции поврежденной тканью могут быть использованы и для улучшения заселения донорскими клетками – например, при повреждении межпозвоночных дисков [86], несращении костей [87], ишемии нижних конечностей [88]. Таким образом, воздействие на микроокружение тканей реципиента может рассматриваться как еще один, в дополнение к прекондиционированию и генетической модификации, способ повышения эффективности трансплантации МСК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение жизнеспособности и паракринной активности МСК в ходе культивирования и под влиянием неблагоприятных условий в организме пациента затрудняет их применение в регенеративной медицине. Однако в настоящее время в распоряжении исследователей имеется широкий набор методов воздействия на МСК *in vitro* и *in vivo*, позволяющих преодолеть эту проблему. Результаты многочисленных экспериментов на клеточных культурах и лабораторных животных свидетельствуют о том, что с помощью биоактивных молекул (цитокинов, хемокинов, факторов роста), фармакологических агентов, физических факторов, применения генно-инженерных технологий, изменения условий культивирования или полного исключения стадий выделения и экспансии клеток *in vitro* удается существенно усилить способности МСК к заселению и восстановлению патологически измененных тканей, а в ряде случаев и придать им новые терапевтические свойства, изменив секреторный профиль в требуемом направлении. Есть все основания надеяться, что продолжение подобных исследований откроет путь к широкому внедрению клеточных технологий на основе МСК в медицинскую практику.

ВКЛАД АВТОРОВ

О.В. Паюшина и Д.А. Цомартова участвовали в разработке концепции статьи и написали значительную часть текста. Е.В. Черешнева и М.Ю. Иванова подготовили введение и заключение, доработали текст рукописи. С.Г. Мухамедова и М.С. Павлова выполняли поиск, анализ и систематизацию литературы по теме обзора. С.Л. Кузнецов разработал общую концепцию статьи, руководил ее написанием и окончательно утвердил публикуемую версию. Все авторы участвовали в обсуждении и редактировании работы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hu C., Li L. Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Mol Med*. 2018 Mar; 22(3): 1428–1442. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13492>. Epub 2018 Feb 1. PMID: 29392844
2. Rodríguez-Fuentes D.E., Fernández-Garza L.E., Samia-Meza J.A., et al. Mesenchymal stem cells current clinical applications: a systematic review. *Arch Med Res*. 2021 Jan; 52(1): 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.08.006>. Epub 2020 Sep 22. PMID: 32977984
3. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>. PMID: 16923606
4. Lin W., Xu L., Zwingenberger S., et al. Mesenchymal stem cells homing to improve bone healing. *J Orthop Translat*. 2017 Mar 29; 9: 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2017.03.002>. PMID: 29662796; PMCID: PMC5822957
5. Jin W., Liang X., Brooks A., et al. Modelling of the SDF-1/CXCR4 regulated *in vivo* homing of therapeutic mesenchymal stem/stromal cells in mice. *PeerJ*. 2018 Dec 6; 6: e6072. <https://doi.org/10.7717/peerj.6072>. PMID: 30564525
6. Lan Y., Kodati S., Lee H.S., et al. Kinetics and function of mesenchymal stem cells in corneal injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Jun 14; 53(7): 3638–3644. <https://doi.org/10.1167/iov.11-9311>. PMID: 22562508
7. Galderisi U., Peluso G., Di Bernardo G. Clinical trials based on mesenchymal stromal cells are exponentially increasing: where are we in recent years? *Stem Cell Rev Rep*. 2022 Jan; 18(1): 23–36. <https://doi.org/10.1007/s12015-021-10231-w>. Epub 2021 Aug 16. PMID: 34398443
8. Паюшина О.В., Цомартова Д.А., Черешнева Е.В. и др. Роль мезенхимных стромальных клеток и их секреторных продуктов в регенерации почек. *Сеченовский вестник*. 2020; 11(3): 57–69. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2020.11.3.57-69> / Payushina O.V., Tsomartova D.A., Cheresheva E.V., et al. Role of mesenchymal stromal cells and their secretory products in kidney regeneration. *Sechenov Medical Journal*. 2020; 11(3): 57–69. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2020.11.3.57-69>
9. Lu K., Geng S.T., Tang S., et al. Clinical efficacy and mechanism of mesenchymal stromal cells in treatment of COVID-19. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Feb 7; 13(1): 61. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-02743-0>. PMID: 35130977
10. Choudhery M.S. Strategies to improve regenerative potential of mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2021 Dec 26; 13(12): 1845–1862. <https://dx.doi.org/10.4252/wjsc.v13.i12.1845>. PMID: 35069986
11. Гаджиева Л.А., Белевич С.Б., Яковлевич В. и др. Прекондиционирование креатин фосфатом уменьшает ишемическо-реперфузионное повреждение изолированного сердца крысы. *Сеченовский вестник*. 2022; 13(1): 24–33. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2022.13.1.24-33> / Gadjeva L.A., Bolevich S.B., Jakovlevich V., et al. Creatine phosphate preconditioning reduces ischemia-reperfusion injury in isolated rat heart. *Sechenov Medical Journal*. 2022; 13(1): 24–33. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2022.13.1.24-33>
12. Lee S., Kim H.S., Min B.H., et al. Enhancement of anti-inflammatory and immunomodulatory effects of adipose-derived human mesenchymal stem cells by making uniform spheroid on the new nano-patterned plates. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021 May 7; 552: 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.03.026>. Epub 2021 Mar 19. PMID: 33751933
13. Xu Y., Shi T., Xu A., et al. 3D spheroid culture enhances survival and therapeutic capacities of MSCs injected into ischemic kidney. *J Cell Mol Med*. 2016 Jul; 20(7): 1203–1213. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12651>. Epub 2016 Feb 24. PMID: 26914637; PMCID: PMC4929304
14. Costa M.H.G., McDevitt T.C., Cabral J.M.S., et al. Tridimensional configurations of human mesenchymal stem/stromal cells to enhance cell paracrine potential towards wound healing processes. *J Biotechnol*. 2017 Nov 20; 262: 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.09.020> <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.09.020> Epub 2017 Sep 28. PMID: 28965974
15. Son Y.B., Bharti D., Kim S.B., et al. Comparison of pluripotency, differentiation, and mitochondrial metabolism capacity in three-dimensional spheroid formation of dental pulp-derived mesenchymal stem cells. *Biomed Res Int*. 2021 Jul 13; 2021: 5540877. <https://doi.org/10.1155/2021/5540877>. PMID: 34337022
16. Regmi S., Raut P.K., Pathak S., et al. Enhanced viability and function of mesenchymal stromal cell spheroids is mediated via autophagy induction. *Autophagy*. 2021 Oct; 17(10): 2991–3010. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1850608>. Epub 2020 Dec 7. PMID: 33206581; PMCID: PMC8526044
17. Tamama K., Fan V.H., Griffith L.G., et al. Epidermal growth factor as a candidate for *ex vivo* expansion of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2006 Mar; 24(3): 686–695. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0176>. Epub 2005 Sep 8. PMID: 16150920
18. Li Y., Yu X., Lin S., et al. Insulin-like growth factor 1 enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 May 11; 356(3): 780–784. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.03.049>. Epub 2007 Mar 19. PMID: 17382293
19. Blázquez-Prunera A., Almeida C.R., Barbosa M.A. Fibroblast growth factor improves the motility of human mesenchymal stem cells expanded in a human plasma-derived xeno-free medium through $\alpha V\beta 3$ integrin. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019 Jan; 13(1): 36–45. <https://doi.org/10.1002/term.2766>. Epub 2018 Dec 3. PMID: 30362664
20. Caroti C.M., Ahn H., Salazar H.F., et al. A novel technique for accelerated culture of murine mesenchymal stem cells that allows for sustained multipotency. *Sci Rep*. 2017 Oct 17; 7(1): 13334. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13477-y>. PMID: 29042571

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga V. Payushina and Dibakhan A. Tsomartova participated in the development of the concept of the article and wrote a significant part of the text. Elizaveta V. Cheresheva and Marina Yu. Ivanova prepared the introduction and conclusion and finalized the text of the manuscript. Svetlana G. Mukhamedova and Mariya S. Pavlova performed the search, analysis and systematization of literature on the topic of the review. Sergey L. Kuznetsov developed the general concept of the article, supervised its writing and finally approved the published version. All the authors participated in the discussion and editing of the work.

21. Gorin C., Rochefort G.Y., Bascetin R., et al. Priming dental pulp stem cells with fibroblast growth factor-2 increases angiogenesis of implanted tissue-engineered constructs through hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor secretion. *Stem Cells Transl Med.* 2016 Mar; 5(3): 392–404. <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0166>. Epub 2016 Jan 21. PMID: 26798059
22. Baer P.C., Overath J.M., Urbtschat A., et al. Effect of different preconditioning regimens on the expression profile of murine adipose-derived stromal/stem cells. *Int J Mol Sci.* 2018 Jun 10; 19(6): 1719. <https://doi.org/10.3390/ijms19061719>. PMID: 29890767
23. Xu B., Luo Y., Liu Y., et al. Platelet-derived growth factor-BB enhances MSC-mediated cardioprotection via suppression of miR-320 expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015 May 1; 308(9): H980–989. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00737.2014>. Epub 2015 Feb 27. PMID: 25724494
24. Hahn J.Y., Cho H.J., Kang H.J., et al. Pre-treatment of mesenchymal stem cells with a combination of growth factors enhances gap junction formation, cytoprotective effect on cardiomyocytes, and therapeutic efficacy for myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Mar 4; 51(9): 933–943. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.040>. PMID: 18308163
25. Amin A.H., Abd Elmageed Z.Y., Nair D., et al. Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice. *Lab Invest.* 2010 Jul; 90(7): 985–996. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2010.86>. Epub 2010 May 3. PMID: 20440273
26. Matta A., Nader V., Lebrin M., et al. Pre-conditioning methods and novel approaches with mesenchymal stem cells therapy in cardiovascular disease. *Cells.* 2022 May 12; 11(10): 1620. <https://doi.org/10.3390/cells11101620>. PMID: 35626657
27. Lee J.H., Yoon Y.M., Lee S.H. Hypoxic preconditioning promotes the bioactivities of mesenchymal stem cells via the HIF-1 α -GRP78-Akt axis. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 21; 18(6): 1320. <https://doi.org/10.3390/ijms18061320>. PMID: 28635661
28. Wang J.W., Qiu Y.R., Fu Y., et al. Transplantation with hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells suppresses brain injury caused by cardiac arrest-induced global cerebral ischemia in rats. *J Neurosci Res.* 2017 Oct; 95(10): 2059–2070. <https://doi.org/10.1002/jnr.24025>. Epub 2017 Feb 10. PMID: 28186348
29. Archacka K., Grabowska I., Mierzejewski B., et al. Hypoxia preconditioned bone marrow-derived mesenchymal stromal/stem cells enhance myoblast fusion and skeletal muscle regeneration. *Stem Cell Res Ther.* 2021 Aug 9; 12(1): 448. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02530-3>. PMID: 34372911; PMCID: PMC8351116
30. Лобанова М.В., Ратушный А.Ю., Буравкова Л.Б. Экспрессия генов, ассоциированных со старением, в мультипотентных мезенхимальных стромальных клетках при длительном культивировании в условиях разного содержания кислорода. Доклады Академии наук. 2016; 470(2): 227–229. <https://doi.org/10.7868/S0869565216260236>. EDN WKDDZB / Lobanova M.V., Ratushnyy A.Yu., Buravkova L.B. Expression of senescence-associated genes in multipotent mesenchymal stromal cells during long-term cultivation at various hypoxic levels. 2016; 470(2): 227–229 (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0869565216260236>. EDN WKDDZB
31. Ратушный А.Ю., Буравкова Л.Б. Чувствительность мезенхимальных стромальных клеток к окислительному стрессу в условиях физиологической концентрации кислорода. Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019; 53(5): 29–33. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2019-53-5-29-33>. EDN OSUFJ / Ratushnyy A.Yu., Buravkova L.B. Sensitivity of mesenchymal stromal cells to oxidative stress under physiological oxygen concentrations. *Aerospace and Ecological Medicine.* 2019; 53(5): 29–33 (In Russian). <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2019-53-5-29-33>. EDN OSUFJ
32. Moya A., Larochette N., Paquet J., et al. Quiescence preconditioned human multipotent stromal cells adopt a metabolic profile favorable for enhanced survival under ischemia. *Stem Cells.* 2017 Jan; 35(1): 181–196. <https://doi.org/10.1002/stem.2493>. Epub 2016 Sep 21. PMID: 27578059
33. Zhang J., Chen G.H., Wang Y.W., et al. Hydrogen peroxide preconditioning enhances the therapeutic efficacy of Wharton's Jelly mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Chin Med J (Engl).* 2012 Oct; 125(19): 3472–3478. PMID: 23044308
34. Saeedi P., Halabian R., Fooladi A.A.I. Antimicrobial effects of mesenchymal stem cells primed by modified LPS on bacterial clearance in sepsis. *J Cell Physiol.* 2019 Apr; 234(4): 4970–4986. <https://doi.org/10.1002/jcp.27298>. Epub 2018 Sep 14. PMID: 30216449
35. Duijvestein M., Wildenberg M.E., Welling M.M., et al. Pretreatment with interferon- γ enhances the therapeutic activity of mesenchymal stromal cells in animal models of colitis. *Stem Cells.* 2011 Oct; 29(10): 1549–1558. <https://doi.org/10.1002/stem.698>. PMID: 21898680
36. Philipp D., Suhr L., Wahlers T., et al. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells highly strengthens their potential to promote IL-6-dependent M2b polarization. *Stem Cell Res Ther.* 2018 Oct 25; 9(1): 286. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1039-2>. PMID: 30359316
37. Caffi V., Espinosa G., Gajardo G., et al. Pre-conditioning of equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells increases their immunomodulatory capacity. *Front Vet Sci.* 2020 Jun 11; 7: 318. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00318>. PMID: 32656251
38. Jeong Y.M., Sung Y.K., Kim W.K., et al. Ultraviolet B preconditioning enhances the hair growth-promoting effects of adipose-derived stem cells via generation of reactive oxygen species. *Stem Cells Dev.* 2013 Jan 1; 22(1): 158–168. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0167>. Epub 2012 Aug 13. PMID: 22784094
39. Peat F.J., Colbath A.C., Bentsen L.M., et al. In vitro effects of high-intensity laser photobiomodulation on equine bone marrow-derived mesenchymal stem cell viability and cytokine expression. *Photomed Laser Surg.* 2018 Feb; 36(2): 83–91. <https://doi.org/10.1089/pho.2017.4344>. Epub 2017 Nov 13. PMID: 29131717
40. Hu X., Yu S.P., Fraser J.L., et al. Transplantation of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells improves infarcted heart function via enhanced survival of implanted cells and angiogenesis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008 Apr; 135(4): 799–808. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2007.07.071>. PMID: 18374759
41. Liu X.Y., Wei M.G., Liang J., et al. Injury-preconditioning secretome of umbilical cord mesenchymal stem cells amplified the neurogenesis and cognitive recovery after severe traumatic brain injury in rats. *J Neurochem.* 2020 Apr; 153(2): 230–251. <https://doi.org/10.1111/jnc.14859>. Epub 2019 Oct 25. PMID: 31465551
42. Masoud M.S., Anwar S.S., Afzal M.Z., et al. Pre-conditioned mesenchymal stem cells ameliorate renal ischemic injury in rats by augmented survival and engraftment. *J Transl Med.* 2012 Dec 5; 10: 243. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-243>. PMID: 23217165; PMCID: PMC3543338
43. Qiu Y., Guo J., Mao R., et al. TLR3 preconditioning enhances the therapeutic efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cells in TNBS-induced colitis via the TLR3-Jagged-1-Notch-1 pathway. *Mucosal Immunol.* 2017 May; 10(3): 727–742. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.78>. Epub 2016 Sep 21. PMID: 27649928
44. Zhang Q., Wang H., Yang Y.J., et al. Atorvastatin treatment improves the effects of mesenchymal stem cell transplantation on acute myocardial infarction: the role of the RhoA/ROCK/ERK pathway. *Int J Cardiol.* 2014 Oct 20; 176(3): 670–679. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.08.001>. PMID: 25111111

- doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.07.071. Epub 2014 Aug 1. PMID: 25139321
45. Song L., Yang Y.J., Dong Q.T., et al. Atorvastatin enhance efficacy of mesenchymal stem cells treatment for swine myocardial infarction via activation of nitric oxide synthase. *PLoS One*. 2013 May 31; 8(5): e65702. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065702>. PMID: 23741509
 46. Ye X., Yin X., Yang D., et al. Ectopic bone regeneration by human bone marrow mononucleated cells, undifferentiated and osteogenically differentiated bone marrow mesenchymal stem cells in beta-tricalcium phosphate scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods*. 2012 Jul; 18(7): 545–556. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2011.0470>. Epub 2012 Feb 22. PMID: 22250840
 47. Lin S., Lee W.Y.W., Feng Q., et al. Synergistic effects on mesenchymal stem cell-based cartilage regeneration by chondrogenic preconditioning and mechanical stimulation. *Stem Cell Res Ther*. 2017 Oct 3; 8(1): 221. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0672-5>. PMID: 28974254; PMCID: PMC5627486
 48. Лопатина Т.В., Калинина Н.И., Парфенова Е.В. Опыт невирусной трансфекции стромальных клеток жировой ткани. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2009; (2): 73–76. / Lopatina T.V., Kalinina N.I., Parfenova E.V. Nonviral transfection of adipose tissue stromal cells: an experimental study. *Cell technologies in biology and medicine*. 2009; (2): 73–76 (in Russian).
 49. Ni X., Ou C., Guo J., et al. Lentiviral vector-mediated co-overexpression of VEGF and Bcl-2 improves mesenchymal stem cell survival and enhances paracrine effects *in vitro*. *Int J Mol Med*. 2017 Aug; 40(2): 418–426. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3019>. Epub 2017 Jun 12. PMID: 28627637
 50. Zhang L., Dong X.W., Wang J.N., et al. PEP-1-CAT-transduced mesenchymal stem cells acquire an enhanced viability and promote ischemia-induced angiogenesis. *PLoS One*. 2012; 7(12): e52537. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052537>. Epub 2012 Dec 28. PMID: 23285080
 51. Wu S.Z., Li Y.L., Huang W., et al. Paracrine effect of CXCR4-overexpressing mesenchymal stem cells on ischemic heart injury. *Cell Biochem Funct*. 2017 Mar; 35(2): 113–123. <https://doi.org/10.1002/cbf.3254>. Epub 2017 Feb 23. PMID: 28233339
 52. Zheng X.B., He X.W., Zhang L.J., et al. Bone marrow-derived CXCR4-overexpressing MSCs display increased homing to intestine and ameliorate colitis-associated tumorigenesis in mice. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2019 Apr; 7(2): 127–138. <https://doi.org/10.1093/gastro/goy017>. Epub 2018 Jun 8. PMID: 30976426
 53. Lai T., Li M., Zheng L., et al. Over-expression of VEGF in marrow stromal cells promotes angiogenesis in rats with cerebral infarction via the synergistic effects of VEGF and Ang-2. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2012 Oct; 32(5): 724–731. <https://doi.org/10.1007/s11596-012-1025-3>. Epub 2012 Oct 18. PMID: 23073804
 54. Kuttappan S., Anitha A., Minsha M.G., et al. BMP2 expressing genetically engineered mesenchymal stem cells on composite fibrous scaffolds for enhanced bone regeneration in segmental defects. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018 Apr 1; 85: 239–248. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.01.001>. Epub 2018 Jan 10. PMID: 29407153
 55. Zhang H., Kot A., Lay Y.E., et al. Acceleration of fracture healing by overexpression of basic fibroblast growth factor in the mesenchymal stromal cells. *Stem Cells Transl Med*. 2017 Oct; 6(10): 1880–1893. <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0039>. Epub 2017 Aug 9. PMID: 28792122
 56. Guzman R.A., Maruyama M., Moeinzadeh S., et al. The effect of genetically modified platelet-derived growth factor-BB overexpressing mesenchymal stromal cells during core decompression for steroid-associated osteonecrosis of the femoral head in rabbits. *Stem Cell Res Ther*. 2021 Sep 15; 12(1): 503. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02572-7>. PMID: 34526115
 57. Wu H., Peng Z., Xu Y., et al. Engineered adipose-derived stem cells with IGF-1-modified mRNA ameliorates osteoarthritis development. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Jan 15; 13(1): 19. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02695-x>. PMID: 35033199
 58. Zhang Y., Li R., Rong W., et al. Therapeutic effect of hepatocyte growth factor-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells on CCl₄-induced hepatocirrhosis. *Cell Death Dis*. 2018 Dec 11; 9(12): 1186. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1239-9>. PMID: 30538216
 59. Song S.W., Chang W., Song B.W., et al. Integrin-linked kinase is required in hypoxic mesenchymal stem cells for strengthening cell adhesion to ischemic myocardium. *Stem Cells*. 2009 Jun; 27(6): 1358–1365. <https://doi.org/10.1002/stem.47>. PMID: 19489098
 60. Tarnowski M., Szydło A., Anioł J., et al. Optimization of genetic engineering and homologous recombination of collagen type I genes in rat bone marrow mesenchymal stem cells (MSC). *Cell Reprogram*. 2010 Jun; 12(3): 275–282. <https://doi.org/10.1089/cell.2009.0084>. PMID: 20698769
 61. Porada C.D., Sanada C., Kuo C.J., et al. Phenotypic correction of hemophilia A in sheep by postnatal intraperitoneal transplantation of FVIII-expressing MSC. *Exp Hematol*. 2011 Dec; 39(12): 1124–1135.e4. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2011.09.001>. Epub 2011 Sep 8. PMID: 21906573
 62. Lu X., Ru Y., Chu C., et al. Lentivirus-mediated IL-10-expressing bone marrow mesenchymal stem cells promote corneal allograft survival via upregulating lncRNA 003946 in a rat model of corneal allograft rejection. *Theranostics*. 2020 Jul 9; 10(18): 8446–8467. <https://doi.org/10.7150/thno.31711>. PMID: 32724480
 63. Chen X., Wang K., Chen S., et al. Effects of mesenchymal stem cells harboring the Interferon- β gene on A549 lung cancer in nude mice. *Pathol Res Pract*. 2019 Mar; 215(3): 586–593. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.01.013>. Epub 2019 Jan 14. PMID: 30683475
 64. Rossignoli F., Grisendi G., Spano C., et al. Inducible Caspase9-mediated suicide gene for MSC-based cancer gene therapy. *Cancer Gene Ther*. 2019 Feb; 26(1–2): 11–16. <https://doi.org/10.1038/s41417-018-0034-1>. Epub 2018 Jun 29. PMID: 29955091
 65. Zarogoulidis P., Darwiche K., Sakkas A., et al. Suicide gene therapy for cancer – current strategies. *J Genet Syndr Gene Ther*. 2013 Aug 9; 4: 16849. <https://doi.org/10.4172/2157-7412.1000139>. PMID: 24294541
 66. Churchman S.M., Jones E.A., Roshdy T., et al. Transient existence of circulating mesenchymal stem cells in the deep veins in humans following long bone intramedullary reaming. *J Clin Med*. 2020 Mar 31; 9(4): 968. <https://doi.org/10.3390/jcm9040968>. PMID: 32244388
 67. Garcia N.P., de Leon E.B., da Costa A.G., et al. Kinetics of mesenchymal and hematopoietic stem cells mobilization by G-CSF and its impact on the cytokine microenvironment in primary cultures. *Cell Immunol*. 2015 Jan; 293(1): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.09.006>. Epub 2014 Nov 4. PMID: 25461611
 68. Wu C.C., Wang I.F., Chiang P.M., et al. G-CSF-mobilized bone marrow mesenchymal stem cells replenish neural lineages in Alzheimer's disease mice via CXCR4/SDF-1 chemotaxis. *Mol Neurobiol*. 2017 Oct; 54(8): 6198–6212. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0122-x>. Epub 2016 Oct 5. PMID: 27709493
 69. Kim J., Kim N.K., Park S.R., et al. GM-CSF enhances mobilization of bone marrow mesenchymal stem cells via a CXCR4-mediated mechanism. *Tissue Eng Regen Med*. 2018 Nov 15; 16(1): 59–68. <https://doi.org/10.1007/s13770-018-0163-5>. PMID: 30815351
 70. Wan M., Li C., Zhen G., et al. Injury-activated transforming growth factor β controls mobilization of mesenchymal stem cells

