

РОЛЬ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЛНОСЛОЙНОГО КОЖНОГО ЛОСКУТА НА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОЕ РУСЛО В УСЛОВИЯХ АБСОЛЮТНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ИНСУЛИНА

О. Н. Антипова — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, доктор медицинских наук; **Д. Д. Лагутина** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, лаборант-исследователь Центральной научно-исследовательской лаборатории; **Т. В. Степанова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории; **А. А. Савкина** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории; **Н. А. Кузнецова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории; **Т. А. Андропова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры биологии, кандидат биологических наук; **Т. С. Кириязи** — Филиал ЧУОО ВО «Медицинский университет «Реавиз» в г. Саратов (Саратовский медицинский университет «Реавиз»), заведующая кафедрой медико-биологических дисциплин, кандидат биологических наук; **А. Н. Иванов** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией, доктор медицинских наук.

THE ROLE OF HISTAMINERGIC SYSTEM IN THE EFFECTS OF SKIN FLAP AUTOTRANSPLANTATION ON MICROCIRCULATION AT ABSOLUTE INSULIN DEFICIENCY

O. N. Antipova — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Leading Research Assistant of Central Scientific Research Laboratory, DSc; **D. D. Lagutina** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Research Assistant of Central Scientific Research Laboratory; **T. V. Stepanova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Junior Research Assistant of Central Scientific Research Laboratory; **A. A. Savkina** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Junior Research Assistant of Central Scientific Research Laboratory; **N. A. Kuznetsova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Junior Research Assistant of Central Scientific Research Laboratory; **T. A. Andronova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Associate Professor of Department of Biology, PhD; **T. S. Kiriyaзи** — Saratov Medical University "Reaviz", Head of Department of Biomedical Sciences, PhD; **A. N. Ivanov** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Head of Central Scientific Research Laboratory, DSc.

Дата поступления — 02.06.2020 г.

Дата принятия в печать — 04.06.2020 г.

Антипова О. Н., Лагутина Д. Д., Степанова Т. В., Савкина А. А., Кузнецова Н. А., Андропова Т. А., Кириязи Т. С., Иванов А. Н. Роль гистаминергической системы в реализации эффектов аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута на микроциркуляторное русло в условиях абсолютной недостаточности инсулина. Саратовский научно-медицинский журнал 2020; 16 (2): 521–525.

Цель: определить вклад гистаминергической системы в реализации эффектов аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута (АТПКЛ) на микроциркуляцию при аллоксановой инсулиновой недостаточности у белых крыс. **Материалы и методы.** Исследования проведены на 60 белых крысах, разделенных на три группы: 20 контрольных интактных животных, 20 животных группы сравнения с аллоксановым диабетом, 20 животных опытной группы с АТПКЛ на фоне инсулиновой недостаточности. Оценивали механизмы модуляции кровотока и перфузию кожи тыльной поверхности стопы, концентрацию гистамина в сыворотке крови, морфологические изменения зоны АТПКЛ. **Результаты.** У крыс опытной группы под действием АТПКЛ наблюдалось статистически значимое увеличение перфузии кожи на 43%, перераспределение вклада активных механизмов модуляции микроциркуляции, а также повышение концентрации гистамина в сыворотке крови в 2,5 раза по сравнению с группой сравнения. **Заключение.** Дистантное стимулирующее действие АТПКЛ на микроциркуляцию в условиях абсолютной инсулиновой недостаточности реализуется за счет повышения концентрации гистамина в крови. При этом стимуляция активных механизмов регуляции кровотока повышением концентрации гистамина неравнозначна — преобладают эффекты на эндотелий-зависимые и нейрогенные механизмы регуляции, а активация гистаминовых рецепторов гладкомышечных клеток выражена значительно слабее.

Ключевые слова: микроциркуляция, гистамин, кожный лоскут, сахарный диабет

Antipova ON, Lagutina DD, Stepanova TV, Savkina AA, Kuznetsova NA, Andronova TA, Kiriyaзи TS, Ivanov AN. The role of histaminergic system in the effects of skin flap autotransplantation on microcirculation at absolute insulin deficiency. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2020; 16 (2): 521–525.

