

© Коллектив авторов, 2020  
УДК 546.76-615.275.4-615.273.53:616.61  
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15076>  
ISSN – 2073-8137

## ПРОЦЕССЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ И ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ОСМОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЕДИНЕНИЯМИ ХРОМА

Э. М. Гаглоева<sup>1</sup>, В. Б. Брин<sup>1,2</sup>, В. О. Ахполова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Северо-Осетинская государственная медицинская академия, Владикавказ, Российская Федерация

<sup>2</sup> Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН, Российская Федерация

## HEMOCOAGULATION AND LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND MECHANISMS OF RENAL OSMOREGULATORY FUNCTION'S IMPAIRMENT IN CHRONIC INTOXICATION WITH CHROMIUM COMPOUNDS

Gagloeva E. M.<sup>1</sup>, Brin V. B.<sup>1,2</sup>, Akhpolova V. O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Biomedical Investigation, Vladikavkaz Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Russian Federation

Длительное поступление хрома в организм экспериментальных животных приводит к развитию токсической нефропатии, сопровождающейся значительными нарушениями процессов гемостаза и липопероксидации. Выявлены корреляционные связи изменений показателей осморегулирующей функции почек с изменением показателей антикоагулянтного и фибринолитического звеньев системы гемостаза и уровнем тромбинемии. Данные эффекты коррелировали с повышением уровня продуктов перекисного окисления липидов и уменьшением активности антиоксидантных ферментов крови. Результаты исследования позволяют патогенетически обоснованно рекомендовать применение антикоагулянтов и антиоксидантов для разработки способов профилактики и коррекции проявлений токсической нефропатии при воздействии на организм соединений хрома.

*Ключевые слова:* хром, гемостаз, перекисное окисление липидов, функция почек

The prolonged intake of chromium into the body of experimental animals leads to the development of toxic nephropathy, accompanied by significant violations of hemocoagulation and lipid peroxidation processes. Correlation relationships between the changes in the indicators of renal osmoregulatory function and the changes in the indicators of anticoagulant and fibrinolytic links of the hemostatic system and the level of thrombinemia were revealed. These effects correlated with an increase in the level of lipid peroxidation products and a decrease in the activity of antioxidant blood enzymes. The results of the study make it possible to pathogenetically reasonably recommend the use of anticoagulants and antioxidants for the development of methods for the prevention and correction of the manifestations of toxic nephropathy when the body is exposed to chromium compounds.

*Keywords:* chromium, hemostasis, lipid peroxidation, kidney function

**Для цитирования:** Гаглоева Э. М., Брин В. Б., Ахполова В. О. ПРОЦЕССЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ И ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ОСМОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЕДИНЕНИЯМИ ХРОМА. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(3):320-324. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15076>

**For citation:** Gagloeva E. M., Brin V. B., Akhpolova V. O. HEMOCOAGULATION AND LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND MECHANISMS OF RENAL OSMOREGULATORY FUNCTION'S IMPAIRMENT IN CHRONIC INTOXICATION WITH CHROMIUM COMPOUNDS. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(3):320-324. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15076> (In Russ.)

АТ(III) – антитромбин (III)  
АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время  
ВПФМ – относительное время полимеризации фибрин-мономеров  
ГП – гидроперекиси  
МДА – малоновый диальдегид  
ПВ – протромбиновое время  
ПОЛ – перекисное окисление липидов

РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы  
СОД – супероксиддисмутаза  
СЭЛ – спонтанный эуглобулиновый лизис  
C<sub>osm</sub> – осмотическое очищение  
E<sub>f<sub>osm</sub></sub> – экскретируемая фракция осмотически активных веществ  
T<sup>CH<sub>2</sub>O</sup> – транспорт осмотически свободной воды  
U<sub>osm</sub> – осмолярность мочи  
U<sub>osm</sub> xV – экскреция осмотически активных веществ

**Б**олее полувека хром ( $\text{Cr}^{3+}$ ) относили к эссенциальным нутриентам, которым свойственно влияние на углеводный, жировой и, по некоторым данным, белковый обмен [1, 2]. Вместе с тем литературные данные свидетельствуют об аллергенном, мутагенном, канцерогенном, гонадотропном воздействии хрома, а также полиорганных структурно-функциональных нарушениях при поступлении его в организм [3–5]. Описывается корреляция зависимости гематологических показателей у работников тяжелой промышленности от стажа работы [6, 7]. Соли хрома  $\text{Cr}^{6+}$  демонстрируют выраженную нефротоксичность, связанную с окислительным стрессом у людей и животных [3, 8].