- for tissue remodeling. *Stem Cells*. 2012 Nov; 30(11): 2498–2511. <https://doi.org/10.1002/stem.1208>. PMID: 22911900
71. Hong H.S., Lee J., Lee E., et al. A new role of substance P as an injury-inducible messenger for mobilization of CD29(+) stromal-like cells. *Nat Med*. 2009 Apr; 15(4): 425–435. <https://doi.org/10.1038/nm.1909>. Epub 2009 Mar 8. PMID: 19270709
 72. Chen Z., Ren X., Ren R., et al. The combination of G-CSF and AMD3100 mobilizes bone marrow-derived stem cells to protect against cisplatin-induced acute kidney injury in mice. *Stem Cell Res Ther*. 2021 Mar 24; 12(1): 209. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02268-y>. PMID: 33761993
 73. Meeson R., Sanghani-Keri A., Coathup M., et al. VEGF with AMD3100 endogenously mobilizes mesenchymal stem cells and improves fracture healing. *J Orthop Res*. 2019 Jun; 37(6): 1294–1302. <https://doi.org/10.1002/jor.23329>. Epub 2018 Nov 30. PMID: 30345545
 74. Liu L., Yu Q., Fu S., et al. CXCR4 antagonist AMD3100 promotes mesenchymal stem cell mobilization in rats preconditioned with the hypoxia-mimicking agent cobalt chloride. *Stem Cells Dev*. 2018 Apr 1; 27(7): 466–478. <https://doi.org/10.1089/scd.2017.0191>. Epub 2018 Mar 13. PMID: 29433375
 75. Sasaki T., Fukazawa R., Ogawa S., et al. Stromal cell-derived factor-1 α improves infarcted heart function through angiogenesis in mice. *Pediatr Int*. 2007 Dec; 49(6): 966–971. <https://doi.org/10.1111/j.1442-200X.2007.02491.x>. PMID: 18045305
 76. Hannoush E.J., Sifri Z.C., Elhassan I.O., et al. Impact of enhanced mobilization of bone marrow derived cells to site of injury. *J Trauma*. 2011 Aug; 71(2): 283–289; discussion 289–291. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e318222f380>. PMID: 21825928
 77. Pereira C.L., Gonçalves R.M., Peroglio M., et al. The effect of hyaluronan-based delivery of stromal cell-derived factor-1 on the recruitment of MSCs in degenerating intervertebral discs. *Biomaterials*. 2014 Sep; 35(28): 8144–8153. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.06.017>. Epub 2014 Jun 24. PMID: 24969636
 78. Cai X., Yang F., Walboomers X.F., et al. Periodontal regeneration via chemoattractive constructs. *J Clin Periodontol*. 2018 Jul; 45(7): 851–860. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12928>. Epub 2018 Jun 11. PMID: 29779212
 79. Chuma H., Mizuta H., Kudo S., et al. One day exposure to FGF-2 was sufficient for the regenerative repair of full-thickness defects of articular cartilage in rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004 Oct; 12(10): 834–842. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2004.07.003>. PMID: 15450534
 80. Fan W., Yuan L., Li J., et al. Injectable double-crosslinked hydrogels with kartogenin-conjugated polyurethane nano-particles and transforming growth factor β 3 for *in-situ* cartilage regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020 May; 110: 110705. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110705>. Epub 2020 Jan 28. PMID: 32204019
 81. Vanden Berg-Foels W.S. *In situ* tissue regeneration: chemoattractants for endogenous stem cell recruitment. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014 Feb; 20(1): 28–39. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2013.0100>. Epub 2013 Jul 11. PMID: 23678952
 82. Liu L., Yu Q., Lin J., et al. Hypoxia-inducible factor-1 α is essential for hypoxia-induced mesenchymal stem cell mobilization into the peripheral blood. *Stem Cells Dev*. 2011 Nov; 20(11): 1961–1971. <https://doi.org/10.1089/scd.2010.0453>. Epub 2011 Mar 30. PMID: 21275821
 83. Salazar T.E., Richardson M.R., Beli E., et al. Electroacupuncture promotes central nervous system-dependent release of mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2017 May; 35(5): 1303–1315. <https://doi.org/10.1002/stem.2613>. PMID: 28299842
 84. Jang K.W., Tu T.W., Rosenblatt R.B., et al. MR-guided pulsed focused ultrasound improves mesenchymal stromal cell homing to the myocardium. *J Cell Mol Med*. 2020 Nov; 24(22): 13278–13288. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15944>. Epub 2020 Oct 17. PMID: 33067927
 85. Maeda A. Recruitment of mesenchymal stem cells to damaged sites by plant-derived components. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Jun 9; 8: 437. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00437>. PMID: 32582713
 86. Cunha C., Leite Pereira C., Ferreira J.R., et al. Therapeutic strategies for IVD regeneration through hyaluronan/SDF-1-based hydrogel and intravenous administration of MSCs. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 4; 22(17): 9609. <https://doi.org/10.3390/ijms22179609>. PMID: 34502517
 87. Chen G., Fang T., Qi Y., et al. Combined use of mesenchymal stromal cell sheet transplantation and local injection of SDF-1 for bone repair in a rat nonunion model. *Cell Transplant*. 2016 Oct; 25(10): 1801–1817. <https://doi.org/10.3727/096368916X690980>. PMID: 26883892
 88. Tebebi P.A., Kim S.J., Williams R.A., et al. Improving the therapeutic efficacy of mesenchymal stromal cells to restore perfusion in critical limb ischemia through pulsed focused ultrasound. *Sci Rep*. 2017 Feb 7; 7: 41550. <https://doi.org/10.1038/srep41550>. PMID: 28169278

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Паюшина Ольга Викторовна , д-р биол. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8467-0623>

Цомартова Дибакхан Асланбековна, д-р мед. наук, профессор кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1381-0200>

Черешнева Елизавета Васильевна, канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1046-6336>

Olga V. Payushina , Dr. of Sci. (Biology), Associate Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8467-0623>

Dibakhan A. Tsomartova, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1381-0200>

Elizaveta V. Cheresheva, Cand. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1046-6336>

Иванова Марина Юрьевна, канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8215-4609>

Мухамедова Светлана Галиевна, д-р биол. наук, профессор кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6769-4543>

Павлова Мария Сергеевна, студентка, лаборант кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6494-6311>

Кузнецов Сергей Львович, д-р мед. наук, чл.-корр. РАН, профессор кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>

Marina Yu. Ivanova, Cand. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8215-4609>

Svetlana G. Mukhamedova, Dr. of Sci. (Biology), Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6769-4543>

Mariya S. Pavlova, Student, Laboratory Assistant, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6494-6311>

Sergey L. Kuznetsov, Dr. of Sci. (Medicine), Corresponding member of the RAS, Professor, Human Anatomy and Histology Department, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>

Оригинальная статья / Original article

УДК 616.832-001.31-091

<https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.19-27>

Характеристика нейроглии в эпицентре и в удаленной от травмы области при контузионном повреждении спинного мозга у мини-свиньи

Р.Р. Гарифулин, А.А. Измайлов✉, В.А. Маркосян, И.С. Минязева, В.В. Валиуллин, Р.Р. Исламов

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России
ул. Бутлерова, д. 49, г. Казань, 420012, Россия

Аннотация

Цель. Установить отсроченное (спустя 2 месяца) влияние травмы спинного мозга (ТСМ) в нижнегрудном отделе у мини-свиньи на морфологическое состояние макро- и микроглии в близлежащих и отдаленных каудальных участках.

Материалы и методы. Половозрелых самок вьетнамской вислобрюхой свиньи случайным образом разделяли на две группы: с ТСМ ($n = 3$) и интактную ($n = 3$). Дозированную контузионную ТСМ моделировали на уровне Th8–Th9 позвонков, через 2 месяца исследовали поперечные криостатные срезы каудального сегмента, прилегающего к эпицентру травмы, и поясничного утолщения (L4–S2). Экспрессию маркеров астроцитов (глиальный фибриллярный кислый белок, glial fibrillary acidic protein, GFAP) и микроглии (ионизированная кальций-связывающая адаптерная молекула 1, ionized calcium-binding adapter molecule 1, Iba1) оценивали как относительную иммунопозитивную площадь, занимаемую клетками. При подсчете количества олигодендроглиальных клеток (фактор транскрипции олигодендроцитов 2, oligodendrocyte transcription factor 2, Olig2) учитывали наличие ядер, выявляемых при помощи 4',6-диамидино-2-фенилиндол (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI).

Результаты. После ТСМ выявлено увеличение относительных площадей, занимаемых GFAP-позитивными астроцитами и Iba1-позитивными клетками микроглии, а также уменьшение Olig2-позитивных олигодендроцитов как в области повреждения, так и в поясничном утолщении. В обеих областях спустя 2 месяца после ТСМ доля астроцитов в передних рогах существенно не отличалась, а в задних рогах увеличивалась вдвое. Клетки микроглии занимали площадь в 2,5 раза больше в передних рогах обеих областей и в задних рогах поясничного утолщения, в задних рогах в области ТСМ присутствие микроглии увеличилось незначительно (в 1,2 раза). Количество олигодендроцитов уменьшилось в области эпицентра ТСМ в передних и задних рогах в 1,5–1,75 раза, в поясничном утолщении более значимо – в 2,5 раза в передних и в 5,5 раза в задних рогах.

Заключение. Результаты исследования обнаружили схожую картину распределения клеток макро- и микроглии как в области ТСМ, так и в удаленных участках. Полученные данные свидетельствуют о необходимости учитывать состояние удаленных от эпицентра ТСМ участков нервной ткани при стимулировании нейрорегенерации у таких пациентов.

Ключевые слова: вьетнамская вислобрюхая свинья; контузионная травма спинного мозга; нейроглия грудного отдела; нейроглия поясничного утолщения; иммунофлуоресцентный анализ нейроглии

Рубрики MeSH:

МОЗГ СПИННОГО ТРАВМЫ – ПАТОЛОГИЯ

МОЗГ СПИННОГО ТРАВМЫ – ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

КОНТУЗИИ – ПАТОЛОГИЯ

КОНТУЗИИ – ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

НЕВРОГЛИЯ – ПАТОЛОГИЯ

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

Для цитирования: Гарифулин Р.Р., Измайлов А.А., Маркосян В.А., Минязева И.С., Валиуллин В.В., Исламов Р.Р. Характеристика нейроглии в эпицентре и в удаленной от травмы области при контузионном повреждении спинного мозга у мини-свиньи. Сеченовский вестник. 2023; 14(3): 19–27. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.19-27>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Измайлов Андрей Александрович, канд. мед. наук, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: ул. Бутлерова, д. 49, г. Казань, 420012, Россия

Тел.: +7 (950) 322-39-76

E-mail: andrei.izmaylov@kazangmu.ru

Соответствие принципам этики. Исследование проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с разрешением Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (№5-26.05.2020).

Доступ к данным исследования. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-15-00010.

Благодарности. Авторы выражают благодарность студентам ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», а именно Р.Х. Ахметову, А.Р. Сираевой, К.Р. Яппаровой за помощь в проведении исследования.

Поступила: 21.06.2023

Принята: 04.08.2023

Дата публикации: 28.09.2023

Features of neuroglia at the epicenter of spinal cord contusion injury and at distant areas in mini-pigs

Ravil R. Garifulin, Andrey A. Izmailov[✉], Vage A. Markosyan, Irina S. Minyazeva, Victor V. Valiullin, Rustem R. Islamov

*Kazan State Medical University
49, Butlerova str., Kazan, 420012, Russia*

Abstract

Aim. To determine the delayed (after 2 months) effect of spinal cord injury (SCI) in the lower thoracic region in the mini-pigs on the morphologic state of macro- and microglia in nearby and remote caudal areas.

Materials and methods. Sexually mature female Vietnamese pot-bellied pigs were randomly divided into two groups: SCI ($n = 3$) and intact ($n = 3$). Dosed contusion SCI was modelled at the level of the Th8–Th9 vertebrae, and transverse cryostat sections of the caudal segment adjacent to the epicenter of injury and the lumbar thickening (L4–S2) were examined 2 months later. The expression of astrocyte markers (glial fibrillary acidic protein, GFAP) and microglial markers (ionized calcium-binding adapter molecule 1, Iba1) was assessed as the relative immunopositive area occupied by cells. When counting the number of oligodendroglial cells (oligodendrocyte transcription factor 2, Olig2), the presence of nuclei detectable with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) was taken into account.

Results. After SCI, an increase in the relative areas occupied by GFAP-positive astrocytes and Iba1-positive microglia and a decrease in Olig2-positive oligodendrocytes were detected in both the lesion area and lumbar thickening. In both regions, 2 months after SCI, the proportion of astrocytes was not significantly different in the anterior horns and doubled in the posterior horns. Microglia cells with SCI were 2.5 times more in the anterior horns of both regions and in the posterior horns of the lumbar thickening, while the presence of microglia increased slightly (1.2 times) in the posterior horns in the SCI region. The number of oligodendrocytes decreased in the area of the epicenter of SCI in the anterior and posterior horns by 1.5–1.75 times, and in the lumbar thickening more significantly: the number decreased by 2.5 times in the anterior horn and 5.5 times in the posterior horn.

Conclusion. The results of the study revealed a similar pattern of macro- and microglial cell distribution both in the SCI region and in remote areas. The obtained data testify to the necessity to take into account the state of the areas of nervous tissue remote from the epicenter of SCI when stimulating neuroregeneration in such patients.

Keywords: Vietnamese pot-bellied pig; spinal cord contusion injury; neuroglia of the thoracic region; neuroglia of the lumbar thickening; immunofluorescent analysis of neuroglia

MeSH terms:

SPINAL CORD INJURIES – PATHOLOGY
 SPINAL CORD INJURIES – PHYSIOPATHOLOGY
 BLAST INJURIES – PATHOLOGY
 BLAST INJURIES – PHYSIOPATHOLOGY
 NEUROGLIA – PATHOLOGY
 FLUOROIMMUNOASSAY

For citation: Garifulin R.R., Izmailov A.A., Markosyan V.A., Minyazeva I.S., Valiullin V.V., Islamov R.R. Features of neuroglia at the epicenter of spinal cord contusion injury and at distant areas in mini-pigs. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(3): 19–27. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.19-27>

CONTACT INFORMATION:

Andrey A. Izmailov, Cand. of Sci. (Medicine), Assistant Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University

Address: 49, Butlerova str., Kazan, 420012, Russia

Tel.: +7 (950) 322-39-76

E-mail: andrei.izmaylov@kazangmu.ru

Ethics statements. The study complies with the standards of the EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. All manipulations with animals were approved by the Local Bioethics Committee of the Kazan State Medical University, No. 5 of 26.05.2020.

Data availability. The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

Financial support. The research was supported by the grant from the Russian Science Foundation No. 16-15-00010.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the students of Kazan State Medical University, namely, Rustem H. Akhmetov, Alina R. Siraeva, and Kamila R. Yapparova, for assistance in conducting the study.

Received: 21.06.2023

Accepted: 04.08.2023

Date of publication: 28.09.2023

Список сокращений:

ТСМ – травма спинного мозга
 DAPI – 4',6-diamidino-2-phenylindole, 4',6-диамидино-2-фенилиндол
 GFAP – glial fibrillary acidic protein, глиальный фибриллярный кислый белок
 Iba1 – ionized calcium-binding adapter molecule 1, ионизирующая кальций-связывающая адаптерная молекула 1

низировавшая кальций-связывающая адаптерная молекула 1
 IL-10 – interleukin-10, интерлейкин 10
 Olig2 – oligodendrocyte transcription factor 2, фактор транскрипции олигодендроцитов 2
 PBS – phosphate buffered saline, фосфатно-солевой буфер

По данным Всемирной организации здравоохранения, во всем мире ежегодно регистрируют от 250 000 до 500 000 случаев травмы спинного мозга (ТСМ)¹, которая приводит к различной степени выраженности нарушений двигательных, чувствительных и вегетативных функций организма [1].

Патологические процессы, возникающие после ТСМ, включают в себя массовую гибель клеток

спинного мозга, разрывы нервных волокон, кровоизлияния, ишемические и воспалительные повреждения, на месте которых впоследствии образуются полости и кисты [2]. К сожалению, результаты терапии пациентов с тяжелой ТСМ нельзя назвать удовлетворительными [3], что во многом связано с недостаточной изученностью клеточных механизмов, происходящих в спинном мозге при его повреждении.

¹ World Health Organization. Spinal cord injury. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/spinal-cord-injury> (дата обращения: 13.12.2022).

Согласно современным представлениям, в ходе естественной регенерации после ТСМ вокруг эпикентра нейротравмы начинаются процессы частичного восстановления (ремоделирования) спинного мозга [2, 4]. В центре травмы формируется очаг, состоящий из эндогенных пролиферирующих фибробластов, перicyтов, эндотелиальных клеток и лейкоцитов. Одновременно с этим запускается процесс регенерации как нервных клеток, так и клеток нейроглии. Начиная с 1–2-го дня после ТСМ и примерно до 7–10 дня активно пролиферируют астроциты и мигрируют к границам формирующегося очага повреждения [5], образуя вокруг него плотную пограничную зону [6]. Непрерывные границы астроглиального рубца, состоящего из коллагена IV типа, экстрацеллюлярного матрикса и хондроитинсульфатных протеогликанов [7], препятствуют распространению воспаления из эпикентра ТСМ. На внешней границе рубца астроциты контактируют с реактивными прогениторными олигодендроглиальными клетками, экспрессирующими хондроитинсульфатный протеогликан 4, также известный как NG2 (neural/glial antigen 2, нейронный глиальный антиген 2), который, в свою очередь, блокирует прорастание аксонов через эпикентр травмы [8]. К глиальному рубцу прилегает реактивная нервная ткань, распространяющаяся от границы астроцитарного рубца во всех направлениях на значительное расстояние [4]. Она содержит все структурные элементы относительно сохранной и функционирующей нервной ткани и характеризуется наличием активированной глии, включая астроциты, микроглию и предшественники олигодендроцитов, содержание которых постепенно снижается в дистальном от эпикентра направлении. Гипертрофированные реактивные астроциты активно взаимодействуют с функционирующими нейронами, вероятно, повышая их жизнеспособность [2] и способствуя локальному росту аксонов и синаптогенезу [9].

Особый интерес в реактивной нервной ткани представляют клетки микроглии. Среди них можно выделить провоспалительный (M1-подобный) и противовоспалительный прорегенеративный (M2-подобный) фенотипы, которые вносят свой вклад в процессы ответа на травму и последующего восстановления структуры спинного мозга [10]. После ТСМ активированные M1-подобные микроглиальные клетки, являясь антигенпредставляющими, экспрессируют главный комплекс гистосовместимости класса II (major histocompatibility complex class II, МНСII) и участвуют в иммунных реакциях [11]. Исследования на моделях острой и подострой ТСМ показали, что для M1-подобных макрофагов характерна более высокая экспрессия хондроитинсульфатных протеогликанов, участвующих в формировании микроокружения [12], а для M2-подобных – высокий уровень экспрессии интерлейкина 10 (interleukin-10, IL-10), трансформирующего фактора роста бета (transforming growth

factor beta, TGF- β) и аргиназы-1, которые оказывают положительное влияние на посттравматическую регенерацию спинного мозга [4], например путем индукции дифференцировки олигодендроцитов через механизмы, опосредованные IL-10 [13].

Цель исследования – установить влияние ТСМ в нижнегрудном отделе на распределение клеток макро- и микроглии в каудальном сегменте, прилежащем к эпикентру повреждения, и в удаленной от него области (поясничном утолщении спинного мозга) у мини-свиньи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на половозрелых 4-месячных самках вьетнамской вислобрюхой свиньи весом 20–25 кг. В течение двух недель до операции животных содержали одиночно в загоне с 12-часовым периодом чередования светлого и темного времени суток, со свободным доступом к воде и корму.

В день операции животных разделили случайным образом на две группы: интактные животные ($n = 3$) и мини-свиньи с контузионной ТСМ ($n = 3$). Премедикацию проводили с помощью внутримышечного введения 1,5 мл 2% раствора ксилазина (0,1 мл/кг), 1,5 мл раствора тилетамина и золазепам (0,1 мл/кг) и цефтриаксона (1 г / 5 мл). После чего подопытному животному подключали ингаляционный наркоз (Minor Vet Optima, Zoomed, США) путем введения смеси 2,0–2,5% изофлурана (Laboratorios Karizoo, S.A., Испания) с кислородом. Контузионную ТСМ моделировали по протоколу, который использован нами ранее [14]. После ламинэктомии на уровне Th8–Th9 позвонков металлический цилиндр импактора фиксировали на расстоянии 1 мм от поверхности спинного мозга. Дозированную контузионную травму вызывали с помощью груза массой 50 г, падающего с высоты 50 см на участок спинного мозга, покрытого твердой мозговой оболочкой.