трум», Россия). Микроскопию препаратов проводили при помощи микровизора проходящего света серии μ Vizo-103 (ООО «ЛОМО ФОТОНИКА», Россия).

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли при помощи программы «Statistica 10» (StatSoft, США). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (нижний и верхний квартили). Количество знаков после запятой соответствует исходным значениям. Для сравнительной оценки полученных показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Результаты. Проведенные исследования показали, что у белых крыс с аллоксановым диабетом на 42-е сутки после эксперимента перфузионный показатель статистически значимо снижался относительно группы контроля, что свидетельствовало об уменьшении кровотока в микроциркуляторном русле кожи тыльной поверхности стопы животных (рис. 1). Вместе с тем отмечалось перераспределение ролей активных факторов контроля микрогемодинамики в модуляции кровотока микрососудов кожи задней конечности крысы, что проявлялось в статистически значимом снижении абсолютных амплитуд эндотелиальных, нейрогенных и миогенных колебаний у данной группы животных на 42-е сутки эксперимента (таблица).

С помощью иммуноферментного анализа было выявлено снижение концентрации гистамина в плазме крови животных группы сравнения относительно контрольной группы на 42-е сутки эксперимента, но эти данные не имели статистической значимости (рис. 2).

На 42-е сутки эксперимента у крыс, которым была выполнена АТПКЛ на фоне аллоксанового диабета, отмечалось увеличение показателя перфузии на 43, по сравнению с группой животных, у которых АТПКЛ не проводилась (рис. 1). В то же время происходила нормализация активных механизмов модуляции кровотока в сосудах микроциркуляции, что выразилось в статистически значимом повышении абсолютных амплитуд эндотелиальных (на 125%), нейрогенных (на 55%) и миогенных (на 30%) осцилляций относительно группы сравнения (таблица).

Вместе с тем у животных опытной группы, которым выполнялась АТПКЛ, концентрация гистамина в плазме на 42-е сутки эксперимента превышала как контрольные значения, так и значения группы сравнения в среднем в 2,5 раза (рис. 2).

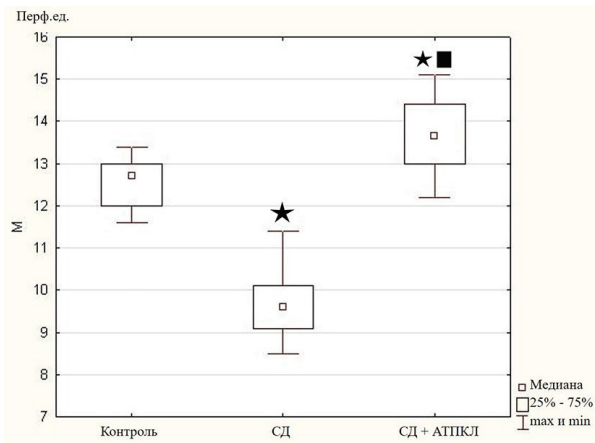


Рис. 1. Изменение перфузии кожи тыльной поверхности стопы у крыс под действием АТПКЛ на фоне абсолютной недостаточности инсулина. Статистически значимые различия обозначаются: звездочкой — по сравнению с контролем, прямоугольником — по сравнению с группой сравнения

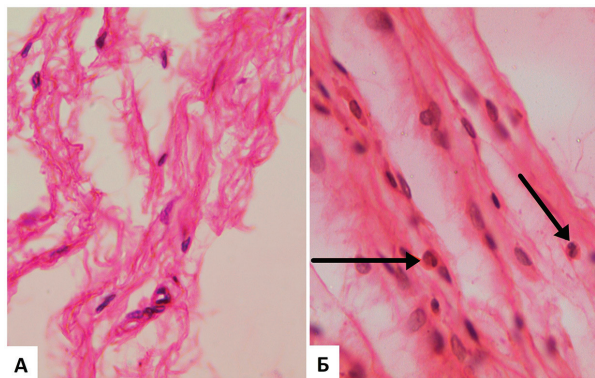


Рис. 2. Соединительная ткань подкожной жировой клетчатки у животных сравнительной (а) и опытной (б) групп. Объектив 63х. Окраска гематоксилином и эозином. Стрелками указаны эозинофильные лейкоциты