Патология почек нередко сопровождается изменениями функциональной активности системы свертывания крови, зависимой от интенсивности процессов липопероксидации [9, 10]. Однако взаимосвязь показателей патологии почек, развивающейся под влиянием длительного токсического воздействия хрома, с интенсивностью нарушений в системе гемостаза не изучалась. Отдельные наблюдения противоречивы и носят преимущественно экспериментальный характер и отражают сугубо токсикологические аспекты [11–13]. Проблема создания и разработки эффективных способов патогенетической профилактики и лечения хронической хромовой интоксикации является актуальной.

Цель исследования – изучение взаимосвязи механизмов формирования токсической нефропатии с нарушениями процессов гемокоагуляции и липопероксидации при хронической хромовой интоксикации у крыс.

**Материал и методы.** Опыты проведены на 40 крысах-самцах линии Вистар массой 200–250 г. Моделирование хронической токсической нефропатии производили раствором бихромата калия («Полихим», Россия), введением через зонд в желудок в дозе 5 мг/кг в течение двух недель (10 крыс), одного (10 крыс) и двух месяцев (10 крыс). Контролем служили интактные животные (10 крыс).

Для изучения состояния мочеобразовательной функции почек измеряли объем 6-часового спонтанного диуреза. Концентрацию креатинина и общего белка в моче и плазме крови определяли на спектрофотометре «SOLAR 300» с помощью наборов «Агат-Мед» (Москва, Россия). Осмолярность мочи и плазмы крови определяли методом криоскопии на миллиосмометре «Osmomat-2». Экстракция натрия из тканей почки производилась 0,75 Н азотной кислотой. Концентрацию натрия определяли с помощью пламенного автоматического фотометра «ФПА-2». Содержание мочевины в срезах тканей почки определялось методом С. Г. Гасанова (1962). По клиренсу эндогенного креатинина определяли скорость клубочковой фильтрации. Рассчитывали осмотическое очищение плазмы ( $C_{\text{osm}}^{\text{sm}}$ ), транспорт осмотически свободной воды ( $T^{\text{ch}_2\text{O}}$ ) и экскретируемую фракцию осмотически активных веществ ( $Ef_{\text{osm}}$ ) для количественной оценки осморегулирующей функции почек.

С целью изучения состояния системы гемостаза определяли количество тромбоцитов и их агрегационную активность (индуктор АДФ – 10,0 мкг/мл), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время, относительное время полимеризации фибрин-мономеров (ВПФМ), концентрацию фибриногена, активность антитромбина III, время спонтанного эуглобулинового лизиса, концентрацию растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) («Технология стандарт», Россия).

Состояние свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида в эритроцитах и гидроперекисей (диеновые конъюгаты и диеновые кетоны) в плазме крови. Антиоксидантный статус оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в эритроцитах. Измерения выполнялись на спектрофотометре «Solar-300», Беларусь.

Полученные результаты обрабатывались статистически с учетом распределения признаков в группах с использованием критерия Шапиро – Уилка. Данные представлены в виде медианы (Me) и [25–75] процентилей выборки. Оценку статистической значимости различий в группах животных проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Для оценки статистической зависимости рядов наблюдений использовали коэффициент ранговой корреляции ( $r_s$ ) Спирмена. Различия считались достоверными при вероятности ошибки  $p < 0,05$ . Использовали пакет программ Microsoft Excel 2016 и «STATISTICA 10.0» (StatSoft).