Забор спинного мозга у мини-свиней проводили через 2 месяца после моделирования нейротравмы. Животных выводили из эксперимента, вводя в глубокий наркоз с помощью золазепам 100 объемом 0,5 мл в/м и постепенно повышая концентрацию изофлурана до 5,0 об.% ингаляционно. Для иммунофлуоресцентного анализа выделяли каудальный отдел спинного мозга длиной 5 мм на расстоянии 5 мм от эпикентра травмы, а также поясничное утолщение (L4–S2).

У интактных животных забирали идентичные области спинного мозга. Полученные образцы постфиксировали в 4% растворе параформальдегида (Sigma, США) при 4 °C в течение 12 ч, с целью криопротекции инкубировали в 30% растворе сахарозы (Sigma, США). Свободно плавающие поперечные срезы спинного мозга толщиной 20 мкм нарезали на криостате Microm HM 560. Срезы промывали в фосфатно-солевом буфере (phosphate buffered saline,

PBS) с 1% Triton X-100 в течение 5 минут 3 раза, неспецифические места связывания первичных антител блокировали в PBS с 1% тритоном X-100 и 5% сывороткой осла в течение 1 часа при комнатной температуре.

Астроциты выявляли с помощью первичных антител против глиального фибриллярного кислого белка (glial fibrillary acidic protein, GFAP), олигодендроглиальные клетки с помощью антител против фактора транскрипции олигодендроцитов 2 (oligodendrocyte transcription factor 2, Olig2), клетки микроглии с помощью антител против ионизированной кальций-связывающей адаптерной молекулы 1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1, Iba1) (табл. 1). Первый этап реакции проводили при температуре 4 °C в течение 12 ч. После промывки в PBS срезы инкубировали 2 ч. при комнатной температуре с вторичными антителами, описанными в таблице 1.

Для визуализации ядер клеток срезы дополнительно окрашивали раствором 4',6-диамидино-2-фенилиндола (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 10 мкг/мл (Sigma, США). Цифровые изображения структур спинного мозга получали с помощью микроскопа Carl Zeiss AxioScope.A1 (Carl Zeiss, Германия) и анализировали в квадрате площадью 0,05 мм² в программе ImageJ (NIH, США). В качестве негативного контроля специфичности иммунофлуоресцентной реакции срезы спинного мозга окрашивали только вторичными антителами. Серое вещество исследовали: в передних рогах – VII, VIII, IX пластины; в задних рогах – I, II, III, IV пластины (по Рекседу). Экспрессию маркеров астроцитов (GFAP) и микроглии (Iba1) оценивали как относительную иммунопозитивную площадь, занимаемую клетками. При подсчете количества олигодендроглиальных клеток (Olig2-иммунопозитивных) учитывали наличие ядер, выявляемых при помощи DAPI.

Статистический анализ

Описательные статистики представлены в виде медиан 1-го и 3-го квартилей. Для сравнения значений количественных переменных между группами

применяли тест Краскела – Уоллиса. Для попарных межгрупповых сравнений использовали тест Данна, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ полученных данных проводили в среде для статистических вычислений R 4.1.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Австрия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При иммунофлуоресцентном анализе площади астроцитов (GFAP-позитивных клеток) в передних рогах отдела спинного мозга, прилегающего к эпицентру травмы, у животных после ТСМ и у интактных существенной разницы не обнаружено (рис. 1А): 25,11 (21,35; 28,34)% vs. 22,59 (19,94; 25,66)%; $p > 0,05$. В задних рогах спинного мозга у мини-свиней после ТСМ GFAP-иммунопозитивная площадь была больше по сравнению с интактными животными: 12,53 (11,69; 13,73)% vs 6,23 (4,36; 8,73)%; $p = 0,0173$ (рис. 1).

При анализе количества астроцитов в поясничном утолщении в задних рогах обнаружено увеличение GFAP-позитивной площади у животных после ТСМ по сравнению с интактными животными: 19,87 (15,68; 23,70)% vs. 10,10 (9,17; 12,10)%; $p = 0,002$. В передних рогах эти значения у опытных и интактных животных значительно не различались и составили 23,54 (17,83; 29,59)% и 20,89 (16,18; 25,88)% соответственно; $p > 0,05$ (рис. 1).

Количество олигодендроцитов (Olig2-позитивных клеток) в передних и задних рогах в области эпицентра травмы в опытной группе было значительно снижено: 20,2 (20,0; 21,2) и 24,5 (22,25; 25) соответственно, по сравнению с интактной группой: 34,0 (34,0; 40,4) и 43 (40,75; 45,5) соответственно; $p = 0,0002$ и $p < 0,0001$ (рис. 2).

В поясничном утолщении количество Olig2-позитивных клеток у интактных мини-свиней составило 12 (11; 13) в передних и 16,5 (16; 20,75) в задних рогах. При этом у мини-свиней после ТСМ выявлено меньшее количество Olig2-позитивных клеток – 5 (4; 6) и 3 (2; 4,25) соответственно; $p < 0,0001$ и $p = 0,0001$ (рис. 2).

Таблица 1. Первичные и вторичные антитела, использованные для идентификации астроцитов, олигодендроцитов и клеток микроглии в срезах спинного мозга мини-свиней

Table 1. Primary and secondary antibodies used to label astrocytes, oligodendrocytes, and microglia in mini-pig spinal cord sections

Маркеры / Markers	Происхождение / Origin	Разведение / Dilution	Производитель / Manufacturer
GFAP (моноклональные / monoclonal) ^a	Мышь / Mouse	1:200	Santa Cruz (Cat#sc-33673)
Iba1 (моноклональные / monoclonal) ^a	Кролик / Rabbit	1:150	Abcam (Cat # ab178847)
Olig2 (моноклональные / monoclonal) ^a	Кролик / Rabbit	1:100	Abcam (Cat # ab220796)
Anti-mouse IgG conjugated with Alexa 488 ^b	Осел / Donkey	1:200	Invitrogen (Cat#A-21202)
Anti-rabbit IgG conjugated with Alexa 647 ^b	Осел / Donkey	1:200	Invitrogen (Cat#A-31573)

Примечание: ^a – первичные антитела; ^b – вторичные антитела.

Note: ^a – primary antibodies; ^b – secondary antibodies.

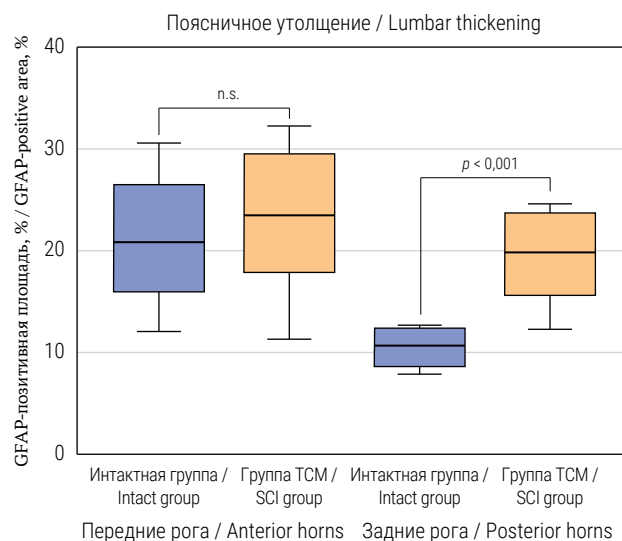
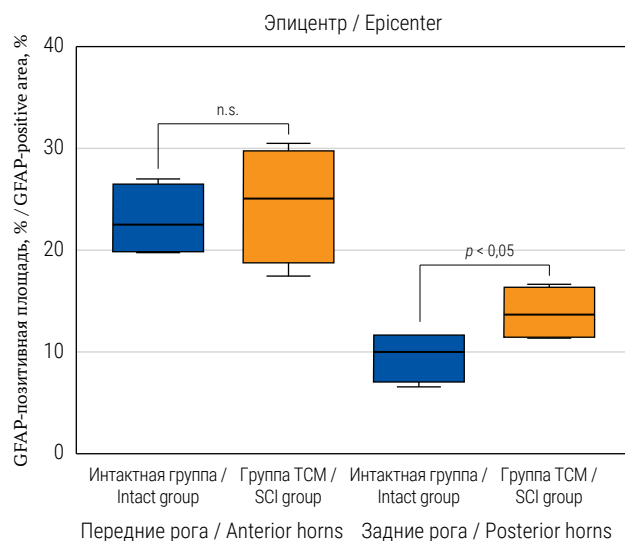


РИС. 1. Количественный анализ GFAP-позитивных площадей в спинном мозге мини-свиней через 2 месяца после моделирования TCM.

FIG. 1. Quantitative analysis of GFAP-positive areas in the spinal cord of mini-pigs 2 months after SCI modelling.

Примечание: n.s. – not significant, не значимо; TCM – травма спинного мозга.

Note: n.s. – not significant; SCI – spinal cord injury.

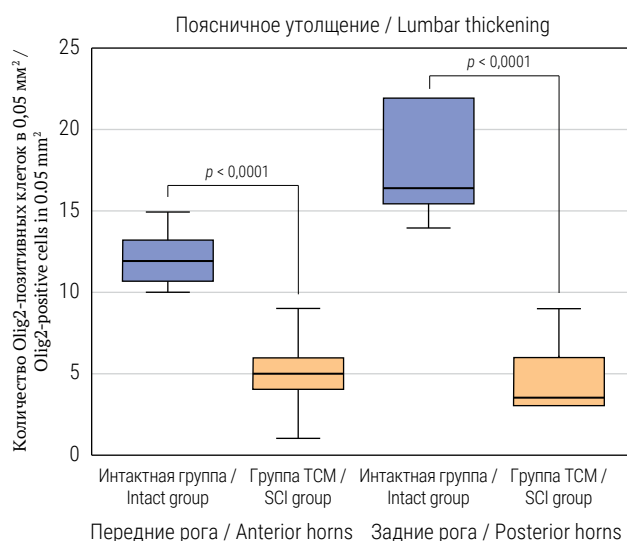
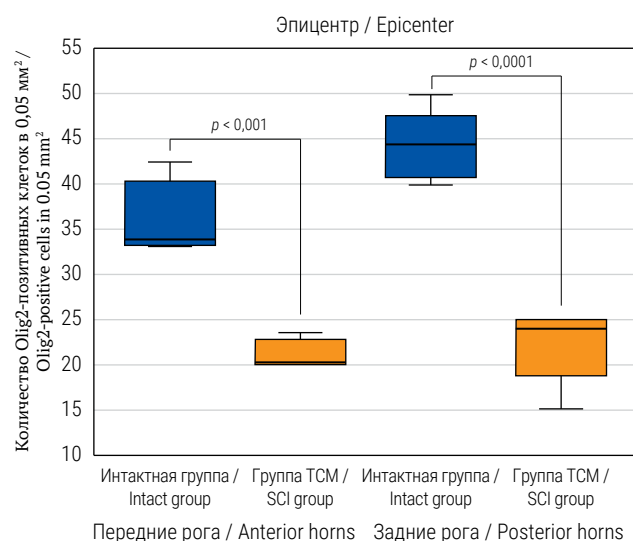


РИС. 2. Количественный анализ Olig2-позитивных клеток в спинном мозге мини-свиней через 2 месяца после моделирования TCM.

FIG. 2. Quantitative analysis of Olig2-positive cells in the spinal cord of mini-pigs 2 months after SCI modelling.

Примечание: TCM – травма спинного мозга.

Note: SCI – spinal cord injury.

Увеличение клеток микроглии (площадь Iba1-позитивных участков) выявлено в передних и задних рогах в области эпицентра травмы у животных с TCM: 24,31 (22,10; 27,19)% и 30,37 (29,29; 32,43)% соответственно, при сравнении с интактными мини-свиньями: 9,87 (8,87; 10,26)% и 26,10 (23,89; 28,09)% соответственно; $p = 0,0053$ и $p = 0,0014$ (рис. 3).

Iba1-позитивная площадь, занимаемая клетками микроглии, в поясничном утолщении была больше как в передних, так и задних рогах у мини-свиней

с TCM: 25,41 (20,50; 26,25)%; $p = 0,0001$ и 22,19 (14,29; 23,53)% соответственно; $p = 0,0001$ при сравнении с интактными животными: 9,80 (7,35; 10,61)% и 8,12 (7,58; 8,79)% соответственно (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали, что через 2 месяца после TCM у мини-свиней как в каудальном отделе спинного мозга, прилегающем к эпицентру травмы, так и в удаленной области

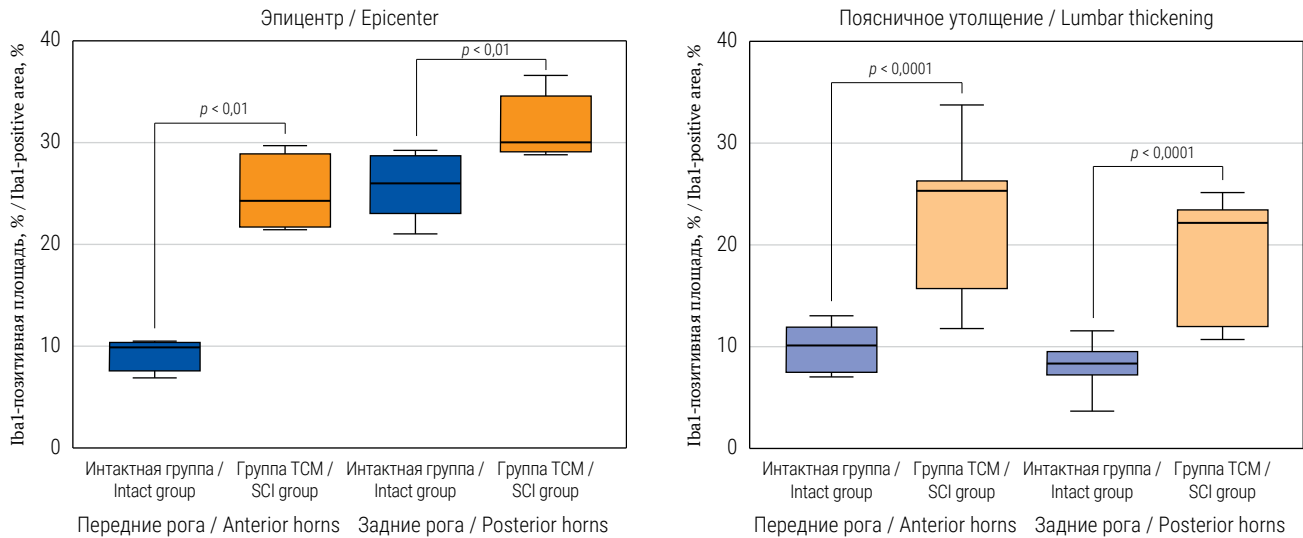


РИС. 3. Количественный анализ Iba1-позитивных клеток в спинном мозге мини-свиней через 2 месяца после моделирования ТСМ.

FIG. 3. Quantitative analysis of Iba1-positive areas in the spinal cord of mini-pigs 2 months after SCI modelling.

Примечание: ТСМ – травма спинного мозга.

Note: SCI – spinal cord injury.

поясничного отдела происходит схожая посттравматическая реакция, проявляющаяся в увеличении площадей, занимаемых астроцитами (GFAP-позитивными клетками) и клетками микроглии (Iba1-позитивными клетками), участвующими в формировании глиального рубца, и одновременном уменьшении количества олигодендроцитов (Olig2-позитивных клеток), отвечающих за миелинизацию нервных волокон [2].

Полученные нами данные свидетельствуют о развитии хронического процесса, распространяющегося на удаленный от эпицентра ТСМ поясничный отдел спинного мозга. Анализ литературных источников также свидетельствует, что ТСМ вызывает нейровоспаление не только в эпицентре повреждения [2], но и в обширных зонах вокруг него в обоих (краниальном и каудальном) направлениях [11].

ТСМ оказывает длительное разрушительное воздействие на независимость и активность в повседневной жизни пациента, наносит физический и психологический ущерб [15]. Инвалидизация пациентов с ТСМ является значимой социально-экономической проблемой не только для пациента и членов его семьи, но и для государства. Ограниченная регенерация клеток в центральной нервной системе – ключевая проблема, которую необходимо решить при разработке новых методов лечения ТСМ. Экспериментальные подходы к посттравматическому морфофункциональному восстановлению спинного мозга первоначально разрабатываются на моделях ТСМ у животных, но они не могут быть напрямую экстраполированы на пациентов со спинномозговой травмой. Мини-свиньи по анатомическим особенностям нервной системы, физиологическим и биохимическим характеристикам приближены

к человеку и считаются наиболее оптимальными животными для доклинических исследований [15].

Ремоделирование спинного мозга после ТСМ носит многогранный характер [11]. В эпицентре образуется очаг первичного повреждения с последующей активацией клеток микроглии и воспалительной инфильтрацией нейтрофилами, макрофагами, клетками резидентной микроглии [16]. Дегенерации поврежденных нервных волокон из очага ТСМ, а также проходящих через него, способствуют астроциты и микроглия, они же участвуют в реципрокной активации других нейронов [11]. В итоге происходит разрушение нервных волокон нисходящих и восходящих путей, прерывается связь между нейронами головного и спинного мозга. Воспалительный ответ подробно охарактеризован в зоне травмы [17], однако до сих пор недостаточно изучен в областях, удаленных от области повреждения [11]. При этом важность таких сведений для разработки новых методов терапии более чем очевидна.

На преодоление патогенетических и патоморфологических событий в подострой и хронической фазах ТСМ направлены такие современные стратегии лечения, как генная терапия (повышение выживаемости клеток спинного мозга, стимулирование роста аксонов, сдерживание развития нейровоспаления и предотвращение образования астроглиального рубца) и электростимуляция (содействие нейропластичности и интеграции эфферентных и афферентных сигналов, способствующих функциональному восстановлению спинного мозга). Согласно последним исследованиям, надлежит уделять внимание предотвращению патологических изменений спинного

мозга не только в сегментах, прилежащих к эпицентру травмы, но и в отдаленных областях.

Ограничения исследования

Большинство работ, посвященных изучению патогенетических и патоморфологических процессов при ТСМ, сфокусировано главным образом на эпицентре первичного повреждения. В настоящем исследовании нами представлены данные о реакции клеток макро- и микроглии в каудальных сегментах спинного мозга после контузионной травмы в нижнегрудном отделе у мини-свиней. Однако патологический процесс распространяется и в краниальном направлении. В этой связи требуется проведение дополнительных исследований реорганизации клеток нейроглии выше эпицентра повреждения.

Направления для дальнейших исследований

Одним из аспектов последствий ТСМ является ремоделирование клеток нейроглии. Изучение

патогенеза спинальной нейротравмы на мини-свиньях в нашей модели должно включать в себя исследование процессов: молекулярной перестройки внеклеточного матрикса, нейровоспаления, дегенерации и регенерации нервных проводников, реорганизации транстрауматической нейронной сети и особенно вопросов нарушения и восстановления гемато-спинального барьера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования продемонстрировали схожую картину распределения макро- и микроглии как в сохранной нервной ткани, каудально прилегающей к эпицентру ТСМ, так и в отдаленном участке поясничного утолщения. Ремоделирование нейроглии в удаленных от места повреждения спинного мозга областях является важным процессом, который следует учитывать при разработке способов нейрорегенерации у пациентов с ТСМ.

ВКЛАД АВТОРОВ

Р.Р. Гарифулин, А.А. Измайлов, В.А. Маркосян, И.С. Миняева провели исследование и собрали материал. Р.Р. Гарифулин, А.А. Измайлов проанализировали результаты. В.В. Валиуллин, Р.Р. Исламов написали и отредактировали текст рукописи. Р.Р. Исламов – руководитель работы, разработал идею исследования, сформулировал цели и задачи и осуществлял руководство работой. Все авторы утвердили окончательную версию публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ravil R. Garifulin, Andrey A. Izmailov, Vage A. Markosyan, Irina S. Minyazeva – conducting a research and data collection. Ravil R. Garifulin, Andrey A. Izmailov – data curation and analysis. Victor V. Valiullin, Rustem R. Islamov – writing and editing the draft of the article. Rustem R. Islamov – work leader, conceptualization, supervision. All authors approved the final version of the publication.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Якушин О.А., Агаджанян В.В., Новокишинов А.В. Анализ летальных исходов у пациентов с позвоночно-спинномозговой травмой в остром периоде. Политравма. 2019; (3): 55–60. EDN: CWGZER / Yakushin O.A., Agadzhanian V.V., Novokishonov A.V. Analysis of lethal outcomes in patients with spine and spinal cord injury in the acute period. Polytrauma. 2019; (3): 55–60 (In Russian). EDN: CWGZER
2. O'Shea T.M., Burda J.E., Sofroniew M.V. Cell biology of spinal cord injury and repair. J Clin Invest. 2017; 127(9): 3259–3270. <https://doi.org/10.1172/JCI90608>. Epub 2017 Jul 24. PMID: 28737515
3. Parthiban J., Zileli M., Sharif S.Y. Outcomes of spinal cord injury: WFNS Spine Committee Recommendations. Neurospine 2020; 17 (4): 809–819. <https://doi.org/10.14245/ns.2040490.245>. PMID: 33401858
4. Alizadeh A., Dyck S.M., Karimi-Abdolrezaee S. Traumatic spinal cord injury: an overview of pathophysiology, models and acute injury mechanisms. Front Neurol. 2019; 10: 282. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00282>. PMID: 30967837
5. Ren Y., Ao Y., O'Shea T.M., et al. Ependymal cell contribution to scar formation after spinal cord injury is minimal, local and dependent on direct ependymal injury. Sci Rep. 2017; 7: 41122. <https://doi.org/10.1038/srep41122>. PMID: 28117356
6. Sofroniew M.V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. Nat Rev Neurosci. 2015; 16(5): 249–263. <https://doi.org/10.1038/nrn3898>. Erratum in: Nat Rev Neurosci. 2015 Jun; 16(6): 372. PMID: 2589150
7. Klapka N., Müller H.W. Collagen matrix in spinal cord injury. J. Neurotrauma 2006 Mar-Apr; 23(3–4): 422–435. <https://doi.org/10.1089/neu.2006.23.422>. PMID: 16629627
8. Krupa P., Siddiqui A.M., Grahn P.J., et al. The translesional spinal network and its reorganization after spinal cord injury. Neuroscientist. 2022; 28(2): 163–179. <https://doi.org/10.1177/1073858420966276>. Epub 2020 Oct 22. PMID: 33089762
9. Khakh B.S., Sofroniew M.V. Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. Nat Neurosci. 2015; 18(7): 942–952. <https://doi.org/10.1038/nn.4043>. PMID: 2610872
10. Orr M.B., Gensel J.C. Spinal cord injury scarring and inflammation: therapies targeting glial and inflammatory responses. Neurotherapeutics. 2018; 15(3): 541–553. <https://doi.org/10.1007/s13311-018-0631-6>. PMID: 29717413
11. Chelyshev Y. More attention on segments remote from the primary spinal cord lesion site. Front Biosci (Landmark Ed). 2022; 27(8): 235. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2708235>. PMID: 36042182
12. Mikita J., Dubourdieu-Cassagno N., Deloire M.S., et al. Altered M1/M2 activation patterns of monocytes in severe relapsing experimental rat model of multiple sclerosis. Amelioration of clinical status by M2 activated monocyte administration. Mult Scler. 2011; 17(1): 2–15. <https://doi.org/10.1177/1352458510379243>. Epub 2010 Sep 2. PMID: 20813772
13. Dyck S., Kataria H., Alizadeh A., et al. Perturbing chondroitin sulfate proteoglycan signaling through LAR and PTP α receptors promotes a beneficial inflammatory response following spinal cord injury. J Neuroinflammation. 2018; 15(1): 90. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1128-2>. PMID: 29558941
14. Islamov R.R., Bashirov F.V., Sokolov M.E., et al. Gene-modified leucoconcentrate for personalized ex vivo gene therapy in a mini pig model of moderate spinal cord injury. Neural Regen Res. 2021;

- 16(2): 357–361. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.290902>. PMID: 32859798
15. Schomberg D.T., Miranpuri G.S., Chopra A., et al. Translational relevance of swine models of spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2017; 34(3): 541–551. <https://doi.org/10.1089/neu.2016.4567>. Epub 2016 Aug 25. PMID: 27492951
16. Nakajima H., Honjoh K., Watanabe S., et al. Distribution and polarization of microglia and macrophages at injured sites and the lumbar enlargement after spinal cord injury. *Neurosci Lett*. 2020; 737: 135152. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135152>. Epub 2020 Jun 9. PMID: 32531528
17. Islamov R., Bashirov F., Izmailov A., et al. New therapy for spinal cord injury: autologous genetically-enriched leucoconcentrate integrated with epidural electrical stimulation. *Cells*. 2022; 11(1): 144. <https://doi.org/10.3390/cells11010144>. PMID: 35011706

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гарифулин Равиль Расимович, аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6503-2316>

Измайлов Андрей Александрович✉, канд. мед. наук, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-4636>

Маркосян Варе Аршалуйсович, ассистент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3789-0284>

Минязева Ирина Салаватовна, студентка ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3159-1144>

Валиуллин Виктор Владимирович, д-р биол. наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6030-6373>

Исламов Рустем Робертович, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6632-4636>

Ravil R. Garifulin, postgraduate student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6503-2316>

Andrey A. Izmailov✉, Cand. of Sci. (Medicine), Assistant Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-4636>

Vage A. Markosyan, Assistant Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Kazan State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3789-0284>

Irina S. Minyazeva, student, Kazan State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3159-1144>

Victor V. Valiullin, Dr. of Sci. (Biology), Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6030-6373>

Rustem R. Islamov, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6632-4636>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



Возрастное развитие соматостатинергических нейронов симпатических превертебральных узлов

А.И. Емануйлов, В.В. Порсева, А.В. Павлов, П.М. Маслюков✉

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России
ул. Революционная, д. 5, г. Ярославль, 150000, Россия

Аннотация

Цель. Определить содержание нейронов, экспрессирующих соматостатин (SST), и его колокализацию с тирозингидроксилазой (TH) и нейропептидом Y (NPY) в краниальном шейном ганглии (КШГ) и солнечном сплетении крысы.

Материалы и методы. Работа выполнена на 30 белых крысах-самцах линии Wistar шести возрастных групп (по 5 крыс в каждой): новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-суточные, 24-месячные. Срезы ганглиев инкубировали с первичными антителами к SST, NPY, TH и вторичными, конъюгированными с флуорохромами. Определяли долю иммунореактивных (IR) нейронов с видимым ядрышком и с флуоресценцией, превышающей фоновое свечение, по отношению к общему числу нейронов, а также среднюю площадь сечения с помощью программы Image J (NIH, США).

Результаты. SST-IR нейроны отсутствовали в КШГ. Иммунореактивный материал обнаруживался в области тел большинства нейронов солнечного сплетения в виде гранул для SST и NPY и располагался относительно гомогенно для TH. Доля SST-IR нейронов составляла 33% у новорожденных, увеличивалась в два раза в первый месяц жизни и далее оставалась постоянной (70–73%). Не установлено статистически значимых различий по долям SST-IR нейронов между краниальным брыжеечным ганглием (КБГ) и чревным ганглием (ЧГ) во всех возрастных группах. С момента рождения и до 60 суток жизни средняя площадь сечения SST-IR нейронов в ЧГ и КБГ увеличивалась в 3,4–3,9 раза и далее не менялась до 24 мес. С 20-х суток жизни средняя площадь сечения SST-IR нейронов в ЧГ была статистически значимо выше, чем в КБГ. Все SST-IR нейроны во всех возрастных группах содержали TH и 90–94% нейронов колокализовали NPY.

Заключение. Содержание SST-IR нейронов в различных симпатических узлах гетерохронно: они отсутствуют в КШГ, а их доля и площадь в солнечном сплетении в раннем постнатальном онтогенезе увеличивается. Это может быть связано с особенностями иннервируемых органов-мишеней.

Ключевые слова: соматостатин; колокализация соматостатина; тирозингидроксилаза; нейропептид Y; желудочно-кишечный тракт; моторика

Рубрики MeSH:

ГАНГЛИИ СИМПАТИЧЕСКИЕ – МЕТАБОЛИЗМ

ГАНГЛИИ СИМПАТИЧЕСКИЕ – РОСТ И РАЗВИТИЕ

СОМАТОСТАТИН – МЕТАБОЛИЗМ

ИММУНОГИСТОХИМИЯ

Для цитирования: Емануйлов А.И., Порсева В.В., Павлов А.В., Маслюков П.М. Возрастное развитие соматостатинергических нейронов симпатических превертебральных узлов. Сеченовский вестник. 2023; 14(3): 28–36. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.28-36>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Маслюков Петр Михайлович, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: ул. Революционная, д. 5, г. Ярославль, 150000, Россия

Тел.: +7 (910) 972-88-61

E-mail: mpm@ysmu.ru

Соответствие принципам этики. Исследование проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с разрешением Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (№ 58-16.05.2022).

Доступ к данным исследования. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (РНФ), грант 23-25-00141.

Поступила: 26.06.2023

Принята: 03.08.2023

Дата публикации: 28.09.2023

Age-dependent patterns of somatostatinergic neurons in sympathetic paravertebral ganglia

Andrey I. Emanuilov, Valentina V. Porseva, Alexei V. Pavlov, Petr M. Masliukov✉

*Yaroslavl State Medical University
5, Revolyutsionnaya str., Yaroslavl, 150000, Russia*

Abstract

Aim. We aimed to determine the content of neurons expressing somatostatin (SST) and their colocalization with cells expressing tyrosine hydroxylase (TH) and neuropeptide Y (NPY) in the cranial cervical ganglion (CCG) and celiac plexus in rats.

Material and methods. We used 30 white male Wistar rats of six age groups (5 rats per group): newborn pups, 10-, 20-, 30-, and 60-day-old pups, and 24-month-old pups. We incubated their ganglia sections with primary antibodies against SST, NPY, and TH, as well as with secondary antibodies conjugated with fluorochromes. We evaluated the ratio between immunoreactive (IR) neurons with a visible nucleolus and excessive fluorescence and the total number of neurons, as well as the average cross-sectional area, by ImageJ software (NIH, USA).

Results. SST-IR neurons were not found in the CCG. However, the immunoreaction (as granules) was revealed in most perikaryons at the celiac plexus for SST and NPY with a rather homogeneous distribution for TH. The ratio of ST-IR neurons reached 33% in pups, doubled during the first month of life, and then remained constant (70–73%). No statistically significant differences were found between the ratios of SST-IR neurons of the cranial mesenteric ganglion (CMG) and celiac ganglion (CG) for all age groups. From the moment of birth to 60 days of life, the average cross-sectional area of SST-IR neurons in the CG and CMG increased by 3.4–3.9 times and then did not change until 24 months. From the 20th day of life, the average cross-sectional area of SST-IR neurons in the CG was significantly higher than that in the CMG. All SST-IR neurons in all age groups expressed TH, while 90–94% of neurons expressed NPY.

Conclusions. The content of ST-IR neurons in different sympathetic nodes is not the same: they are absent in the CCG, and their ratio and area in the celiac plexus increase during early postnatal development. This may be due to the peculiarities of innervated target organs.

Keywords: somatostatin; colocalization of somatostatin; tyrosine hydroxylase; neuropeptide Y; gastrointestinal tract; motility

MeSH terms:

GANGLIA, SYMPATHETIC – METABOLISM

GANGLIA, SYMPATHETIC – GROWTH & DEVELOPMENT

SOMATOSTATIN – METABOLISM

IMMUNOHISTOCHEMISTRY

For citation: Emanuilov A.I., Porseva V.V., Pavlov A.V., Masliukov P.M. Age-dependent patterns of somatostatinergic neurons in sympathetic paravertebral ganglia. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(3): 28–36. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.28-36>

CONTACT INFORMATION:

Petr M. Masliukov, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Normal Physiology Department, Yaroslavl State Medical University
Address: 5, Revolucionnaya str., Yaroslavl, 150000, Russia
Tel.: +7 (910) 972-88-61
E-mail: mpm@ysmu.ru

Ethics statements. The study complies with the standards of the EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. All manipulations with animals were approved by the Local Bioethics Committee of the Yaroslavl State Medical University, No. 58 of 16.05.2022.

Data availability. The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

Financial support. The study was supported by RSF, grant 23-25-00141.

Received: 26.06.2023

Accepted: 03.08.2023

Date of publication: 28.09.2023

Список сокращений:

CY3 – indocarbocyanine, индокарбоцианин
FITC – fluorescein isothiocyanate, флуоресцеин-изо-
тиоцианат
IR – immunoreactive, иммунореактивные
NPY – neuropeptide Y, нейропептид Y
PBS – phosphate buffered saline, фосфатно-солевой
буфер

SST – somatostatin, соматостатин
SSTR – somatostatin receptor, рецептор к соматоста-
тину
TH – tyrosine hydroxylase, тирозингидроксилаза
КБГ – краниальный брыжеечный ганглий
КШГ – краниальный шейный ганглий
ЧГ – чревной ганглий

Соматостатин (somatostatin, SST) представляет собой полипептид, относящийся к гормонам и нейропептидам. Существует в двух биологически активных формах: SST-14 и SST-28, которые различаются, соответственно, числом входящих в состав молекулы аминокислот [1]. Физиологические функции опосредованы 5 типами рецепторов к соматостатину: SSTR1–SSTR5 (somatostatin receptor), которые имеют похожую структуру и механизмы передачи сигналов, но отличаются своей клеточной и субклеточной локализацией и способом регуляции [1, 2].

SST прежде всего рассматривается как сильный ингибирующий фактор в эндокринной системе и желудочно-кишечном тракте; влияет на деление клеток, сократимость гладких мышц внутренних органов, обмен питательными веществами. В качестве нейропептида SST оказывает прямое действие на центральную нервную систему и передачу нервных импульсов [1, 3]; также играет роль трофического фактора в развитии нейронов в эмбриогенезе [4]. В недавних исследованиях обнаружено присутствие SST в автономной нервной системе млекопитающих – в части нейронов симпатических узлов [5]. В подавляющем большинстве этих нейронов содержится медиатор норадреналин и фермент его синтеза тирозингидроксилаза (tyrosine hydroxylase,

TH), две трети нейронов содержат нейропептид Y (neuropeptide Y, NPY) [6, 7].

Нейромедиаторный состав симпатических нейронов изменяется в онтогенезе, а также различен по локализации в ганглиях [8–10]. В частности, у крысы в эмбриогенезе на 16 сутки эмбрионального развития наблюдается транзиторная экспрессия SST в большинстве симпатических ганглионарных нейронов [10, 11].

Во время эмбрионального развития морской свинки в солнечном сплетении SST-иммунореактивные (immunoreactive, IR) нейроны появляются позже, чем NPY-IR, причем большинство (75%) SST-IR нейронов на поздних эмбриональных стадиях продолжают экспрессировать NPY, что в неонатальном периоде наблюдается редко (<2%) [8, 12].

После рождения у мыши в превертебральных узлах выявляется малое число SST-IR нейронов [13]. тогда как у морской свинки их количество в превертебральных узлах солнечного сплетения достигает 25%, а у свиней 12–15%, в отличие от паравертебральных узлов [14, 15]. Так, в паравертебральном звездчатом ганглии крысы самая высокая доля нейронов, содержащих SST, наблюдается у новорожденных (7% от общего числа нейронов), позже количество SST-IR нейронов снижается

до 4% и остается постоянным, начиная с 10 дней жизни [9].

В литературных источниках отсутствуют данные о постнатальных изменениях состава нейромедиаторов в других симпатических узлах, в частности паравerteбральном краниальном шейном ганглии (КШГ), а также в солнечном сплетении: превертебральных черевных ганглиях (ЧГ) и краниальном брыжеечном ганглии (КБГ).

Целью исследования является определение содержания SST-IR нейронов в КШГ и солнечном сплетении крысы в постнатальном онтогенезе, а также колокализации соматостатина с другими нейротрансмиттерами, включая фермент синтеза катехоламинов TH и NPY.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 30 белых крысах-самцах линии Wistar следующих шести возрастных групп (по 5 крыс в каждой): новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-суточные, 24-месячные.

Животных выводили из эксперимента путем инъекции летальной дозы уретана (3 г/кг, внутрибрюшинно). Далее проводилась транскардиальная перфузия раствором стандартного фосфатно-солевого буфера (phosphate buffered saline, PBS) 0,01 M, pH 7,4 (ООО «БиолоТ», РФ) объемом от 20 до 500 мл в зависимости от возраста, а затем таким же объемом фиксирующей смеси 4% раствора параформальдегида (Sigma, США) в PBS. Далее извлекались: КШГ, ганглии солнечного сплетения (правый и левый ЧГ и КБГ) и помещались на 2 часа при комнатной температуре в ту же фиксирующую смесь, в которой проводили перфузию. Затем ганглии три раза промывались в PBS по 10 минут с интервалом в 5 минут и перемещались в 30% раствор сахарозы на PBS на 12 часов при температуре 4 °C. Серии срезов толщиной 12 мкм изготавливали на криостате.

На следующем этапе проводили прединкубацию срезов в течение 30 мин при комнатной температуре в PBS с добавлением 10% ослиной сыворотки (Jackson ImmunoResearch, США), 1% тритона X-100, 0,1% бычьего сывороточного альбумина, 0,05% тимерозола. После этого срезы инкубировали с первичными антителами: козьими против SST, 1:200 (Santa Cruz, sc-7819), овечьими против TH, 1:1000 (Abcam, ab113), кроличьими против NPY, 1:500 (Abcam, ab30914), в течение 24 ч при комнатной температуре. После кратковременной промывки в PBS срезы инкубировали со вторичными антителами в течение 2 ч. Вторичные антитела были конъюгированы с флуорохромами – флуоресцеин изотиоцианатом (fluorescein isothiocyanate, FITC), дающим зеленую флуоресценцию, и индокарбоданином (indocarbocyanine, CY3), дающим красную флуоресценцию (разведение 1:150, Jackson ImmunoResearch, США).

Окраску клеток всей популяции нейронов проводили зеленым флуоресцентным красителем NeuroTrace™ Green Fluorescent Nissl Stains (Molecular Probes, США) – разведение 1:200. После этого срезы отмывали в PBS и заключали в среду для флуоресцентной микроскопии VectaShield (Vector Laboratories, США). Для исключения неспецифической реакции часть срезов инкубировали без первичных и/или вторичных антител.

Анализ препаратов проводился с использованием программно-аппаратного комплекса, включающего флуоресцентный микроскоп Olympus BX43 (Olympus, Япония) с набором фильтров (модуль зеркал UFBWA – синее возбуждение, фильтр возбуждения BP460-495, барьерный фильтр BA510-550 – зеленая флуоресценция; модуль зеркал U-FGWA – зеленое возбуждение, фильтр возбуждения BP530-550, барьерный фильтр BA575-625 – красная флуоресценция), охлаждаемую CCD камеру Tucsen FL-20 (Xintu Photonics, Китай) и компьютер на базе процессора Intel Core i7 (Intel, США). Получение и последующая обработка изображений проводилась с использованием программы Mosaic, версия 2.1 (Xintu Photonics, Китай).

Полученные мультиканальной флуоресценцией с различными спектрами флуорохромов изображения препаратов комбинировали при помощи программы Paint Shop Pro 7.02 (Jasc Software, Inc., США), при этом накладывали снимки одного и того же поля зрения. Объединенный рисунок отображал зеленый и красный цвета и зоны их перекрытия в виде градиента желто-зеленого цвета.

Для выявления меченых нейронов использовали каждый третий из серийных срезов. Число меченых нейронов определяли на изображениях срезов площадью 0,14 мм², полученных под объективом 20x/0,50. Долю SST-IR нейронов определяли как их отношение к общему количеству нейронов, выявленных с помощью NeuroTrace™ Fluorescent Nissl Stains, которое принимали за 100%. Анализу подлежали нейроны, срез которых прошел через ядро с видимым ядрышком и с флуоресценцией, превышающей фоновое свечение. Число меченых нейронов, а также среднюю площадь сечения SST-IR нейронов определяли с помощью программы Image J (NIH, США). Для определения средней площади сечения при увеличении 200 вручную обводили границы IR клеток. Всего для анализа брали 200 нейронов в каждом ганглии каждой возрастной группы.

Статистическая обработка данных

Проверка на нормальность распределения случайных величин проводилась с использованием критерия Шапиро – Уилка. Значимость различий средних величин оценивалась при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для парных сравнений использовался *t*-критерий Стьюдента,

для множественных межгрупповых сравнений использовалась поправка Бонферрони. Различия принимались как значимые при $p < 0,05$. Для статистического анализа данных использовалась программа Sigma Plot (Systat Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты показали, что иммуномечение к SST и NPY было представлено в виде гранул, заполняющих цитоплазму, в то время как иммунореактивность к TH была относительно гомогенной.

В большинстве нейронов иммунореактивный материал обнаруживался в области тел, тем не менее у отдельных клеток он выявлялся и в области проксимальных дендритов.

Меченые нейроны были распределены по поверхности среза относительно равномерно. Мы не обнаружили количественных различий между левым и правым ЧГ, поэтому далее представлены усредненные данные по обоим узлам.

SST-IR нейроны не обнаруживались в КШГ, но выявлялись в солнечном сплетении. Начиная с периода

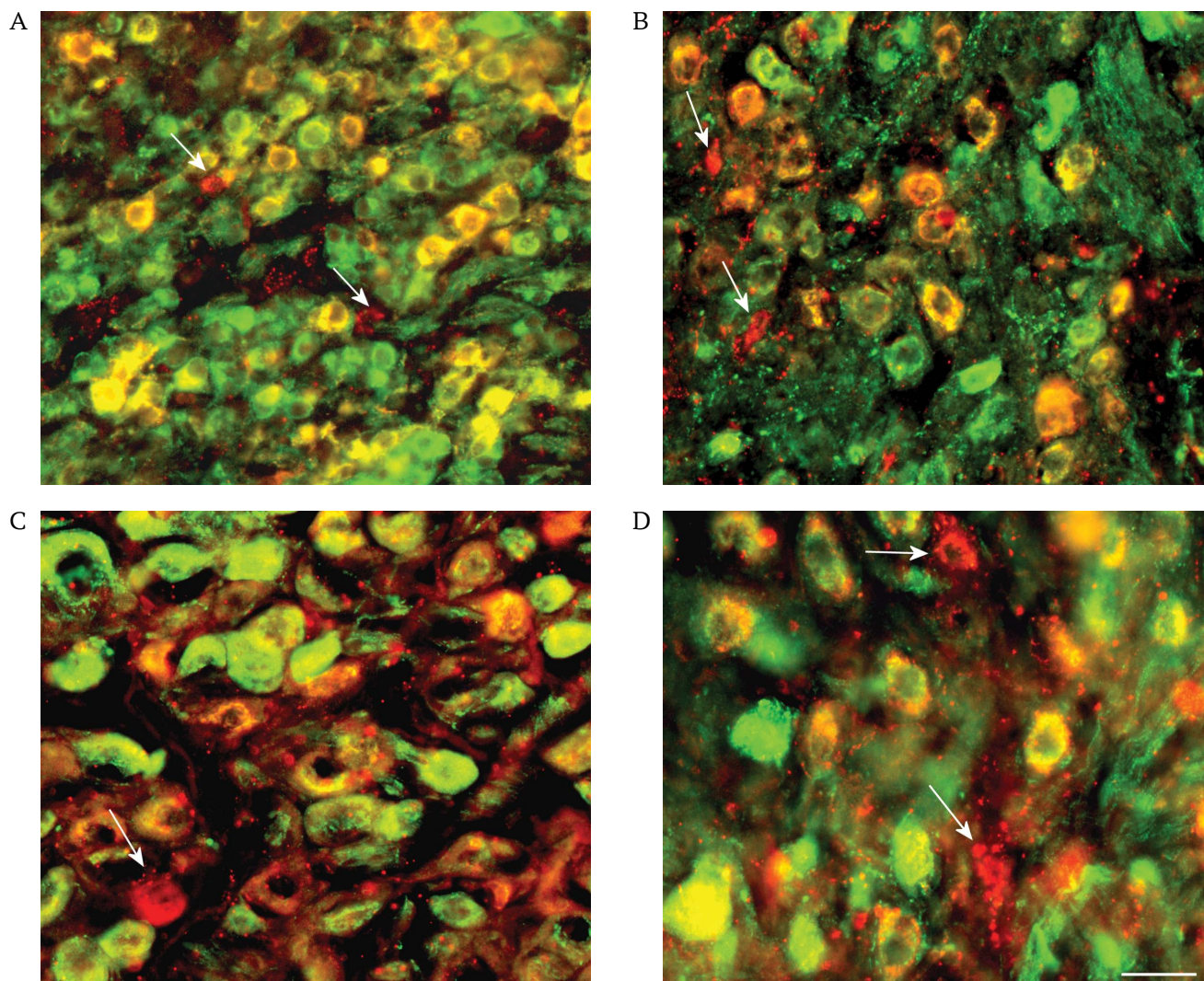


РИС. 1. Содержание в чревном ганглии у крыс разных возрастов нейронов, экспрессирующих соматостатин (красные) и нейропептид Y (зеленые), и их колокализация (желтый цвет).

Микрофото: об. 20, ок. 10. Масштаб: 30 мкм.

Иммунонегативные к нейропептиду Y соматостатинергические нейроны указаны стрелкой. Флуоресценция: флуоресцеин-изотиоцианат и индокарбocyанин.