**Результаты и обсуждение.** Проведенные исследования показали, что при внутрижелудочном введении раствора хрома у экспериментальных животных развиваются нарушения в системе клеточного и плазменного гемостаза. В частности, уже через две недели введения хрома выявлялось значительное увеличение концентрации фибриногена в плазме крови на 27,8 % ( $p < 0,05$ ) и повышение степени АДФ-агрегации тромбоцитов на 15,2 % ( $p < 0,05$ ). С увеличением времени эксперимента через один месяц выявлялась гиперкоагуляционная направленность процессов свертывания крови. Сохранялась высокая концентрация фибриногена. Выявлялось укорочение АЧТВ на 15,4 % ( $p < 0,001$ ) и ПВ на 9 % ( $p < 0,05$ ). Напряжение в системе гемостаза подтверждалось укорочением времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов (ВПФМ) с 1,66 до 1,04 отн. ед. ( $p < 0,01$ ). Достоверно уменьшилось количество тромбоцитов ( $p < 0,05$ ) с увеличением активности АТ III с 100,2 % до 122,3 % ( $p < 0,05$ ) и укорочение времени спонтанного эуглобулинового лизиса.

Через два месяца экспериментального применения хрома изменения системы гемостаза в сторону гиперкоагуляции нарастали, о чем свидетельствовало укорочение АЧТВ и ПВ ( $p < 0,05$ ), повышение концентрации фибриногена на 30,2 % выше контрольных значений ( $p < 0,05$ ). Значимо возросла концентрация маркеров тромбинемии – растворимых фибрин-мономерных комплексов, на фоне укорочения времени их полимеризации. Явления гиперкоагуляции в данные сроки сопровождались выраженным снижением активности антитромбина на фоне угнетения фибринолитической активности плазмы крови в 2 раза.

Изучение мочеобразовательной функции почек у экспериментальных животных показало, что внутрижелудочное введение хрома в течение двух недель и одного месяца приводит к увеличению 6-часового спонтанного диуреза вследствие уменьшения канальцевой реабсорбции воды ( $R_{\text{H}_2\text{O}}$ ) по срокам исследования (табл. 1), скорость клубочковой фильтрации от контроля не отличалась. Рост диуреза сопровождался достоверным уменьшением осмолярности мочи, что может свидетельствовать о снижении концентрации функции почек. Вместе с тем выявлялось повышение экскреции осмотически активных веществ ( $V^*U_{\text{osm}}$ ) и  $Ef_{\text{osm}}$  вследствие уменьшения их канальцевой реабсорбции. При этом транспорт осмотически свободной (несвязанной) воды в канальцах  $T^{\text{ch}_2\text{O}}$  был выше, чем у интактных крыс ( $p < 0,01$ ).

Таблица 1

Показатели водовыделительной функции почек и ПОЛ у крыс при хронической хромовой интоксикации