Возраст крысы: А – новорожденная, В – 10-суточная, С – 60-суточная, D – 24-месячная.

FIG. 1. Content of neurons expressing somatostatin (red) and neuropeptide Y (green) and their colocalization (yellow) in celiac ganglia of rats at different ages.

Microphotograph: ob. 20, oc. 10. Scale: 30 μ m.

Somatostatinergic neurons immunonegative for neuropeptide Y are indicated by arrows. Fluorescence: fluorescein isothiocyanate and indocarbocyanine.

Age of the rat: A – newborn pup, B – 10-day-old, C – 60-day-old, D – 24-month-old.

новорожденности и до 24 мес. часть нейронов и в ЧГ, и в КБГ была SST-IR (рис. 1).

У новорожденных треть нейронов в ЧГ и КБГ была с IR. Доля SST-IR нейронов удваивалась в онтогенезе в обоих узлах в течение первых 30 суток жизни и сохранялась на уровне 70–73% до 24 мес. (табл. 1). Мы не наблюдали значимых различий по долям SST-IR между КБГ и ЧГ в каждой из возрастных групп.

Средняя площадь сечения SST-IR нейронов увеличивалась в ЧГ и КБГ с момента рождения до 60 суток жизни (табл. 2). С 20-х суток жизни у крыс средняя площадь сечения SST-IR нейронов в ЧГ была статистически значимо выше, чем в КБГ.

Во всех возрастных группах, с момента рождения и до 24 мес., все SST-IR нейроны ЧГ и КБГ

колокализовали фермент синтеза катехоламинов TH. При этом, независимо от возраста, подавляющее большинство SST-IR нейронов (90–94%) содержали NPY (рис. 1, 2). Не было обнаружено значимых различий между долями SST-IR нейронов, колокализирующих NPY, в различных возрастных группах (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты настоящего исследования демонстрируют наличие SST-IR нейронов в превертебральных ЧГ и КБГ к моменту рождения, при этом в паравертебральном КШГ SST-IR нейроны не обнаружены. Доля SST-IR нейронов в превертебральных узлах у крысы превосходит аналогичный показатель у других млекопитающих, включая мышь, морскую

Таблица 1. Доля соматостатинергических нейронов в симпатических узлах крыс в постнатальном онтогенезе
Table 1. The content of somatostatinergic neurons in postnatal sympathetic ganglia of rats

Возраст / Age	Доля SST-IR нейронов, % / The content of SST-IR neurons, %		Значение <i>p</i> / <i>p</i> value
	Чревный ганглий / Celiac ganglion	Краниальный брыжеечный ганглий / Cranial mesenteric ganglion	
Новорожденный / Newborn pup	34 ± 3,1 ^a	33 ± 3,3 ^a	n.s.
10 суток / 10-day-old	42 ± 2,7 ^a	45 ± 4,1 ^a	n.s.
20 суток / 20-day-old	55 ± 4,9 ^a	53 ± 5,8 ^a	n.s.
30 суток / 30-day-old	70 ± 6,2	72 ± 7,9	n.s.
60 суток / 60-day-old	73 ± 5,9	73 ± 6,2	n.s.
24 месяца / 24-month-old	71 ± 5,6	71 ± 7,1	n.s.

Примечание: доля соматостатинергических нейронов представлена в процентах от общего числа нейронов. Данные по чревному ганглию представлены усредненными значениями по правому и левому узлам.

^a*p* < 0,05 по сравнению с 60-суточным.

SST-IR – somatostatin immunoreactive, соматостатин иммунореактивные; n.s. – not significant (не значимо).

Note: the content of somatostatinergic neurons is given as a percentage of the total number of neurons. Data for celiac ganglia are presented as average values for right and left nodes.

^a*p* < 0,05 compared to 60-day-old.

SST-IR – somatostatin immunoreactive; n.s. – not significant.

Таблица 2. Площадь поперечного сечения соматостатинергических нейронов в симпатических узлах крыс разных возрастов
Table 2. Cross-sectional area of somatostatinergic neurons in the sympathetic ganglia of rats at different ages

Возраст / Age	Площадь поперечного сечения SST-IR нейронов, мкм ² / Cross-sectional area of SST-IR neurons, μm ²		Значение <i>p</i> / <i>p</i> value
	Чревный ганглий / Celiac ganglion	Краниальный брыжеечный ганглий / Cranial mesenteric ganglion	
Новорожденный / Newborn pup	172 ± 7,2 ^a	167 ± 8,1 ^a	n.s.
10 суток / 10-day-old	272 ± 10,7 ^a	273 ± 12,6 ^a	n.s.
20 суток / 20-day-old	453 ± 11,2 ^a	382 ± 15,5 ^a	<0,05
30 суток / 30-day-old	574 ± 22,2 ^a	485 ± 19,8 ^a	<0,05
60 суток / 60-day-old	673 ± 33,3	576 ± 21,4	<0,05
24 месяца / 24-month-old	735 ± 34,3	622 ± 38,5	<0,05

Примечание: представлена средняя площадь 200 нейронов. Данные по чревному ганглию представлены усредненными значениями по правому и левому узлам.

^a*p* < 0,05 по сравнению с 60-суточным.

SST-IR – somatostatin immunoreactive, соматостатин иммунореактивные; n.s. – not significant (не значимо).

Note: represents the average area of 200 neurons. Celiac ganglion data are presented as average values for the right and left nodes.

^a*p* < 0.05 compared to 60-day-old.

SST-IR – somatostatin immunoreactive; n.s. – not significant.

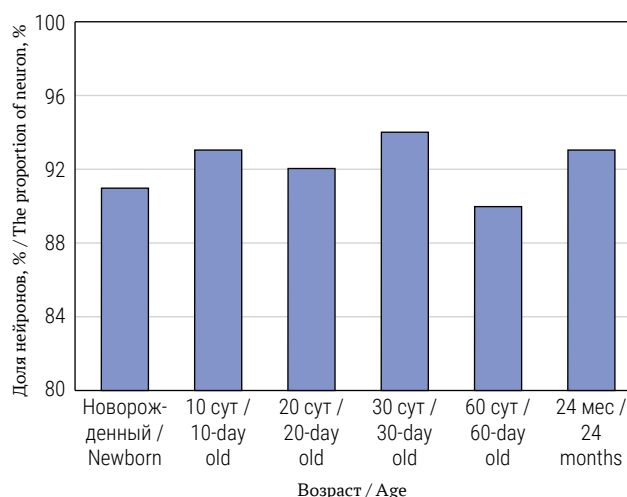


РИС. 2. Процент соматостатинергических (SST) нейронов в чревном ганглии в постнатальном онтогенезе, колокализирующих нейрпептид Y (NPY).

FIG. 2. Percentage of somatostatinergic (SST) neurons of the celiac ganglion colocalizing neuropeptide Y (NPY) in postnatal ontogenesis.

свинку, свинью и человека: у мыши и человека обнаруживались лишь отдельные SST-IR нейроны, а у свиней и морской свинки количество SST-IR нейронов в превертебральных узлах доходит до 12–15 и 25% соответственно [5, 6, 13, 14].

Наши более ранние данные свидетельствуют о том, что у крысы в узлах солнечного сплетения содержится больше SST-IR нейронов по сравнению с другими узлами, включая звездчатый узел [9]. Мы впервые обнаружили, что в онтогенезе крысы в первые 30 суток жизни доля SST-IR нейронов увеличивается в превертебральных симпатических узлах, в частности ЧГ и КБГ. В отличие от этого в паравертебральном звездчатом ганглии крыс наибольшее количество нейронов, содержащих SST, обнаруживалось у новорожденных животных и составляло 7% [9]. В постнатальном онтогенезе в данном узле доля SST-IR нейронов уменьшается в первые 10 суток жизни до 4% [9]. Таким образом, в различных симпатических узлах доля SST-IR нейронов изменяется гетерохронно, что может быть связано с особенностями иннервируемых органов-мишеней. КШГ обеспечивает симпатическую иннервацию головы, звездчатый ганглий – органов грудной полости и шеи, а превертебральные узлы – органов брюшной полости [16, 17]. Ранее нами было показано, что SST-IR нейроны, иннервирующие сердце, выявляются в звездчатом узле только у новорожденных крыс и не наблюдаются у более взрослых [18].

В данной работе мы установили, что доля SST-IR нейронов в превертебральных симпатических узлах крысы начиная с возраста 30 суток далее не изменяется до 2 лет. Согласно литературным данным,

в гипоталамусе доля SST-IR нейронов у возрастных особей (2–2,5 года) этого вида животных также оставалась постоянной [19].

Продемонстрированная в данной работе более высокая средняя площадь сечения SST-IR нейронов в ЧГ по сравнению с КБГ у 20-суточных и более взрослых крыс подтверждает обнаруженные ранее данные о больших размерах NPY-IR нейронов в ЧГ относительно КБГ [8]. Нами установлено, что практически все SST-IR нейроны превертебральных узлов крыс в различные возрастные периоды также содержат TH и NPY. Нейромедиаторы SST и NPY подавляют перистальтику и секрецию в желудочно-кишечном тракте [7]. Предполагается, что NPY-IR нейроны солнечного сплетения, не содержащие SST, являются вазомоторными, а NPY/SST-IR – висцеромоторными [20]. Наибольшее число висцеромоторных волокон направляется к интрамуральным узлам межмышечного сплетения желудочно-кишечного тракта [7].

Экспрессия SST может изменяться при патологии – например, у свиньи при воспалении желудочно-кишечного тракта, включая язвенный колит и химически индуцированное воспаление нисходящей ободочной кишки, увеличивается количество данного пептида в ганглионарных нейронах [21]. Имеются данные о том, что SST подавляет воспалительные реакции в кишечнике путем двунаправленной коммуникации между нейронами и тучными клетками, также модулирует активность лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником [22]. SST стимулирует пролиферацию В-лимфобластов, при этом ингибирует активность Т-лимфоцитов, пролиферацию гранулоцитов, синтез провоспалительных цитокинов [23]. SST также участвует в соматостатинергической противовоспалительной петле (somatostatinergic anti-inflammatory loop) [24]: когда повреждающие агенты раздражают пептидергические нейроны, это вызывает высвобождение вещества Р и/или кальцитонин-ген-родственного пептида (calcitonin gene-related peptide, CGRP). Последние индуцируют локальное нейрогенное воспаление, которое, в свою очередь, вызывает выброс SST из тех же нейронов. SST замыкает круг, останавливая высвобождение вышеуказанных нейрпептидов, и ингибирует воспалительные процессы [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В раннем постнатальном онтогенезе крысы в превертебральных узлах наблюдается увеличение доли нейронов, содержащих SST, что важно для становления симпатической иннервации желудочно-кишечного тракта. SST не только тормозит моторику и секрецию, но и оказывает обезболивающее и противовоспалительное действие в органах пищеварения. Дальнейшие эксперименты

с изучением в различные возрастные периоды состава SST-рецепторов в органах-мишенях позволят уточнить особенности симпатической регуляции

ВКЛАД АВТОРОВ

А.И. Емануйлов и В.В. Порсева участвовали в сборе материала, проведении экспериментов и статистической обработке данных. А.В. Павлов и П.М. Маслюков разработали идею и дизайн исследования, а также участвовали в написании рукописи. Все авторы утвердили окончательную версию публикации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kumar U., Singh S. Role of somatostatin in the regulation of central and peripheral factors of satiety and obesity. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(7): 2568. <https://doi.org/10.3390/ijms21072568>
- Günther T., Tulipano G., Dournaud P., et al. International union of basic and clinical pharmacology. CV. Somatostatin receptors: structure, function, ligands, and new nomenclature. *Pharmacol Rev.* 2018; 70: 763–835. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015388>
- Ampofo E., Nalbach L., Menger M.D., Laschke M.W. Regulatory mechanisms of somatostatin expression. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(11): 4170. <https://doi.org/10.3390/ijms21114170>
- Singh S., Somvanshi R.K., Kumar U. Somatostatin-mediated regulation of retinoic acid-induced differentiation of SH-SY5Y cells: neurotransmitters phenotype characterization. *Biomedicines.* 2022; 10(2): 337. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020337>
- Ernsberger U., Deller T., Rohrer H. The diversity of neuronal phenotypes in rodent and human autonomic ganglia. *Cell Tissue Res.* 2020; 382(2): 201–231. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03279-6>
- Palus K., Bulc M., Czajkowska M., et al. Neurochemical characteristics of calbindin-like immunoreactive coeliac-cranial mesenteric ganglion complex (CCMG) neurons supplying the pre-pyloric region of the porcine stomach. *Tissue Cell.* 2018; 50: 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2017.12.002>
- Furness J.B., Di Natale M., Hunne B., et al. The identification of neuronal control pathways supplying effector tissues in the stomach. *Cell Tissue Res.* 2020; 382(3): 433–445. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03294-7>
- Masliukov P.M., Emanuilov A.I., Budnik A.F. Sympathetic innervation of the development, maturity, and aging of the gastrointestinal tract. *Anat Rec (Hoboken).* 2022; 306 (9): 2249–2263. <https://doi.org/10.1002/ar.25015>
- Маслюков П.М., Емануйлов А.И., Ноздрачев А.Д. Возрастные изменения нейротрансмиттерного состава нейронов симпатических узлов. *Успехи геронтологии.* 2016; 29(3): 442–453. PMID: 28525692 / Masliukov P.M., Emanuilov A.I., Nozdrachev A.D. Developmental changes of neurotransmitter properties in sympathetic neurons. *Adv. Gerontol.* 2016; 29(3): 442–453 (In Russian). PMID: 28525692
- Ernsberger U., Deller T., Rohrer H. The sympathies of the body: functional organization and neuronal differentiation in the peripheral sympathetic nervous system. *Cell Tissue Res.* 2021. 386(3): 455–475. <https://doi.org/10.1007/s00441-021-03548-y>
- Huang T., Hu J., Wang B., et al. Trk3 controls cholinergic transmitter and Peptide phenotypes in a subset of prenatal sympathetic neurons. *J Neurosci.* 2013; 33(26): 10667–10675. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0192-13.2013>. PMID: 23804090
- Anderson R.L., Morris J.L., Gibbins I.L. Neurochemical differentiation of functionally distinct populations of autonomic neurons. *J Comp Neurol.* 2001. 429(3): 419–435. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20010115\)429:3<419::aid-cne5>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20010115)429:3<419::aid-cne5>3.0.co;2-d). PMID: 11116229

пищеварительной системы и разработать возможные пути фармакологической коррекции заболеваний желудочно-кишечного тракта.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Andrey I. Emanuilov and Valentina V. Porseva participated in the collection of material, experiments and statistical data processing. Alexei V. Pavlov and Petr M. Masliukov developed the idea and design of the study, and contributed to the writing of the manuscript. All authors approved the final version of the publication.

- Kaestner C.L., Smith E.H., Peirce S.G., Hoover D.B. Immunohistochemical analysis of the mouse celiac ganglion: An integrative relay station of the peripheral nervous system. *J Comp Neurol.* 2019; 527(16): 2742–2760. <https://doi.org/10.1002/cne.24705>
- Szurszewski J.H., Linden D.R. Physiology of prevertebral sympathetic ganglia in: physiology of the gastrointestinal tract (Johnson L.R., ed). San Diego: Academic Press, 2012. P 583–627. ISBN 9780123820266. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382026-6.00020-8>
- Furness J.B. Integrated neural and endocrine control of gastrointestinal function. *Adv Exp Med Biol.* 2016; 891: 159–173. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27592-5_16
- Martinez-Sanchez N., Sweeney O., Sidarta-Oliveira D., et al. The sympathetic nervous system in the 21st century: Neuroimmune interactions in metabolic homeostasis and obesity. *Neuron.* 2022; 110(21): 3597–3626. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.10.017>
- Li Y.L. Stellate Ganglia and cardiac sympathetic overactivation in heart failure. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(21): 13311. <https://doi.org/10.3390/ijms232113311>
- Емануйлов А.И., Маслюков П.М., Ноздрачев А.Д. Симпатическая иннервация сердца в раннем постнатальном онтогенезе. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2019; 105(9): 1133–1141. <https://doi.org/10.1134/S086981391909005X> / Emanuilov A.I., Masliukov P.M., Nozdrachev A.D. The heart sympathetic innervation in the early postnatal development. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 2019; 105(9): 1133–1141 (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S086981391909005X>
- Vishnyakova P.A., Moiseev K.Y., Porseva V.V., et al. Somatostatin-expressing neurons in the tuberal region of rat hypothalamus during aging. *J Evol Biochem Phys* 2021; 57: 1480–1489. <https://doi.org/10.1134/S0022093021060247>
- Lomax A.E., Sharkey K.A., Furness J.B. The participation of the sympathetic innervation of the gastrointestinal tract in disease states. *Neurogastroenterol Motil.* 2010; 22(1): 7–18. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2009.01381.x>
- Palus K., Bulc M., Calka J. Changes in somatostatin-like immunoreactivity in the sympathetic neurons projecting to the prepyloric area of the porcine stomach induced by selected pathological conditions. *Biomed Res Int.* 2017: 9037476. <https://doi.org/10.1155/2017/9037476>
- Van Op den Bosch J., Adriaensen D., Van Nassauw L., Timmermans J.P. The role(s) of somatostatin, structurally related peptides and somatostatin receptors in the gastrointestinal tract: a review. *Regul Pept.* 2009; 156(1–3): 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.reg-pep.2009.04.003>

23. *Gonkowski S., Rytel L.* Somatostatin as an active substance in the mammalian enteric nervous system. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4461. <https://doi.org/10.3390/ijms20184461>. PMID: 31510021

24. *Ameri P., Ferone D.* Diffuse endocrine system, neuroendocrine tumors and immunity: what's new? *Neuroendocrinology.* 2012; 95(4): 267–276. <https://doi.org/10.1159/000334612>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Емануйлов Андрей Игоревич, канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3685-270X>

Порсева Валентина Вячеславовна, д-р мед. наук, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2814-7656>

Павлов Алексей Владимирович, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8227-9997>

Маслюков Петр Михайлович✉, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6230-5024>

Andrey I. Emanuilov, Cand. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Human Anatomy Department, Yaroslavl State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3685-270X>

Valentina V. Porseva, Dr. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Human Pathology Department, Yaroslavl State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2814-7656>

Alexei V. Pavlov, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Histology Department, Yaroslavl State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8227-9997>

Petr M. Masliukov✉, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Normal Physiology Department, Yaroslavl State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6230-5024>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



Влияние введения неселективного ингибитора NO-синтазы в период беременности на развитие коры головного мозга двадцатисуточных крысят

Т.С. Русак[✉], Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, А.Д. Бернацкая, А.С. Кусмарцева

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

ул. Горького, д. 80, г. Гродно, 230009, Республика Беларусь

Аннотация

Цель. Изучить морфологические особенности нейронов коры головного мозга двадцатисуточных крысят в условиях введения ингибитора синтазы оксида азота (Nitric oxide synthase, NOS) в период плацентации.

Материалы и методы. Беспородных белых крыс-самок ($n = 12$) случайно разделили на 2 группы по 6 крыс в каждой. На 11-е сутки беременности в опытной группе вводили однократно внутримышечно N(омега)-нитро-L-аргинин метиловый эфир (N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME) в дозе 25 мг/кг, в контрольной – однократно внутримышечно 0,9% раствор NaCl. Рожденных крысят отбирали случайно по одному от матери. На 20-е сутки после медицинской эвтаназии осуществляли забор головного мозга. В переднем отделе фронтальной коры изучали плотность и площадь нейронов, размер и форму перикарионов, выраженность их окраски толуидиновым синим.

Результаты. В опытной группе по сравнению с контрольной плотность и площадь нейронов у двадцатисуточных крысят были меньше на 10% ($p > 0,05$) и 22% ($p > 0,05$) соответственно, также изменялась форма перикарионов на вытянутую, фактор элонгации увеличивался на 0,3 ед. ($p < 0,05$) и происходило шестикратное увеличение доли гиперхромных нейронов ($p < 0,05$), появлялись гиперхромные сморщенные ($p < 0,001$) нейроны, отсутствовавшие у контрольных животных.

Заключение. Морфологические изменения нейронов коры головного мозга у крысят, рожденных от самок, получивших в период плацентации ингибитор NOS, могут быть следствием снижения образования оксида азота в самих нейронах и в эндотелии сосудов, питающих головной мозг.

Ключевые слова: NO-синтаза; гестоз; белые крысы; кора головного мозга; нитергическая система

Рубрики MeSH:

МОЗГ ГОЛОВНОГО КОРА – ДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

МОЗГ ГОЛОВНОГО КОРА – РОСТ И РАЗВИТИЕ

АЗОТА ОКИСИ СИНТАЗА – АНТАГОНИСТЫ И ИНГИБИТОРЫ

АЗОТА ОКИСИ СИНТАЗА – ФАРМАКОЛОГИЯ

Для цитирования: Русак Т.С., Максимович Н.Е., Бонь Е.И., Бернацкая А.Д., Кусмарцева А.С. Влияние введения неселективного ингибитора NO-синтазы в период беременности на развитие коры головного мозга двадцатисуточных крысят. Сеченовский вестник. 2023; 14(3): 37–44. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.37-44>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Русак Татьяна Сергеевна, ассистент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Адрес: ул. Горького, д. 80, г. Гродно, 230009, Республика Беларусь

Тел.: +375 29 284-68-74

E-mail: miss.sidorovich@inbox.ru

Соответствие принципам этики. Исследование проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с разрешением Локального этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет» (№ 6-03.11.2022).

Доступ к данным исследования. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

Поступила: 29.06.2023

Принята: 10.08.2023

Дата публикации: 28.09.2023

Effect of non-selective NO-synthase inhibitor administered during pregnancy on the development of the cerebral cortex in 20-day-old rat pups

Tatiana S. Rusak[✉], Nataliya Ye. Maksimovich, Elizaveta I. Bon, Anna D. Bernatskaya, Angelina S. Kusmartseva

Grodno State Medical University

80, Gorky str., Grodno, 230009, Republic of Belarus

Abstract

Aim. To study the morphology of neurons in the cerebral cortex of rat pups on day 20 under conditions of administration of a nitric oxide synthase inhibitor (NOS) during placentation.

Materials and methods. Outbred white female rats ($n = 12$) were randomly divided into 2 groups of 6 rats each. On the 11th day of pregnancy, the experimental group received a single intramuscular injection of N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester (L NAME) at a dose of 25 mg/kg, in the control group – once intramuscularly 0.9% NaCl solution. Born rat pups were randomly selected one from the mother. On the 20th day, after medical euthanasia, the brain was collected. In the anterior part of the frontal cortex, we studied the density and area of neurons, the size and shape of perikarya and the severity of their staining with toluidine blue.

Results. In the experimental group of 20-day-old rat pups, compared to the control group, the density and area of neurons were less by 10% ($p > 0.05$) and 22% ($p > 0.05$), respectively, the shape of the perikarya also changed to elongated, the elongation factor increased by 0.3 units. ($p < 0.05$) and there was a sixfold increase in the proportion of hyperchromic neurons ($p < 0.05$), hyperchromic wrinkled ($p < 0.001$) neurons appeared, which were absent in control animals.

Conclusion. Morphological changes in neurons of the cerebral cortex in rat pups born from females who received a NOS inhibitor during placentation may be a consequence of a decrease in the formation of nitric oxide in the neurons themselves and in the endothelium of the vessels supplying the brain.

Keywords: NO-synthase; preeclampsia; white rats; cerebral cortex; nitrergic system

MeSH terms:

CEREBRAL CORTEX – DRUG EFFECTS

CEREBRAL CORTEX – GROWTH & DEVELOPMENT

NITRIC OXIDE SYNTHASE – ANTAGONISTS & INHIBITORS

NITRIC OXIDE SYNTHASE – PHARMACOLOGY

For citation: Rusak T.S., Maksimovich N.Ye., Bon E.I., Bernatskaya A.D., Kusmartseva A.S. Effect of non-selective NO-synthase inhibitor administered during pregnancy on the development of the cerebral cortex in 20-day-old rat pups. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(3): 37–44. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.37-44>

CONTACT INFORMATION:

Tatiana S. Rusak, Assistant Professor, Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University

Address: 80, Gorky str., Grodno, 230009, Republic of Belarus

Tel.: +375 29 284-68-74

E-mail: miss.sidorovich@inbox.ru

Ethics statements. The study complies with the standards of the EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. All manipulations with animals were approved by the Local Bioethics Committee of the Grodno State Medical University, No. 6 of 03.11.2022.

Data availability. The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

Financial support. The study was not sponsored (own resources).

Received: 29.06.2023

Accepted: 10.08.2023

Date of publication: 28.09.2023

Список сокращений

L-NAME – N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester,
N(omega)-нитро-L-аргинин метиловый эфир

NO – Nitric oxide, оксид азота

NOS – Nitric oxide synthase, синтаза оксида азота

Оксид азота (nitric oxide, NO) является ключевой сигнальной молекулой, вовлеченной в функционирование различных органов и систем, в том числе в регуляцию нейротрансмиссии, вазодилатации и воспалительных реакций [1]. Синтаза оксида азота (Nitric oxide synthase, NOS), катализирующая образование NO, имеет три изоформы в зависимости от типа клеток и тканей, в состав которых она входит [2]. Нейрональная NOS (nNOS), ответственная за синтез NO нейронами, участвует в передаче сигналов нейронов, эндотелиальная NOS (eNOS) – в вазодилатации, а индуцибельная NOS (iNOS) – в иммунных ответах.

В центральной нервной системе локализованы все изоформы NOS. Синтезируемый NO участвует в регуляции кровообращения головного мозга, передачи сигнала в синапсах как ретроградный нейромедиатор и играет значимую роль во внутриклеточной передаче сигналов в нейронах – от регуляции их метаболического статуса до роста дендритных отростков. В период эмбриогенеза NO также участвует в формировании центральной и периферической нервной системы, в частности в дифференцировке нейронов, становлении синаптогенеза и церебрального кровотока [3, 4].

Снижение образования NO служит главным механизмом запуска такого патологического процесса, как дисфункция эндотелия. Так, в период беременности это приводит к патологии маточно-плацентарного кровотока, нарушениям антенатального развития плода [5, 6] и преэклампсии [7, 8]. Тяжелый гестоз усугубляет состояние, связанное с нарушением функции плаценты, с ее васкуляризацией и часто осложняется преждевременными родами и различной патологией развития плода [9, 10].

Нарушение метаболизма NO моделируется посредством введения неселективного ингибитора NO-синтазы – N(omega)-нитро-L-аргинин метилового эфира (N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester,

L-NAME) [11]. Применение L-NAME приводит к резкому уменьшению содержания нитрит-ионов за счет снижения экспрессии eNOS в эндотелии сосудов [2].

Применение L-NAME является широко используемой моделью экспериментальной преэклампсии [11], используется чаще всего на мышах и крысах [12]. В экспериментах при введении L-NAME беременным крысам наблюдалось развитие патологии, по своим клиническим проявлениям соответствующей гестозу: статистически значимо повышалось систолическое артериальное давление, снижалась микроциркуляция в плаценте, а также увеличивалась протеинурия [13, 14]. Есть данные о неблагоприятном воздействии L-NAME на сердечно-сосудистую систему, снижении перфузии маточно-плацентарного ложа, уменьшении веса плаценты и веса потомства [15, 16]. Однако влияние экспериментального ингибирования NOS в период плацентации на последующие структурные изменения нейронов в головном мозге плода изучено недостаточно.

Цель – изучить морфологические особенности нейронов коры головного мозга крысят на 20-е сутки постнатального развития в условиях введения неселективного ингибитора NO-синтазы (L-NAME) в период плацентации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 12 беспородных белых крысах-самках одного возраста (110 ± 10 дней) из одной популяции из вивария Гродненского государственного медицинского университета массой 300 ± 20 г и их потомстве. Животных содержали в стандартных поликарбонатных клетках объемом 16×300 см³. Кормление осуществляли с использованием сертифицированного сбалансированного гранулированного корма для грызунов и фильтрованной водопроводной воды *ad libitum*. Крысы находились

в отдельных помещениях для содержания лабораторных животных в контролируемых условиях окружающей среды (20–26 °С при относительной влажности 30–70%) с 12-часовым циклом освещения и 10-кратной сменой объема воздуха в час.

Беспородных белых самцов массой 380 ± 20 г из расчета 1 самец на 3 самки подсаживали к последним после 18.00 для оплодотворения, а выявление беременности проводили на следующий день до 9.00 утра по наличию сперматозоидов во влагалищных мазках. После оплодотворения самок содержали по 1 особи в клетке в одинаковых условиях, после родов – вместе с родившимся потомством. Для всех самок наступившая беременность была первой.

Беременных крыс опытной и контрольной групп случайно разделили на 2 группы по 6 самок в каждой. Крысам опытной группы вводили L-NAME в дозе 25 мг/кг на 11-е сутки беременности (период плацентации) однократно внутримышечно. Доза выбрана согласно данным литературы [11]. Контрольной группе вводили 0,9% раствор NaCl однократно внутримышечно в тот же срок беременности. Роды наступали на 24 ± 2 день беременности.

После родов крысята содержались в клетках со своими матерями при вышеописанных условиях. Формирование выборки животных производилось случайным образом с исключением крысят с явными анатомическими и/или поведенческими особенностями. Взятие головного мозга осуществляли на 20-е сутки постнатального развития – в период пубертатного возраста и завершения базового синаптогенеза. Выведение крысят из эксперимента осуществлялось при помощи эфирного наркоза с последующей быстрой декапитацией. Далее извлекали головной мозг, кусочки переднего отдела коры больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Готовили серийные парафиновые срезы, которые окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля [17].

Изучение гистологических препаратов, микрофотографирование, морфометрию нейронов проводили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC320 (Leica Camera AG, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). Расположение фронтальной коры в гистологических препаратах мозга крысят определяли с помощью стереотаксического атласа [17]. У каждого животного контрольной группы оценивали не менее 30 нейронов, а экспериментальной – 150 нейронов пятого слоя коры головного мозга, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа.

В данном исследовании были изучены размеры и форма нервных клеток (мкм^2), а также выраженность их окраски толуидиновым синим [18]. С целью более точного подсчета нейронов разной степени хроматофилии цитоплазмы в фотографии гистологического препарата моделировалась сетка

с ее последующим наложением на фото изучаемой области головного мозга в программе Microsoft Word (Microsoft Office, США). Сетка представляет собой таблицу, соответствующую размеру полученного изображения (123×165 мм), с десятью равными ячейками размером $24,7 \times 33,0$ мм. Во всех ячейках сетки, соответствующей площади участка гистологического препарата с учетом увеличения микроскопа, осуществлялся подсчет нейронов разной степени хроматофилии цитоплазмы (нормохромные, гипохромные, гиперхромные, гиперхромные сморщенные) с последующим определением их процентного содержания к общему количеству нейронов в сетке или абсолютного количества на 1 мм^2 .

Для изучения размеров и формы перикарионов измеряли площадь, фактор элонгации (отношение максимального и минимального диаметров) и форм-фактор (отношение 4-х площадей к периметру в квадрате) в условных единицах. Для наглядного отображения формы нейронов коры головного мозга использовался шаблон геометрической фигуры овала в программе Microsoft Word (Microsoft Office, США) с указанием параметров «ширина» – Ш и «высота» – В. Параметры овала задавались в окне свойств фигуры «Размер» пропорционально геометрическим размерам нейронов.

Представленная работа является продолжением опубликованной нами ранее работы [19], в которой мы изучали эти же параметры у новорожденных крысят в аналогичных условиях.

Статистический анализ

В результате гистологических исследований получены количественные непрерывные данные, которые обрабатывали с помощью программы Statistica 13.0 (TIBCO, США). Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля) [20]. Для сравнения групп применялся критерий Манна – Уитни, критерий хи-квадрат Пирсона. Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

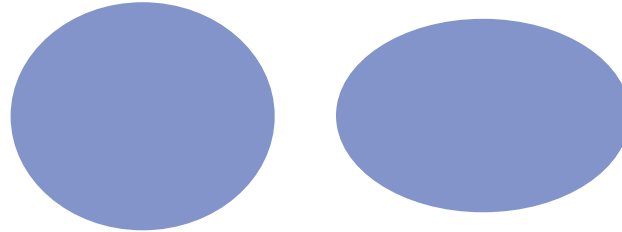
РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении плотности расположения нейронов на 1 мм^2 фронтальной коры головного мозга у двадцатисуточных крысят была выявлена тенденция к уменьшению на 10% количества клеток у потомства, рожденного самками с пренатальным введением L-NAME, в сравнении с контрольной группой ($p > 0,05$).

Также в опытной группе выявлена тенденция к уменьшению площади нейронов на 22% (разница между группами не значима) и изменение формы перикарионов в сторону их большей вытянутости

Таблица. Размеры и форма перикарионов пятого слоя фронтальной коры головного мозга двадцатисуточных крысят в условиях пренатального введения L-NAME на 11-е сутки беременности
Table. Sizes and shape of perikaryons in the fifth layer brain frontal cortex of 20-day-old rat pups under L-NAME prenatal injection on the 11th day of pregnancy

Характеристика / Characteristics	Контрольная группа / Control group	Опытная группа / Experimental group	Значение <i>p</i> / <i>p</i> value
Плотность на 1 мм ² / Density per 1 mm ²	6122 (6048; 7189)	5494 (4690; 7504)	0,06
Площадь (мкм ²) / area (μm ²)	111,5 (94,6; 118,9)	87,2 (73,1; 112,2)	0,20
Фактор элонгации, ед / Elongation factor, ed.	1,19 (1,19; 1,23)	1,51 (1,35; 1,69)	0,04
Форм-фактор / Form factor	0,87 (0,85; 0,88)	0,77 (0,78; 0,84)	0,80
Форма нейронов / Shape of neurons			



за счет статистически значимого увеличения фактора элонгации на 0,3 ед., в то время как форм-фактор не изменялся (табл.).

У двадцатисуточных крысят контрольной группы в пятом слое фронтальной коры головного мозга преобладали нормохромные нейроны (рис. 1).

Доли нейронов с различной выраженностью окраски статистически значимо различались в исследованных группах. В опытной группе животных, рожденных самками с пренатальным введением L-NAME, отмечалось уменьшение доли нормохромных нейронов до 80% (по сравнению с 95% в контрольной), шестикратное увеличение доли гиперхромных нейронов, появление гиперхромных сморщенных нейронов. По долям гипохромных нейронов группы не различались (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Введение L-NAME – неселективного ингибитора NO-синтазы на 11-е сутки беременности (период плацентации) приводило у двадцатисуточных крысят опытной группы к уменьшению доли нормохромных нейронов, увеличению доли гиперхромных нейронов и появлению гиперхромных сморщенных нейронов, отсутствовавших у крысят контрольной группы. Также при введении L-NAME отмечалась тенденция к снижению плотности расположения нейронов в пятом слое коры головного мозга, форма изменялась из круглой на вытянутую. Данный эффект при введении L-NAME может быть обусловлен снижением образования NO как в нейронах, так и в эндотелии сосудов, что ведет к нарушению

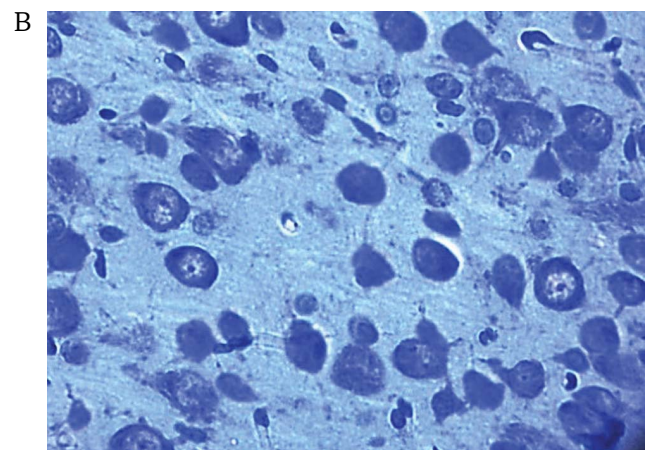
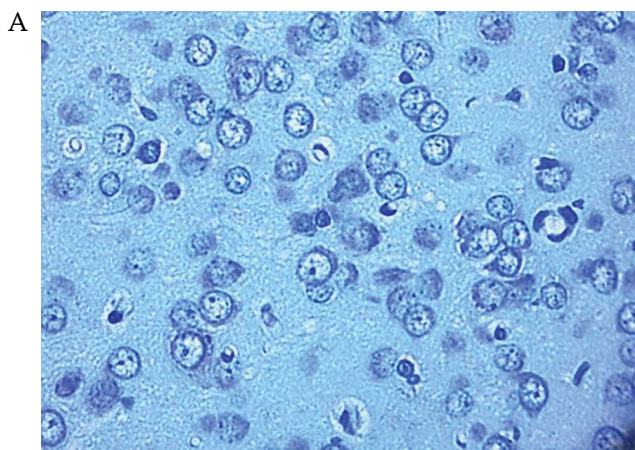


РИС. 1. Нейроны фронтальной коры головного мозга 20-суточных крысят в условиях пренатального введения L-NAME на 11-е сутки беременности. Цифровая микрофотография. Окраска по методу Ниссля, ув. 400, об. 40, ок. 10.

А – контрольная группа.

В – экспериментальная группа: потомство, рожденное самками с пренатальным введением L-NAME.

FIG. 1. Frontal cortex neurons of 20 day-old rats under L-NAME prenatal injection on the 11th day of pregnancy. Digital photomicrograph. Nissl staining, magnification 400, ob. 40, oc. 10.

А – control group.

В – experimental group: offspring born to females with prenatal administration of L-NAME.

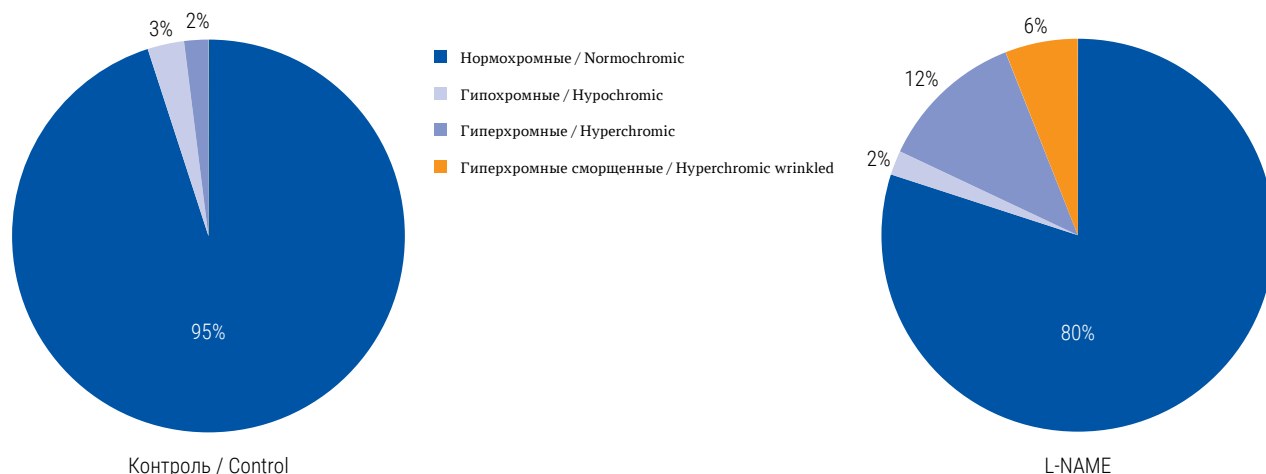


РИС. 2. Соотношение нейронов с различной степенью хромотофилии цитоплазмы пятого слоя фронтальной коры головного мозга двадцатисуточных крысят в условиях пренатального введения L-NAME на 11-е сутки беременности.

FIG. 2. The ratio of neurons with different degrees of cytoplasmic chromatophily of the fifth layer of the frontal cortex in 20 day-old rats under L-NAME prenatal injection on the 11th day of pregnancy.

клеточного метаболизма, вазодилататорных компенсаторных механизмов с развитием ишемии и водно-электролитного дисбаланса, в порочном круге усугубляющих деформацию тел нейронов и их сморщивание [21, 22].

В нашей предыдущей работе [19], выполненной на новорожденных крысятах, рожденных в аналогичных условиях, в группе после введения L-NAME фактор элонгации был равен 1,24 (1,21; 1,30) ед., форм-фактор 0,87 (0,81; 0,88), доля нормохромных нейронов составила 95%, гипохромных и гиперхромных – по 2,5%, гиперхромных сморщенных нейронов не было выявлено. Полученные данные в представленной работе могут свидетельствовать о развитии и прогрессировании постнатальных изменений в центральной нервной системе крысят, подвергнутых введению неселективного ингибитора NO-синтазы в период плацентации.

Предполагается, что интенсивная окраска цитоплазмы нейронов характеризует преобладание образования белка над его утилизацией. Некоторые исследователи расценивают гиперхромные нейроны как гиперфункциональные и считают, что синтезированный ими белок идет на их собственные потребности [23]. Хотя многие авторы изучали гиперхромные нейроны, тем не менее сведения о них весьма противоречивы и вынести по ним суждение о сущности и функциональном значении данного явления довольно трудно [23, 24].

Существует мнение, согласно которому появление гиперхромных и гиперхромных сморщенных нейронов связано со снижением их функциональной активности и отражает происходящие в них процессы торможения. Подтверждением низкой функциональной активности гиперхромных сморщенных нейронов служат описываемые

в литературе результаты электронно-микроскопического и ауторадиографического исследования, показывающие двукратное снижение скорости выведения вновь синтезированной рибонуклеиновой кислоты из ядра в цитоплазму клетки [22]. Описанные в литературе данные об электронной микроскопии гиперхромных несморщенных нейронов свидетельствуют о содержании большого количества канальцев гранулярной эндоплазматической сети в описанных клетках [24]. Также, в них повышено и количество свободных рибосом. В то же время гиперхромные нейроны имеют меньшее число митохондрий по сравнению с нормохромными. Ядра и цитоплазма гиперхромных сморщенных нейронов темные и покрыты многочисленными складками. Для данного типа нейронов характерны дезорганизация и деструктивные изменения органелл, наблюдается значительное расширение канальцев гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, свободные рибосомы образуют поля и скопления, отмечается набухание митохондрий и деградация их крист [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение крысам в период плацентации неселективного ингибитора NO-синтазы L-NAME приводит к морфологическим нарушениям нейронов фронтальной коры головного мозга крысят, проявляющимся в пубертатном возрасте уменьшением размеров клеток, увеличением доли гиперхромных и появлением гиперхромных сморщенных нейронов наряду с уменьшением доли нормохромных нейронов, что, по всей видимости, является следствием снижения образования оксида азота как в самих нейронах, так и в эндотелии сосудов, питающих головной мозг.

ВКЛАД АВТОРОВ

Н.Е. Максимович внесла основной вклад в разработку концепции и дизайна исследования, руководила процессом написания статьи. Т.С. Русак, Е.И. Бонь провели эксперимент с животными, статистическую обработку данных и редактирование статьи. А.Д. Бернацкая, А.С. Кусмарцева внесли вклад в поиск литературных источников, а также подготовили иллюстрации. Все авторы одобрили окончательный вариант статьи и готовы взять на себя ответственность за все аспекты представленной публикации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tricoire L., Vitalis T. Neuronal nitric oxide synthase expressing neurons: a journey from birth to neuronal circuits. *Front Neural Circuits*. 2012 Dec 5; 6: 82. <https://doi.org/10.3389/fn-cir.2012.00082>. PMID: 23227003; PMCID: PMC3514612
2. Dagdeviren M. Role of nitric oxide synthase in normal brain function and pathophysiology of neural diseases. Nitric oxide synthase – simple enzyme-complex roles. *InTech*; 2017. 248 p. <https://dx.doi.org/10.5772/67267>. ISBN 978-953-51-4837-1
3. Leon R.L., Mir I.N., Herrera C.L., et al. Neuroplacentology in congenital heart disease: placental connections to neurodevelopmental outcomes. *Pediatr. Res*. 2022. 91(4): 787–794. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01521-7>. Epub 2021 Apr 16. PMID: 33864014; PMCID: PMC9064799
4. Picón-Pagès P., García-Buendía J., Muñoz F.J. Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2019; 1865(8): 1949–1967. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2018.11.007>
5. Сидорова И.С., Никитина Н.А., Унанян А.Л., Агеев М.Б. Развитие головного мозга плода и влияние пренатальных повреждающих факторов на основные этапы нейрогенеза. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2022; 22(1): 35–44. <https://doi.org/10.17116/rosakush2022201135> / Sidorova I.S., Nikitina N.A., Unanyan A.L., Ageev M.B.. Development of the fetal brain and the influence of prenatal damaging factors on the main stages of neurogenesis. *Russian Bulletin of the Obstetrician-Gynecologist*. 2022; 22(1): 35–44 (In Russian). <https://doi.org/10.17116/rosakush2022201135>
6. Kratimenos P., Penn A.A. Placental programming of neuropsychiatric disease. *Pediatr. Res*. 2019. 86(2): 157–164. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0405-9>. Epub 2019 Apr 19. PMID: 31003234
7. Dambrova M., Chlopicki S., Liepinsh E., et al. The methylester of gamma-butyrobetaine, but not gamma-butyrobetaine itself, induces muscarinic receptor-dependent vasodilatation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2004 May; 369(5): 533–539. <https://doi.org/10.1007/s00210-004-0925-6>. Epub 2004 Apr 2. PMID: 15060760
8. Szpera-Gozdziewicz A., Breborowicz G.H. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Front. Biosci*. 2014; 19(5): 734–746. <https://doi.org/10.2741/4240>
9. Moran M.C., Mulcahy C., Zombori G., et al. Placental volume, vasculature and calcification in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Dec; 195: 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.07.023>. Epub 2015 Aug 7. PMID: 26461962
10. Капительный В.А., Рейштат Д.Ю. Преэклампсия: определение, новое в патогенезе, методические рекомендации, лечение и профилактика. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2020; 7(1): 19–30. <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2020-7-1-19-30> / Kapitilnyy V.A., Reyshtat D.Yu. Preeclampsia: definition, new in pathogenesis, guidelines, treatment and prevention. *V.F. Snegirev Archives*

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Nataliya Ye. Maksimovich made the main contribution to the development of the concept and design of the study, supervised the process of writing the article. Tatiana S. Rusak, Elizaveta I. Bon made an experiment with animals, carried out statistical data processing and editing the article. Anna D. Bernatskaya, Angelina S. Kusmartseva contributed to the literature review and prepared illustrations. All authors approved the final version of the article and are ready to take responsibility for all aspects of the submitted publication.