Условия опыта	Группы животных			
	контроль	2 нед.	1 мес.	2 мес.
Диурез $V$ , мл/ч/100 г	0,086 [0,08–0,092]	0,102* [0,087–0,109]	0,126*** [0,121–0,138]	0,124*** [0,109–0,129]
Фильтрация $F$ , мл/ч/100 г	19,6 [18,0–22,4]	18,7 [16,3–21,1]	21,0 [19,2–22,6]	15,4** [15,0–17,1]
Реабсорбция $R_{H_2O}$ , %	99,58 [99,51–99,60]	99,48* [99,43–99,51]	99,38*** [99,32–99,45]	99,26*** [99,19–99,30]
$U_{osm}$ , мосм/мл	1,334 [1,255–1,44]	1,224 [1,191–1,41]	1,142** [1,075–1,22]	0,862*** [0,845–0,90]
$U_{osm} \times V$ , мосм/ч/100 г	0,115 [0,108–0,118]	0,129*** [0,113–0,137]	0,147*** [0,138–0,154]	0,106 [0,093–0,113]
$C_{osm}$ , мл/ч/100 г	0,388 [0,365–0,398]	0,436 [0,385–0,462]	0,497*** [0,467–0,52]	0,36 [0,318–0,384]
$Ef_{osm}$ , %	1,884 [1,753–2,208]	2,286 [2,185–2,534]	2,357*** [2,277–2,555]	2,218* [2,038–2,447]
$T^{CH_2O}$ , мл/ч/100 г	0,306 [0,28–0,317]	0,324 [0,289–0,364]	0,37** [0,344–0,384]	0,235** [0,215–0,258]
МДА, мкмоль/л	28,75 [27,65–30,01]	27,89 [27,11–29,23]	33,81** [31,05–36,44]	38,42*** [37,32–40,76]
ГП (233 нм)	0,061 [0,054–0,071]	0,070* [0,062–0,077]	0,084** [0,075–0,088]	0,079* [0,068–0,082]
ГП (278 нм)	0,044 [0,041–0,051]	0,054 [0,048–0,059]	0,065** [0,055–0,071]	0,058** [0,051–0,062]
СОД (ед. ингибир., %)	71,32 [64,54–73,32]	72,21 [65,27–74,22]	63,21* [60,03–66,88]	57,33** [50,8–61,45]
Каталаза (* $10^{-4}$ МЕ/гНб)	7,47 [6,65–8,04]	7,87 [6,84–8,99]	6,42* [5,35–6,9]	5,49* [4,12–6,32]
Белок в моче, мг/мл	0,128 [0,08–0,138]	0,145 [0,107–0,242]	0,56* [0,46–0,75]	1,56*** [1,15–1,87]

Примечание: \*/\*\*/\*\* –  $p \leq 0,05/0,01/0,001$  – степень достоверности относительно интактного контроля.

Для выяснения механизмов нарушения мочеобразовательной функции проводилось исследование электролитно-мочевинного профиля слоев ткани почек у крыс (табл. 2). Через один месяц интоксикации при естественном уровне гидратации содержание натрия и мочевины в слоях тканей почки достоверно не отличалось от уровня контроля. Следовательно, выявляемое в эксперименте достоверное увеличение канальцевого транспорта осмотически свободной воды  $T^{CH_2O}$  из просвета канальцев в интерстиций мозгового вещества почки не зависит от изменения кортико-папиллярного осмотического градиента почки. Однако анализ литературы позволяет противоречивые на первый взгляд экспериментальные данные объяснить избирательностью токсического действия хрома на эпителий проксимальных извитых канальцев (почки), вследствие избирательного накопления металла, обусловленного реабсорбцией белков транспортеров в этих отделах нефрона [3, 14]. Можно заключить, что при токсическом воздействии хрома происходит снижение проксимальной реабсорбции, что может приводить к увеличению объема жидкости, поступающей в дистальные отделы канальцев и собирательные трубочки, приводя к росту дистальной реабсорбции осмотически свободной воды. Следовательно, увеличение диуреза сопровождается одновременно повышением экскреции осмотически активных веществ, не реабсорбированных в канальцевом аппарате, и ростом осмотически свободной воды  $T^{CH_2O}$ . Об этом также может свидетельствовать выявляемое увеличение экскреции бета-2-микроглобулина с мочой у рабочих с хромовой интоксикацией [15].

Таблица 2

Содержание мочевины и натрия в слоях ткани почки в условиях спонтанного диуреза у крыс при хронической хромовой интоксикации

Условия опыта	Группы животных		
	контроль	1 мес.	2 мес.
Мочевина в слоях ткани почки (ммоль/100 г влажного веса)			
Корковое вещество	19,83 [18,22–21,8]	19,58 [18,57–20,0]	16,6 ** [15,81–18,21]
Мозговое вещество	56,72 [55,98–58,4]	57,03 [53,49–58,33]	35,25** [34,3–47,5]
Папилла	167,4 [161,8–167,9]	146,7 [139,6–151,6]	100,7*** [98,81–118,5]
Натрий в слоях ткани почки (ммоль/кг сухой массы)			
Корковое вещество	24,5 [23,11–25,43]	23,4 [22,1–24,8]	22,34 [20,73–23,8]
Мозговое вещество	39,8 [38,5–42,0]	37,9 [36,8–39,0]	36,8* [34,2–38,9]
Папилла	98,21 [94,3–103,4]	90,06 [86,4–94,33]	82,4** [80,0–87,64]

Примечание: \*/\*\*/\*\* –  $p \leq 0,05/0,01/0,001$  – степень достоверности относительно интактного контроля.

Через два месяца интоксикации регистрировалось резкое уменьшение клубочковой фильтрации, но на фоне снижения канальцевой реабсорбции воды уровень диуреза оставался выше фоновых значений.

Развивалась протеинурия до 1,56 мг/мл ( $p < 0,001$ ) (табл. 1). Рост диуреза сопровождался ростом  $E_{f_{osm}}$ , однако осмотическое очищение  $C_{osm}$  плазмы и экскреция осмотических активных веществ достоверно не менялись, так как одновременно уменьшалась фильтрационная нагрузка нефронов. Снижение осмолярности мочи на фоне роста диуреза происходило вследствие значительного падения канальцевого транспорта осмотически свободной воды. Уменьшение  $T^{CH_2O}$  в канальцах коррелировало с увеличением диуреза ( $r_s = 0,70$ ) у экспериментальных животных.

Через два месяца на фоне увеличения активности процессов ПОЛ выявлялось ингибирование активности СОД и каталазы в эритроцитах. При воздействии хрома активизация процессов свободнорадикального окисления и окислительный стресс могут развиваться в результате уменьшения активности антиоксидантных ферментов.

Изучение мочевинно-натриевого профиля словес тканей почки (табл. 2) через 2 месяца хромовой интоксикации выявило уменьшение градиента концентрации натрия и мочевины в слоях ткани почки от коры к папилле относительно контроля. Следовательно, снижение концентрирующего транспорта осмотически свободной воды и диуретический эффект соли хрома можно связать с уменьшением величины кортико-папиллярного осмотического градиента у животных при хронической интоксикации.

Статистический анализ полученных экспериментальных данных при хронической интоксикации выявил корреляционные связи изменений показателей осморегулирующей функции почек с изменением показателей антикоагулянтного и фибринолитического звеньев системы гемостаза и уровнем тромбинемии. Данные эффекты коррелировали с повышением уровня продуктов перекисного окисления липидов и уменьшением активности антиоксидантных ферментов крови. Через два месяца эксперимента снижение активности АТ(III) и увеличение времени спонтанного эуглобулинового лизиса ассоциировалось со снижением канальцевой реабсорбции воды ( $r_s = 0,62$ ;  $p < 0,05$  и  $r_s = -0,71$ ;  $p < 0,05$ ) и уменьшением клубочковой фильтрации ( $r_s = 0,58$ ;  $p < 0,05$  и  $r_s = -0,66$ ;  $p < 0,01$ ). Вместе с тем снижение  $R_{H_2O}$  имело высокую степень обратной корреляции с увеличением концентрации МДА ( $r_s = -0,78$ ;  $p < 0,001$ ) и положительную связь со снижением активности СОД ( $r_s = 0,67$ ;  $p < 0,01$ ) и каталазы ( $r_s = 0,61$ ;  $p < 0,05$ ). Установлена достоверная корреляционная связь тромбинемии со степенью протеинурии ( $r_s = 0,62$ ;  $p < 0,05$ ) и снижением канальцевой реабсорбции воды ( $r_s = -0,69$ ;  $p < 0,05$ ).

#### Литература/References

1. Piotrowska A., Pilch W., Tota Ł., Nowak G. Biological significance of chromium III for the human organism. *Medycyna Pracy*. 2018;69(2):211-223. <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00625>
2. Vincent J. B. New Evidence against Chromium as an Essential Trace Element. *The Journal of Nutrition*. 2017;147(12):2212-2219. <https://doi.org/10.3945/jn.117.255901>
3. Wu Y. H., Lin J. C., Wang T. Y. Hexavalent chromium intoxication induces intrinsic and extrinsic apoptosis in human renal cells. *Molecular Medicine Reports*. 2020;21(2):851-857. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10885>
4. Chen Q. Y., Murphy A., Sun H., Costa M. Molecular and epigenetic mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2019;377:114636. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.114636>
5. Des Marais T. L., Costa M. Mechanisms of Chromium-Induced Toxicity. *Current Opinion in Toxicology*. 2019;14:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.05.003>
6. Husain N., Mahmood R. Hexavalent chromium induces reactive oxygen species and impairs the antioxidant power of human erythrocytes and lymphocytes: Decreased me-