- of Obstetrics and Gynecology. 2020; 7(1): 19–30 (In Russian). <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2020-7-1-19-30>
11. Гуреев В.В., Корокин М.В., Голубев И.В. и др. Коррекция функциональных нарушений при АДМА-подобной преэклампсии производными пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2020; (2): 42–49. <https://doi.org/10.21626/vestnik/2020-2/06> / Gureev V.V., Korokin M.V., Golubev I.V., et al. Correction of functional disorders in ADMA-like preeclampsia with derivatives of the peptide imitating erythropoietin α -helix B. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2020; (2): 42–49 (In Russian). <https://doi.org/10.21626/vestnik/2020-2/06>
12. Gaford K.L., Andraweera P.H., Roberts C.T., Care A.S. Animal models of preeclampsia: causes, consequences, and interventions. *Hypertension*. 2020 Jun; 75(6): 1363–1381. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSION.119.14598>. Epub 2020 Apr 6. PMID: 32248704
13. Климов В.А. Эндотелий фетоплацентарного комплекса при физиологическом и патологическом течении беременности. *Акушерство и гинекология*. 2008; 2: 7–9 / Klimov V.A. The fetoplacental endothelium in physiological and abnormal pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*. 2008. 2: 7–9 (In Russian).
14. de Souza C.O., Peraçoli M.T.S., Weel I.C., et al. Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of silibinin on experimental preeclampsia induced by L-NAME in rats. *Life Sciences*. 2012; 91(5–6): 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.06.036>
15. Музыко Е.А., Перфилова В.Н., Кустова М.В. Отдаленные последствия у потомства, рожденного крысами с экспериментальной преэклампсией. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020; 15(3): 355–359. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15084> / Muzyko E.A., Perfilova V.N., Kustova M.V., et al. Long-term consequences in the offspring born by rats with experimental preeclampsia. *Medical News of North Caucasus*. 2020; 15(3): 355–359 (In Russian). <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15084>
16. Lotfullina N., Khazipov R. Ethanol and the developing brain: inhibition of neuronal activity and Neuroapoptosis. *Neuroscientist*. 2018 Apr; 24(2): 130–141. <https://doi.org/10.1177/1073858417712667>. Epub 2017 Jun 5. PMID: 28580823
17. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th Edition, 2013. Hardback ISBN: 9780123919496. eBook ISBN: 9780124157521
18. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфологические изменения в теменной коре крыс после субтотальной ишемии головного мозга и на фоне введения L-NAME. *Вестник ВГМУ*. 2019; 18(1): 14–20. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2019.1.14> / Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M. Morphological changes in the rats' parietal cortex after subtotal cerebral ischemia and on the background of L-NAME administration. *Vestnik VGMU*. 2019; 18(1): 14–20 (In Russian). <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2019.1.14>

19. Rusak T.S., Bon E.I., Maksimovich N.Ye, Martsun P.V. Effect of administration of a non-selective No Synthase inhibitor during pregnancy on cortical development in newborn rats. *J Psych and Neuroche Res.* 2023; 1(1): 01–03.
20. Буланов Н.М., Суворов А.Ю., Блюсс О.Б. и др. Основные принципы применения описательной статистики в медицинских исследованиях. *Сеченовский вестник.* 2021; 12(3): 4–16. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2021.12.3.4-16> / *Bulanov N.M., Suvorov A.Yu., Blyuss O.B., et al.* Basic principles of descriptive statistics in medical research. *Sechenov Medical Journal.* 2021; 12(3): 4–16 (In Russian). <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2021.12.3.4-16>
21. Максимович Н.Е. Понятие о нитроксидагической системе мозга (роль экстракнейрональных источников). *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2015; 1(5): 3–5. <https://journal-grsmu.by/index.php/ojs/article/view/1631> / *Maksimovich N.E.* Proposal on the nitroxidergic system of the brain (the role of extraneuronal sources). *Journal of Grodno State Medical University.* 2015; 1(5): 3–5. <https://journal-grsmu.by/index.php/ojs/article/view/1631>
22. Baracska P., Szepesi Z., Orbán G., et al. Generalization of seizures parallels the formation of “dark” neurons in the hippocampus and pontine reticular formation after focal-cortical application of 4-aminopyridine (4-AP) in the rat. *Brain Res.* 2008. 1228: 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.06.044>
23. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфологические особенности нейронов теменной коры и гиппокампа крыс после субтотальной церебральной ишемии на фоне введения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020; 40(3): 34–40. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200305> / *Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M.* Morphological features of parietal cortex and hippocampus neuron of rats following subtotal cerebral ischemia associated with omega-3 polyunsaturated fatty acids injection. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2020; 40(3): 34–40 (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200305>
24. Zimatkin S.M., Bon’ E.I. Dark Neurons of the brain. *Neurosci Behav Physiol.* 2018; 48: 908–912. <https://doi.org/10.1007/s11055-018-0648-7>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Русак Татьяна Сергеевна , ассистент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5405-4108>

Максимович Наталия Евгеньевна, д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3181-9513>

Бонь Елизавета Игоревна, канд. биол. наук, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3895-8383>

Бернацкая Анна Дмитриевна, студентка УО «Гродненский государственный медицинский университет».
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6908-1092>

Кусмарцева Ангелина Сергеевна, студентка УО «Гродненский государственный медицинский университет».
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-9320-3056>

Tatiana S. Rusak , Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5405-4108>

Nataliya Ye. Maksimovich, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3181-9513>

Elizaveta I. Bon, Cand. of Sci. (Biology), Associate Professor, Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3895-8383>

Anna D. Bernatskaya, student, Grodno State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6908-1092>

Angelina S. Kusmartseva, student, Grodno State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-9320-3056>

 Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Оригинальная статья / Original article

УДК 616.352-018.62-091

<https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.45-53>

Структурные изменения мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки на фоне экспериментальной андрогенной недостаточности

А.С. Пронина, Г.Н. Суворова✉, Н.Н. Вологодина

*ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России
ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099, Россия*

Аннотация

Цель. Изучить гистологическое и ультрамикроскопическое строение поперечнополосатой мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки (НСПК) половозрелых крыс-самцов в условиях экспериментальной андрогенной недостаточности.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 10 лабораторных крысах-самцах в возрасте 8 месяцев, которые были случайно разделены на 2 группы по 5 в каждой. Экспериментальной группе проводили двухстороннюю орхиэктомию для формирования дефицита тестостерона. На 45-е сутки крыс выводили из эксперимента. Проводили исследование концентрации тестостерона, гистологических срезов НСПК с помощью световой микроскопии и ультрамикроскопии. Определяли диаметр мышечных волокон и толщину эндомизия, площадь мышечных волокон, соединительной ткани, миофибрилл и цитоплазмы, выявление гранул гликогена в цитоплазме и межмиофибрилярном пространстве, а также изменения в митохондриях.

Результаты. В экспериментальной группе на 45-е сутки после кастрации уровень тестостерона был в 2,5 раза ниже, чем в контрольной группе: 2,69 (2,52; 2,73) нмоль/л vs. 7,20 (6,83; 7,21) нмоль/л; $p = 0,008$. При проведении морфометрического анализа установлено, что в группе после кастрации диаметр мышечных волокон был статистически значимо меньше, чем в контрольной группе: 6,56 (3,96; 7,24) мкм vs. 9,52 (8,88; 10,44) мкм; $p < 0,001$, при этом в экспериментальной группе толщина эндомизия была больше: 3,34 (3,11; 3,78) мкм vs. 1,62 (1,51; 1,86) мкм; $p < 0,0001$. Отношение «площадь мышечных волокон / площадь соединительной ткани» было статистически значимо ниже в группе после кастрации: 1,64 (1,50; 1,78) vs. 4,00 (3,17; 5,25); $p < 0,0001$. Отношение «площадь миофибрилл / площадь цитоплазмы» изменялось в экспериментальной группе в сторону преобладания цитоплазмы: 0,79 (0,67; 0,79) vs. 5,25 (5,25; 7,33); $p < 0,0001$. С увеличением объема цитоплазмы наблюдался рост количества гранул гликогена; выявлялись патологические формы митохондрий: набухание, деструкция крист и вакуолизации их матрикса.

Заключение. В поперечнополосатой скелетной мышечной ткани НСПК в условиях дефицита тестостерона наряду с атрофическими процессами формируются компенсаторно-приспособительные механизмы, направленные на восстановление ее метаболической и функциональной организации.

Ключевые слова: недостаточность анального сфинктера; скелетная мышечная ткань; гипогонадизм; дефицит тестостерона; мышечное волокно; интерстиций

Рубрики MeSH:

ГИПОГОНАДИЗМ – ПАТОЛОГИЯ

АНУС – ПАТОЛОГИЯ

МЫШЦА ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТАЯ – ПАТОЛОГИЯ

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Для цитирования: Пронина А.С., Суворова Г.Н., Вологодина Н.Н. Структурные изменения мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки на фоне экспериментальной андрогенной недостаточности. Сеченовский вестник. 2023; 14(3): 45–53. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.45-53>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Суворова Галина Николаевна, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099, Россия

Tel.: +7 (927) 756-10-30

E-mail: g.n.suvorova@samsmu.ru

Соответствие принципам этики. Исследование проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с разрешением Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (№ 195-10.10.2018).

Доступ к данным исследования. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

Поступила: 27.06.2023

Принята: 04.08.2023

Дата публикации: 28.09.2023

Experimental androgen deficiency and associated structural changes in the muscle tissue of the external anal sphincter

Antonina S. Pronina, Galina N. Suvorova✉, Natalya N. Vologdina

Samara State Medical University

89, Chapayevskaya str., Samara, 443099, Russia

Abstract

Aim. We aimed to study the histological and ultramicroscopic structure of the striated muscle tissue of the external anal sphincter (EAS) of mature male rats under experimental androgen deficiency.

Materials and methods. The study included 10 male laboratory rats aged 8 months, which were randomly divided into 2 groups of 5 each. The experimental group underwent bilateral orchiectomy to create testosterone deficiency. After 45 days, rats were sacrificed. We studied the concentration of testosterone in histological sections of EASs using light microscopy and ultramicroscopy. We also determined the diameter of muscle fibers and the thickness of endomysium, the area of muscle fibers, connective tissue, myofibrils and cytoplasm, identification of glycogen granules in the cytoplasm and intermyofibrillar space, as well as changes in mitochondria.

Results. In the experimental group, on the 45th day after surgical castration, the testosterone level was 2.5 times lower than in the control group 2.69 (2.52; 2.73) nmol/l vs. 7.20 (6.83; 7.21) nmol/l, $p = 0.008$. Using morphometric analysis, we found that in the experimental group after surgical castration the diameter of the muscle fibers was statistically significantly smaller than in the control group: 6.56 (3.96; 7.24) μm vs. 9.52 (8.88; 10.44) μm , $p < 0.001$, while the thickness of the endomysium in the experimental group was greater: 3.34 (3.11; 3.78) μm vs. 1.62 (1.51; 1.86) μm , $p < 0.0001$. The ratio of muscle fiber area/connective tissue area was statistically significantly lower in the group after castration: 1.64 (1.50; 1.78) vs. 4.00 (3.17; 5.25), $p < 0.0001$. The ratio of myofibril area/cytoplasmic area changed in the experimental group towards the predominance of cytoplasm 0.79 (0.67; 0.79) vs. 5.25 (5.25; 7.33), $p < 0.0001$. With an increase in cytoplasmic volume, an increase in the number of glycogen granules was observed; pathological forms of mitochondria were identified: swelling, destruction of cristae and vacuolization of their matrix.

Conclusion. Under conditions of testosterone deficiency, along with atrophic processes, compensatory and adaptive mechanisms are formed in the striated skeletal muscle tissue of the EAS, aimed at restoring its metabolic and functional organization.

Keywords: anal sphincter insufficiency; striated muscle tissue; hypogonadism; testosterone deficiency; muscle fiber; interstitium

MeSH terms:

HYPOGONADISM – PATHOLOGY

ANAL CANAL – PATHOLOGY

MUSCLE, STRIATED – PATHOLOGY
HISTOLOGICAL TECHNIQUES

For citation: Pronina A.S., Suvorova G.N., Vologdina N.N. Experimental androgen deficiency and associated structural changes in the muscle tissue of the external anal sphincter. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(3): 45–53. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.45-53>

CONTACT INFORMATION:

Galina N. Suvorova, Dr. of Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Histology and Embryology, Samara State Medical University

Address: 89, Chapaevskaya str., Samara, 443099, Russia

Tel.: +7 (927) 756-10-30

E-mail: g.n.suvorova@samsmu.ru

Ethics statements. The study complies with the standards of the EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. All manipulations with animals were approved by the Local Bioethics Committee of the Samara State Medical University, No. 195 of 10.10.2018.

Data availability. The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

Financial support. The study was not sponsored (own resources).

Received: 27.06.2023

Accepted: 04.08.2023

Date of publication: 28.09.2023

Список сокращений:

НСПК – наружный сфинктер прямой кишки

Гипогонадизм – это клинический и биохимический синдром, связанный с низким уровнем тестостерона, а также нечувствительностью рецепторного аппарата к андрогенам, который может оказывать негативное воздействие на множество органов и систем, ухудшая качество жизни¹. Первичная форма гипогонадизма связана с недостаточной функцией семенников, вследствие чего уровень тестостерона в мужском организме снижается. Наиболее простым экспериментальным способом формирования первичного гипогонадизма является двусторонняя орхэктомия.

Известно, что андрогенный дефицит распространен среди значительной части мужского населения. По данным исследований, проведенных в Европе и США, распространенность гипогонадизма среди мужчин среднего и старшего возраста варьирует от 2,1 до 12,8%, более высокие показатели распространенности отмечены среди пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как сахарный диабет 2-го типа – 51% и ожирение – от 15 до 78,8% [1].

Тестостерон, представляющий собой анаболический стероидный гормон, важен не только

для процессов полового созревания, сексуальной активности и воспроизводства потомства, но и других процессов, в частности формирования и поддержания скелетной мышечной ткани [2]. В мышечных тканях тестостерон стимулирует синтез белков и ингибирует их дегенерацию, стимулирует коммитирование мезенхимальных плюрипотентных клеток в миогенную линию и повышает синтез сократительных белков, что способствует гипертрофии мышечных волокон [3–5]. Литературные данные указывают на взаимосвязь между низким уровнем андрогенов в сыворотке крови и возрастной потерей скелетной мышечной массы (саркопении) [6, 7].

Одной из нерешенных клинических проблем служит фекальная инконтиненция, характеризующаяся нарушением работы наружного сфинктера прямой кишки (НСПК), состоящего из поперечнополосатых мышц [8]. В модели фекальной инконтиненции, созданной после овариоэктомии на крысах-самках, показано увеличение толщины мышц анального сфинктера после введения тестостерона [9]. При этом вопрос об изменениях в структуре и метаболических процессах в НСПК в условиях дефицита тестостерона остается малоизученным.

¹ Дедов И.И., Мокрышева Н.Г., Мельниченко Г.А. и др. Рекомендации по диагностике и лечению дефицита тестостерона (гипогонадизма) у мужчин. ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России. 2016. С. 19. <https://www.endocrincentr.ru/sites/default/files/specialists/science/clinic-recomendations/hypogon.pdf?ysclid=ineu1n3onn251612089> (дата обращения: 03.08.2023).

Цель исследования: изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение поперечнополосатой мышечной ткани НСПК лабораторных половозрелых крыс-самцов в условиях экспериментальной андрогенной недостаточности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился в Институте экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России на белых лабораторных крысах.

Для исследования влияния дефицита тестостерона на морфологическое строение НСПК брали 10 здоровых половозрелых самцов крысы в возрасте 8 месяцев массой 300–350 г. Животные содержались в полипропиленовых клетках с гранулированной подстилкой в постоянно контролируемой среде: температура 22 ± 1 °C, влажность $55 \pm 10\%$, 12/12-часовой цикл свет/темнота, и имели свободный доступ к пище и воде.

Самцов во временной точке 1 разделили случайно на 2 группы по 5 крыс в каждой: интактную (контрольную) и экспериментальную с моделированной андрогенной недостаточностью. Последнюю создавали путем двухсторонней кастрации (рис. 1). Все оперативные вмешательства на животных проводились под внутримышечным наркозом смеси

анестетиков тилетамина с золазепамом (Virbac С.А., Франция) в дозировке 15 мг/кг веса и ксилазина гидрохлорида (Bioveta, Чешская республика) в дозировке 6 мг/кг веса. Далее животных фиксировали на операционном столе, проводили рассечение мошонки, извлекали семенник, накладывали лигатуру вокруг семенных канатиков и пересекали их.

В точке 1, на 30-е (точка 2) и 45-е сутки (точка 3) после проведения орхиэктомии определяли концентрацию тестостерона в сыворотке крови крыс с помощью иммунохемилюминисцентного анализа (ACCESS 2, Beckman Coulter Inc, США) (рис. 1).

Забор материала для морфологического изучения осуществляли на 45-е сутки моделированного гипогонадизма после медикаментозной эвтаназии посредством внутрисердечной инъекции препаратов, использованных в точке 1 для наркоза, в летальных дозах. После отделения кожной части анального отверстия и выделения прямой кишки нижнюю треть фиксировали в 10% нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7,4), обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации: 30°, 50°, 70°, 90°, 96° (I), 96° (II) до абсолютного спирта и заливали в парафин. Гистологические срезы получали толщиной 5–7 мкм на ротационном микротоме Sakura Accu-Cut SRM 200 (Япония) и окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином.

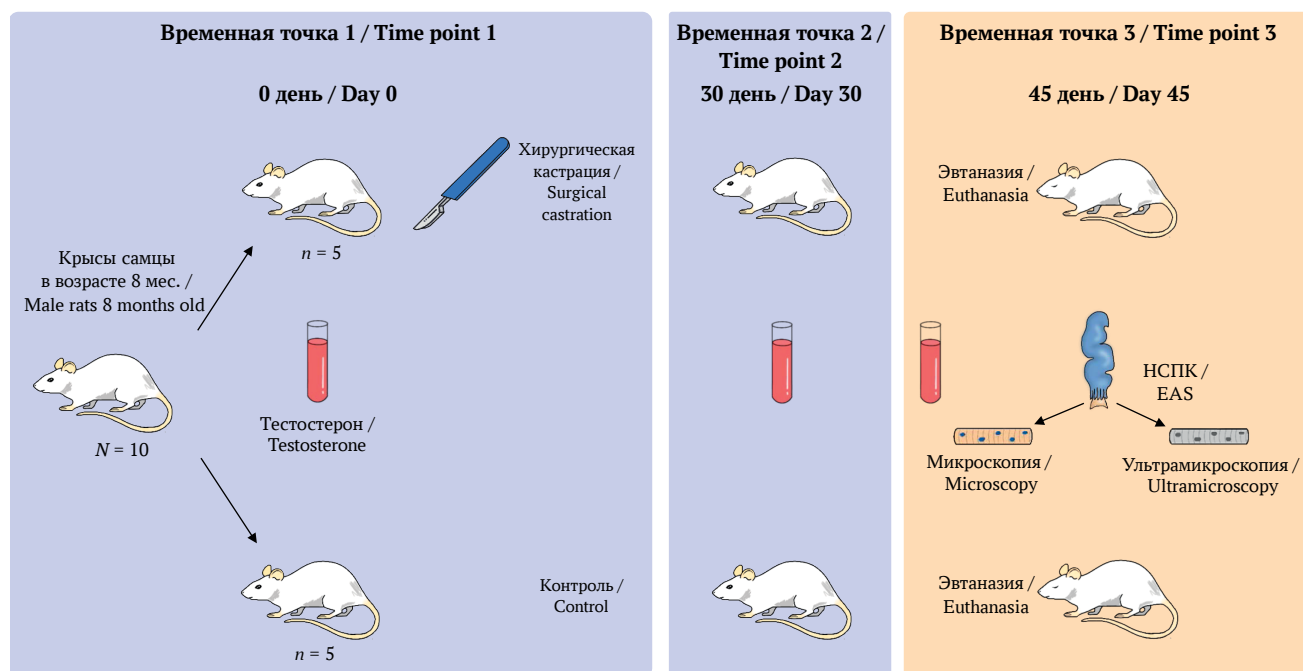


РИС. 1. Схема эксперимента: изучение наружного сфинктера прямой кишки после моделирования андрогенной недостаточности у половозрелых крыс-самцов.

FIG. 1. Experimental design: study of the external anal sphincter after modeling androgen deficiency in mature male rats.

Примечание: НСПК – наружный сфинктер прямой кишки.
Note: EAS – external anal sphincter.

Гистологические препараты просматривали в световом микроскопе Leica DM3000 (Германия), снабженным цифровой камерой и программой для проведения линейных измерений. Определяли диаметр мышечных волокон и толщину эндомизия; с использованием планиметрической (25-точечной) сетки Г.Г. Автандилова методом гистостереометрии изучалась площадь мышечных волокон и соединительной ткани.