Согласно современным представлениям ионы хрома  $Cr^{6+}$  могут оказывать прямое воздействие на свободнорадикальные механизмы [15]. Попадая в организм, они легко проникают через биомембраны, подвергаются процессу восстановления до  $Cr^{3+}$  и в комплексе с белком транспортируются в различные органы. Наиболее вероятной способностью восстанавливать  $Cr^{6+}$  обладают глутатион и аскорбат, а также цистеин и другие соединения. В процессе восстановления  $Cr^{6+}$  до  $Cr^{3+}$  могут образовываться промежуточные неустойчивые степени окисления, которые вызывают образование гидроксильных радикалов. Генерация активных форм кислорода в процессе одноэлектронного восстановления, возможно, происходит при взаимодействии интермедиатов с перекисью водорода по реакциям Хабера – Вейса и Фентона [3, 6, 13]. Образующиеся при воздействии хрома эндоперекиси обеспечивают повреждение различных макромолекул, структурных компонентов мембран и, как следствие, повреждение тканей и органов, включая печень, почки, элементы крови [5, 15].

Статистические связи, выявленные при длительной интоксикации, подтверждают литературные данные о параллельной активации процессов липопероксидации и свертывания крови, а также данные о нефротоксичности соединений хрома и впервые демонстрируют взаимосвязь почечной патологии с изменением параметров системы гемостаза при хронической хромовой интоксикации.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что нарушения системы гемостаза и окислительный стресс являются важными патогенетическими звеньями механизма нефротоксического действия соединений хрома. Результаты исследования позволяют патогенетически обоснованно рекомендовать изучение возможности применения антикоагулянтов и антиоксидантов для разработки способов профилактики и коррекции проявлений токсической нефропатии при воздействии на организм соединений хрома.

*Исследование проведено в полном соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267) и положительным заключением этического комитета.*

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

7. Husain N., Mahmood R. Taurine attenuates Cr(VI)-induced cellular and DNA damage: an in vitro study using human erythrocytes and lymphocytes. *Amino Acids*. 2020;52(1):35-53. <https://doi.org/10.1007/s00726-019-02807>
8. Goodarzi Z., Karami E., Ahmadzadeh M. Simvastatin attenuates chromium-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Nephropathology*. 2017;6(1):5-9. <https://doi.org/10.15171/jnp.2017.02>
9. Гаглоева Э. М., Брин В. Б., Скупневский С. В., Боциева Н. В., Молдован Т. В. Влияние хлорида никеля на показатели гемокоагуляции и липопероксидации у крыс в эксперименте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019;63(1):83-90. [Gagloyeva E. M., Brin V. B., Skupnevskiy S. V., Botsiyeva N. V., Moldovan T. V. Vliyanie khlorida nikelya na pokazateli gemokoagulyatsii i lipoperoksidatsii u krysv v eksperimente. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. – *Pathological physiology and experimental therapy*. 2019;63(1):83-90. (In Russ)]. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.01.83-90>

- Bhatti G. K., Bhatti J. S., Kiran R., Sandhir R. Alterations in  $Ca^{2+}$  homeostasis and oxidative damage induced by ethion in erythrocytes of Wistar rats: ameliorative effect of vitamin E. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2011;31(3):378-386. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.01.004>
- Vihol P., Patel J., Varia R. D., Patel J. M. Effect of Sodium Dichromate on Haemato-biochemical Parameters in Wistar Rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2012;7(1):58-63. <https://doi.org/10.3923/jpt.2012.58.63>
- Ray R. R. Adverse hematological effects of hexavalent chromium: an overview. *Interdisciplinary Toxicology*. 2016;9(2):55-65. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0007>
- Mary Momo C. M., Ferdinand N., Omer Bebe N. K. Oxidative Effects of Potassium Dichromate on Biochemical, Hematological Characteristics, and Hormonal Levels in Rabbit Doe (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Sciences*. 2019;6(1):30. <https://doi.org/10.3390/vetsci6010030>
- El-Mahalaway A. M., Salem M. M., Mousa A. M. The effect of potassium dichromate on convoluted tubules of the kidney of adult male albino rats and the possible protective role of ginseng. *Egyptian Journal of Histology*. 2015;38(2):157-167. <https://doi.org/10.1097/01.EHX.0000464738.41270.06>
- Junaid M., Hashmi M. Z., Malik, R. N. Toxicity and oxidative stress induced by chromium in workers exposed from different occupational settings around the globe: A review. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016;23:20151-20167. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7463-x>

#### Сведения об авторах:

Гаглоева Эльмира Муратовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии; тел.: 89188231442; e-mail: mira-med@yandex.ru

Брин Вадим Борисович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой, заведующий отделом физиологии и патологии висцеральных систем; тел.: 89188261559; e-mail: vbbrin@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0001-8382-3210>

Ахполова Варвара Олеговна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии; тел.: 89188234009; e-mail: tshabria@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2020

УДК 61-616-091.811

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15077>

ISSN – 2073-8137

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ИММУНОФЕНОТИПА МАКРОФАГОВ ПРИ ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Е. П. Голубинская, Ю. А. Ермола, А. В. Кубышкин, А. В. Герашченко, Т. В. Крамарь

Медицинская академия им. С. И. Георгиевского Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского, Симферополь, Российская Федерация

## FEATURES OF CYTOTOXIC IMMUNOPHENOTYPING OF MACROPHAGES IN FIBRO-CAVERNOUS PULMONARY TUBERCULOSIS

Golubinskaya E. P., Ermola Yu. A., Kubyshkin A. V., Gerashchenko A. V., Kramar T. V.

Medical Academy named after S. I. Georgyevsky of V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation

Изучены фрагменты легких 84 пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулезом (ФКТ) с верифицированным выделением микобактерий (ФКТ-МБТ+) и 79 пациентов с ФКТ с отсутствием бактериовыделения (ФКТ-МБТ-). Иммунопрофилирование клеточных популяций ткани легких с маркерами Т-хелперов 1 типа и цитотоксических лимфоцитов позволило определить пул эпителиоидных клеток с крупным везикулярным ядром округло-овальной формы, демонстрирующих цитоплазматическую реакцию, позитивную как для рецепторов CD4, так и CD8, исключительно у пациентов с активной бактериальной экскрецией. Локализация соответствовала интактной легочной ткани на границе резекции каверны и перикавернозного участка эмфиземы. Визуализировались группы таких клеток в просвете альвеол либо единичные клетки в «нишах» эпителиальной выстилки. При сопоставлении с рутинной окраской гематоксилином и эозином, а также с верификацией маркером макросиалина CD68 было доказано гистиоцитарное происхождение данной клеточной популяции. При этом CD68<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> демонстрировали отрицательную реакцию с VEGF-A, что исключало их принадлежность к макрофагам 2 функционального типа, обладающим ремоделирующей активностью в отношении легочной ткани. Анализ ИГХ-реакций с маркером необратимой индукции апоптоза в макрофагальном пуле показал, что экспрессия Caspase-3 визуализировалась во всех CD68<sup>+</sup>VEGF-A<sup>-</sup> макрофагах. Однако интенсивность цитоплазматической реакции была максимально выражена в зоне специфической грануляционной ткани макрофагов 1 функционального типа и в перикавернозных скоплениях CD68<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> клеток. Показано, что ИГХ-идентификация популяции макрофагов с цитотоксическим иммунофенотипом (CD68<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) в легочной ткани является диагностическим и прогностическим показателем активации и диссеминации ФКТ.

*Ключевые слова:* туберкулез, иммуногистохимия, Т-лимфоциты, макрофаги