Для ультраструктурного анализа материал фиксировали в 1% глutarовом альдегиде (pH 7,4) в течение 12 часов. Далее материал переносили в 2,5% раствор глutarового альдегида на 4 часа, затем на 2 часа помещали в 1% тетраокись осмия. Обезвоживание проводили в серии спиртов возрастающей концентрации и в окиси пропилен, после чего заливали в эпоксидные смолы. Ультратонкие срезы образцов толщиной 60–80 нм получали на микротоме Leica UC7 (Германия), помещали на медные сеточки и окрашивали 20 минут насыщенным раствором уранилацетата и 5 минут цитратом свинца. Исследование методом просвечивающей электронной микроскопии проводили на электронном микроскопе Hitachi HT 7700 Exalens (Hitachi High-Tech Corporation, Япония) на базе лаборатории «Электронная микроскопия» междисциплинарного центра «Аналитической микроскопии» Казанского федерального университета. Ультраструктурное исследование мышечных волокон включало в себя оценку площади миофибрилл и цитоплазмы, выявление гранул гликогена в цитоплазме и межмиофибриллярном пространстве, а также определение изменений в митохондриях.

Статистический анализ

Непрерывные данные, полученные в ходе исследования, представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Для определения статистической значимости различий между значениями в экспериментальной группе и группе контроля использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Статистический анализ данных выполнен при помощи программы IBM SPSS v.23.0 (SPSS: An IBM Company, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исходный уровень тестостерона в обеих группах не отличался. В экспериментальной группе после кастрации уровень тестостерона снизился к 30-м суткам в 2,5 раза и далее не изменялся до 45 суток, в контрольной группе концентрация тестостерона не изменялась на протяжении всего эксперимента (табл.).

При светооптическом исследовании образцов обнаружено, что состав наружного сфинктера прямой кишки, имеющего общее строение с мышечной тканью локомоторного типа и представленного поперечнополосатой мускулатурой, отличается по количеству мышечных волокон и интерстиция у экспериментальной и контрольной групп животных (рис. 1).

При морфометрии диаметр мышечных волокон НСПК у животных с экспериментально смоделированным гипогонадизмом был в 1,5 раза меньше диаметра мышц аналогичного участка контрольной группы (табл.).

Таблица. Концентрация тестостерона и изменения в наружном сфинктере прямой кишки крыс-самцов в модели гипогонадизма

Table. Testosterone concentration and changes in the external anal sphincter of male rats in a model of hypogonadism

Параметр / Parameter	Экспериментальная группа / Experimental group	Контрольная группа / Control group	Значение p / p value
Тестостерон, нмоль/л / Testosterone, nmol/l			
исходно / initially	6,86 (6,75; 7,15)	7,19 (6,85; 7,29)	0,421
через 30 дней / in 30 days	2,77 (2,65; 2,79) ^a	7,23 (6,80; 7,24)	0,008
через 45 дней / in 45 days	2,69 (2,52; 2,73) ^a	7,20 (6,83; 7,21)	0,008
Диаметр мышечных волокон, мкм / Diameter of muscle fibers, μ m	6,56 (3,96; 7,24)	9,52 (8,88; 10,44)	<0,001
Толщина эндомизия, мкм / Endomysium thickness, μ m	3,34 (3,11; 3,78)	1,62 (1,51; 1,86)	<0,0001
Площадь мышечных волокон, % / Muscle fiber area, %	62 (60; 64)	80 (76; 84)	<0,0001
Площадь соединительной ткани, % / Connective tissue area, %	38 (36; 40)	20 (16; 24)	<0,0001
Площадь мышечных волокон / площадь соединительной ткани / Muscle fiber area / connective tissue area	1,64 (1,50; 1,78)	4,00 (3,17; 5,25)	<0,0001
Площадь миофибрилл, % / Myofibril area, %	44 (40; 44)	84 (84; 88)	<0,0001
Площадь цитоплазмы, % / Cytoplasm area, %	56 (56; 60)	16 (12; 16)	<0,0001
Площадь миофибрилл / площадь цитоплазмы / Myofibril area / Cytoplasm area	0,79 (0,67; 0,79)	5,25 (5,25; 7,33)	<0,0001

Примечание: ^a – $p < 0,01$ при сравнении с исходным уровнем.

Note: ^a – $p < 0,01$ compared with the initial level.

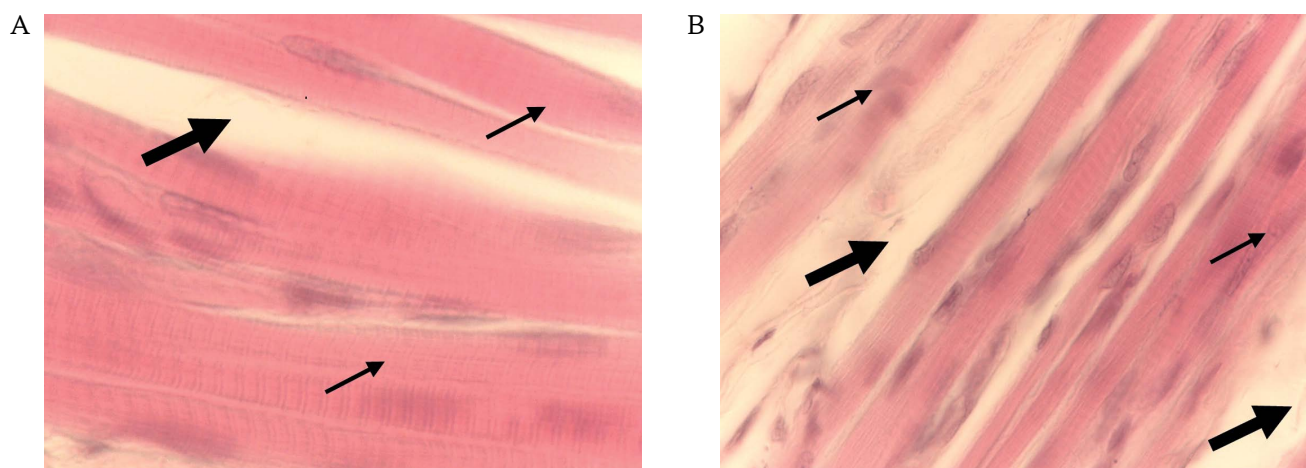


РИС. 2. Микроскопическая картина поперечнополосатой мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки у крыс на 45-е сутки моделированного гипогонадизма. Ув. 1000, об. 100, ок. 10.

Тонкие стрелки – мышечные волокна, толстые стрелки – интерстиций.

A – контрольная группа.

B – группа с экспериментальным гипогонадизмом на 45-е сутки.

FIG. 2. Microscopic image of striated muscle tissue of the external anal sphincter in rats on the 45th day of simulated hypogonadism. Magnification 1000, ob. 100, oc. 10.

Thin arrows – muscle fibers, thick arrows – interstitium.

A – control group.

B – group with experimental hypogonadism on day 45.

Уменьшение диаметра мышечных волокон у экспериментальной группы крыс-самцов сочеталось с увеличением толщины эндомизия, которая в 2 раза превышала аналогичные значения в контрольной группе (табл.). По клеточному составу различий в исследованных образцах эндомизия не обнаружено, он был представлен рыхлой соединительной тканью.

У крыс с моделированным дефицитом тестостерона площадь мышечной ткани была меньше в 1,3 раза, а соединительной ткани – в 1,9 раза больше по сравнению с таковым у животных контрольной группы. Изучение соотношения «площадь мышечных волокон / площадь соединительной ткани» в области НСПК показало, что в экспериментальной группе оно было в 2,5 раза меньше, чем в контрольной.

При ультраструктурном исследовании поперечнополосатой мышечной ткани НСПК получены следующие данные: у животных экспериментальной группы площадь миофибрилл была меньше в 1,9 раза, а площадь цитоплазмы больше в 3,5 раза аналогичных показателей в контрольной группе. Соотношение «площадь миофибрилл / площадь цитоплазмы» было в 6,6 раза меньше в экспериментальной группе по сравнению с контрольной (табл.).

В мышечных волокнах экспериментальной группы с увеличением объема цитоплазмы наблюдался рост количества гранул гликогена, который располагался повсеместно: между миофибриллами, между миофиламентами и в пространстве вокруг ядра. Наряду с этим выявлялись патологические формы митохондрий: чаще всего встречались изменения

в виде набухания, деструкции крист и вакуолизации их матрикса (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования как на светооптическом, так и на ультрамикроскопическом уровнях показали, что в организме половозрелых крыс-самцов на 45-е сутки моделированного гипогонадизма с лабораторно подтвержденным дефицитом тестостерона (концентрация ниже группы контроля в 2,5 раза) происходит уменьшение диаметра поперечнополосатых мышечных волокон НСПК в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Вероятно, в ответ на атрофические изменения в мышечных волокнах в качестве компенсации потери объема мышечной ткани увеличивается количество соединительной ткани в интерстиции в 2 раза по сравнению с контрольной группой.

Продemonстрированная в нашей работе атрофия мышечных волокон наружного сфинктера прямой кишки в условиях дефицита тестостерона объясняется анаболическим действием гормона на скелетную мышечную ткань, содержащую огромное количество андрогеновых рецепторов. В условиях андрогенного дефицита, по-видимому, замедляется синтез белков (строительного компонента миофибрилл) в мышцах [10].

Наряду с уменьшением количества миофибрилл и нарушением связей между миофиламентами происходит нарушение строения митохондрий, которые обеспечивают снабжение мышечного волокна энергией в виде АТФ, свободные пространства

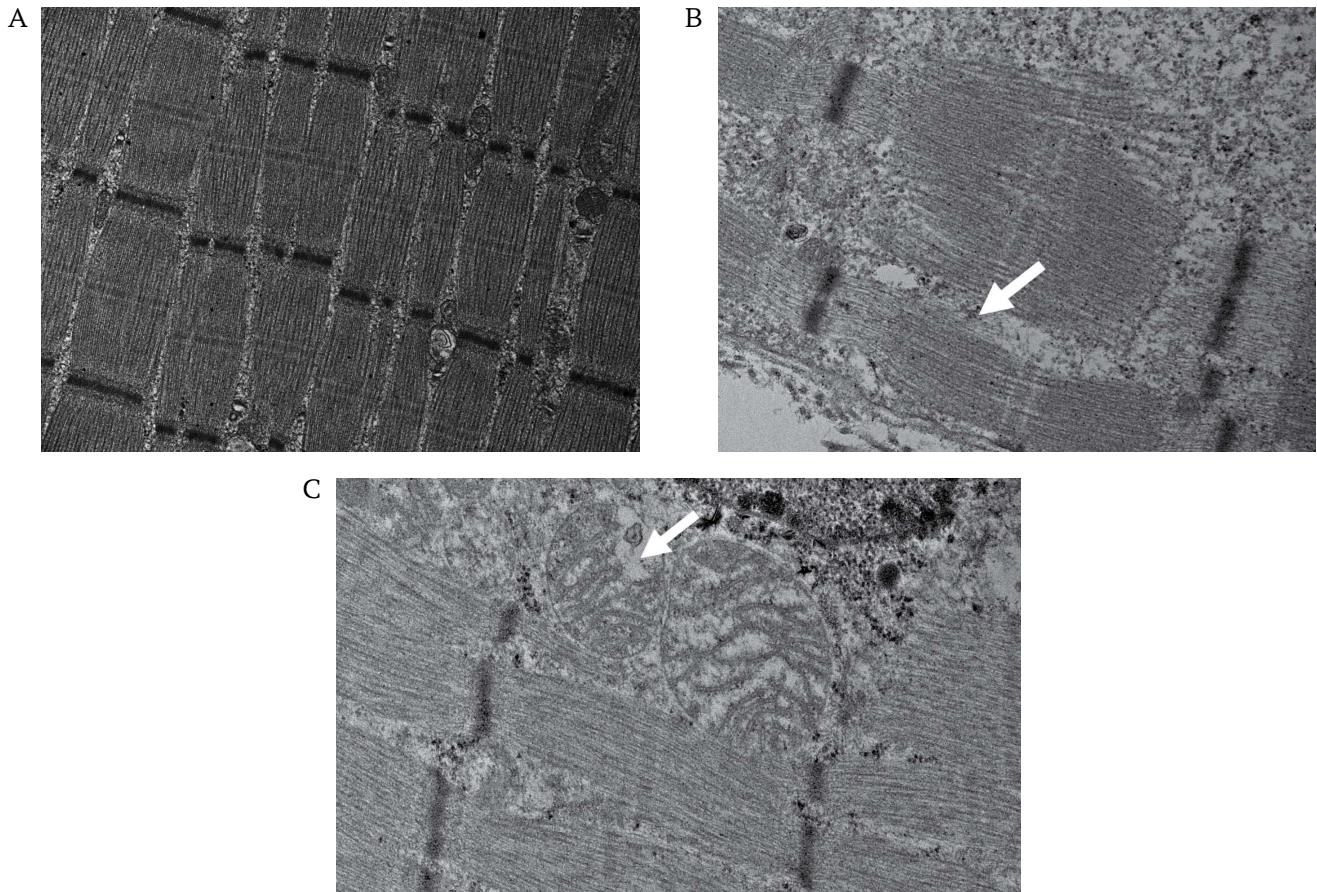


РИС. 3. Ультрамикроскопическая картина поперечнополосатой мышечной ткани наружного сфинктера прямой кишки у крыс на 45-е сутки моделированного гипогонадизма.

А – контрольная группа (ув. 12 000);

В – группа с экспериментальным гипогонадизмом на 45-е сутки (ув. 20 000). Многочисленные гранулы гликогена в цитоплазме и межмиофибриллярном пространстве (стрелка);

С – группа с экспериментальным гипогонадизмом на 45-е сутки (ув. 20 000). Изменения в митохондриях: набухание, деградация крист и вакуолизации матрикса (стрелка).

FIG. 3. Ultramicroscopic image of striated muscle tissue of the external anal sphincter in rats on the 45th day of simulated hypogonadism.

A – control group (magnification 12 000);

B – group with experimental hypogonadism on day 45 (magnification 20 000). Numerous glycogen granules in the cytoplasm and intermyofibrillar space (arrow);

C – group with experimental hypogonadism on day 45 (magnification 20 000). Changes in mitochondria: swelling, destruction of cristae and vacuolization of the matrix (arrow).

саркоплазмы заполняются гранулами гликогена. Все эти процессы могут быть свидетельством компенсаторно-приспособительных механизмов, возникающих в истощенной мышечной ткани НСПК при дефиците тестостерона.

Спектр изменений митохондрий, наблюдаемых в экспериментальной группе (набухание, деградация крист и вакуолизация матрикса), может быть следствием нескольких факторов, возникающих в ответ на недостаток тестостерона. Во-первых, в научной литературе есть данные о том, что дефицит тестостерона вызывает снижение катаболизма энергетических субстратов (глюкозы и жирных кислот) в митохондриях во время производства АТФ и тепла. В результате в ответ на избыток энергии в виде

топливного субстрата, накапливающегося в цитоплазме мышечных волокон, может нарушаться структура митохондрий. Во-вторых, одним из факторов, вызывающих нарушение строения и функционирование митохондрий, является гипоксия. Известно, что эритропоэз – тестостеронзависимый процесс [11]. Поскольку при снижении концентрации андрогенов после кастрации происходит уменьшение активности эритропоэза, это, безусловно, приводит к снижению количества доставляемого кислорода и, следовательно, гипоксии клеток. При гипоксии происходит подавление дыхательной цепи в пользу гликолиза, что, в свою очередь, приводит к закислению среды, перегрузке натрием, снижению накопления кальция и нарушению выработки АТФ. Все

эти процессы, возникающие в митохондриях в ответ на гипоксию, ведут к увеличению проницаемости внутренней мембраны и в дальнейшем к деструкции или набуханию митохондрий [12]. Наконец, еще одним фактором, который может спровоцировать нарушение структуры митохондрий, является увеличение содержания активных форм кислорода с понижением концентрации андрогенов, которые усиливают окислительное повреждение дыхательной цепи [13].

Ранее было показано, что в ответ на снижение уровня андрогенов мышечные волокна теряют свою массу и частично замещаются жировой тканью, но после введения заместительной терапии доля мышечной массы восстанавливается [14, 15].

Действительно, полученная нами микроскопическая и ультрамикроскопическая картина при гипогонадизме подтверждает вероятность атрофических изменений в мышечных волокнах, что проявляется в частичной потере миофибрилярного аппарата и замещении его соединительной тканью.

Наши данные об увеличении количества гликогена в мышечных волокнах при гипогонадизме разнятся с данными литературы, которые сообщают о возможном снижении чувствительности клеток к инсулину

при дефиците тестостерона, в связи с чем прекращается поступление глюкозы внутрь клеток и, соответственно, прекращается образование внутриклеточного гликогена [16]. С другой стороны, увеличение количества гликогена и дистрофические изменения в митохондриях в мышечной ткани при снижении тестостерона являются свидетельством преобладания анаэробного типа энергетического обмена и, следовательно, перестройки метаболического профиля, что, скорее всего, служит признаком адаптивных изменений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях смоделированного дефицита тестостерона в период половой зрелости крыс-самцов в поперечнополосатой мускулатуре НСПК наряду с атрофическими процессами развиваются компенсаторно-приспособительные процессы, направленные на восстановление метаболической и функциональной организации. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов развития фекальной инконтиненции в условиях андрогенного дефицита и могут служить основой для проведения дальнейших исследований.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.С. Пронина внесла значительный вклад в разработку концепции идеи, проведение эксперимента и обработку данных, статистическую обработку результатов исследования, подготовку рукописи. Г.Н. Суворова внесла основной вклад в разработку концепции идеи и методологии проведения эксперимента, а также написание текста рукописи. Н.Н. Вологодина участвовала в обработке данных и редактировании текста статьи. Все авторы утвердили окончательную версию статьи.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Antonina S. Pronina: study concept and design, acquisition of data, analysis and interpretation of data, statistical analysis, drafting of the manuscript. Galina N. Suvorova: study concept and design of the experiment, drafting of the manuscript. Natalya N. Vologdina: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. All authors approved the final version of the publication.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zarotsky V., Huang M.-Yi., Carman W., et al. Systematic literature review of the epidemiology of nongenetic forms of hypogonadism in adult males. *Journal of Hormones*. 2014; 190347: 1–17. <https://doi.org/10.1155/2014/190347>
- Paez H.G., Pitzer C.R., Alway S.E. Age-related dysfunction in proteostasis and cellular quality control in the development of sarcopenia. *Cells*. 2023 Jan 7; 12(2): 249. <https://doi.org/10.3390/cells12020249>. PMID: 36672183
- Ghaibour K., Schuh M., Souali-Crespo S., et al. Androgen receptor coordinates muscle metabolic and contractile functions. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2023; 14(4): 1707–1720. <https://doi.org/10.1002/jcsm.13251>. PMID: 37208984
- Howard E.E., Shankaran M., Evans W.J., et al. Effects of testosterone on mixed-muscle protein synthesis and proteome dynamics during energy deficit. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2022; 107(8): 3254–3263. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac295>. PMID: 35532889
- Bond P., Smit D.L., de Ronde W. Anabolic-androgenic steroids: How do they work and what are the risks? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Dec 19; 13: 1059473. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1059473>. PMID: 36644692; PMCID: PMC983761
- Shigehara K., Kato Y., Izumi K., Mizokami A. Relationship between testosterone and sarcopenia in older-adult men: a narrative review. *J Clin Med*. 2022 Oct 20; 11(20): 6202. <https://doi.org/10.3390/jcm11206202>. PMID: 36294523; PMCID: PMC9605266
- Tian X., Lou S., Shi R. From mitochondria to sarcopenia: role of 17 β -estradiol and testosterone. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Apr 20; 14: 1156583. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1156583>. PMID: 37152937
- Knowles Ch.H., Dinning P., Scott S.M., et al. New concepts in the pathophysiology of fecal incontinence. *Annals of Laparoscopic and Endoscopic Surgery*. 2022; 7: 15. <https://dx.doi.org/10.21037/ales-2022-02>.
- Şenyuva İ., Acar D.B., Demirel H.H., Tunç E. Effects of testosterone treatment on anal sphincter damage repair in ovariectomized rats. *Turk J Med Sci*. 2023 Apr; 53(2): 475–485. <https://doi.org/10.55730/1300-0144.5607>. Epub 2023 Apr 19. PMID: 37476872
- Howard E.E., Margolis L.M., Berryman C.E., et al. Testosterone supplementation upregulates androgen receptor expression and translational capacity during severe energy deficit. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2020; 319(4): E678–E688. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00157.2020>. Epub 2020 Aug 10. PMID: 32776828
- Yin L., Luo M., Wang R., et al. Mitochondria in sex hormone-induced disorder of energy metabolism in males and females. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 20(12): 749451. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.749451>. PMID: 34987473; PMCID: PMC8721233

12. Al-Sharefi A., Mohammed A., Abdalaziz A., et al. Androgens and anemia: current trends and future prospects. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 14(10): 754. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00754>. PMID: 31798530
13. Bouhamida E., Morciano G., Perrone M., et al. The interplay of hypoxia signaling on mitochondrial dysfunction and inflammation in cardiovascular diseases and cancer: from molecular mechanisms to therapeutic approaches. *Biology (Basel)*. 2022; 12; 11(2): 300. <https://doi.org/10.3390/biology11020300>. PMID: 35205167
14. Gharahdaghi N., Rudrappa S., Brook M.S., et al. Testosterone therapy induces molecular programming augmenting physiological adaptations to resistance exercise in older men. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2019; 10(6): 1276–1294. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12472>. Epub 2019 Sep 30. PMID: 31568675
15. Kruse R., Petersson S.J., Christensen L.L., et al. Effect of long-term testosterone therapy on molecular regulators of skeletal muscle mass and fibre-type distribution in aging men with sub-normal testosterone. *Metabolism*. 2020; 112: 154347. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154347>. Epub 2020 Aug 25. PMID: 32853647
16. Лебедева Н.Б., Гофман В.В. Современные представления о роли возрастного гипогонадизма в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. *Терапевтический архив*. 2021; 93(1): 79–83. <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.01.200597>. PMID: 33720630. EDN: DVZZVW / Lebedeva N.B., Gofman V.V. Current understanding of the role of age-related hypogonadism in the development of cardiovascular diseases. *Ter Arkh*. 2021; 93(1): 79–83 (In Russian). <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.01.200597>. PMID: 33720630. EDN: DVZZVW

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Пронина Антонина Сергеевна, соискатель ученой степени канд. биол. наук, старший преподаватель кафедры гистологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4143-5628>

Суворова Галина Николаевна✉, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0462-1344>

Вологодина Наталья Николаевна, канд. биол. наук, старший преподаватель кафедры гистологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7289-5577>

Antonina S. Pronina, applicant for Cand. of Sci. (Biology), Senior Lecturer, Department of Histology and Embryology, Samara State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4143-5628>

Galina N. Suvorova✉, Dr. of Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Histology and Embryology, Samara State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0462-1344>

Natalya N. Vologdina, Cand. of Sci. (Biology), Senior Lecturer, Department of Histology and Embryology, Samara State Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7289-5577>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



Area with horizontal dashed lines for notes.



ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России
(Сеченовский Университет)