При микроскопии препаратов тканей области аутотрансплантации обнаружено истончение кожного лоскута, сопровождающееся деградацией эпидермиса. Среди клеточных популяций зоны аутотрансплантации присутствовали эозинофилы, чего не отмечалось в коже крыс группы сравнения (рис. 3).

Перераспределение вклада активных механизмов в модуляцию микроциркуляции под влиянием аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута (данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей)

Показатель, перф. ед.	Группы		
	контроля (n=20)	сравнения (СД) (n=20)	опытная (СД + АТПКЛ) (n=20)
Амплитуда: эндотелиальных колебаний	0,17 (0,15; 0,19)	0,08 (0,07; 0,12) $p_1=0,007$	0,18 (0,13; 0,24) $p_1=0,827$ $p_2=0,001$
нейрогенных колебаний	0,11 (0,1; 0,2)	0,09 (0,08; 0,11) $p_1=0,021$	0,14 (0,12; 0,18) $p_1=0,112$ $p_2=0,001$
миогенных колебаний	0,1 (0,09; 0,11)	0,1 (0,09; 0,14) $p_1=0,788$	0,13 (0,11; 0,14) $p_1=0,013$ $p_2=0,022$

Примечание: СД — сахарный диабет, АТПКЛ — аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута, p_1 — значимость различий относительно контроля; p_2 — значимость различий относительно группы сравнения.

ного механизмов вазодилатации. Это свидетельствует о том, что повышение концентрации гистамина при стимулирующем действии АТПКЛ у животных с абсолютной недостаточностью инсулина, вероятно, обусловлено преимущественной активацией H_1 - и H_3 -гистаминовых рецепторов эндотелия и симпатических нервных окончаний, при этом активация H_2 -рецепторов гладкомышечных клеток выражена значительно слабее.

Заключение. Таким образом, дистантное стимулирующее действие АТПКЛ в условиях абсолютной инсулиновой недостаточности при аллоксановом диабете в эксперименте на белых крысах-самцах реализуется за счет повышения концентрации гистамина в крови. Дилататорный эффект повышенной концентрации гистамина у животных с АТПКЛ, выполненной на фоне абсолютной недостаточности инсулина осуществляется преимущественно за счет эндотелий-зависимых и нейрогенных механизмов регуляции, которые реализуются посредством активации H_1 - и H_3 -гистаминовых рецепторов, при этом активация H_2 -рецепторов гладкомышечных клеток имеет меньшее значение.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России «Разработка технологий медикаментозной и немедикаментозной коррекции микроциркуляторных нарушений при сахарном диабете, сопровождающемся абсолютной недостаточностью инсулина, в условиях эксперимента» (регистрационный номер АААА-А19-119021190053-0).

References (Литература)

- Dedov II, ShEstakova MV, Vikulova OK. Epidemiology of diabetes mellitus in Russian Federation: clinical and statistical report according to the federal diabetes registry. *Diabetes Mellitus* 2017; 20 (1): 13–41. Russian (Дедов И. И., Шестакова М. В., Видулова О. К. Эпидемиология сахарного диабета в российской федерации: клинико-статистический анализ по данным федерального регистра сахарного диабета. *Сахарный диабет* 2017; 20 (1): 13–41).
- Akanov ZhA, Sejdinova ASH, Zhunusbekova NZh, et al. Epidemiology of overweight and obesity as major factors risk of hypertension and type 2 diabetes in modern conditions. *Vestnik KazNMU* 2015; (4): 289–93. Russian (Аканов Ж. А., Сейдинова А. Ш., Жунусбекова Н. Ж. и др. Частота осложнений у пациентов с сахарным диабетом по данным Центра диабета. *Вестник КазНМУ* 2015; (4): 289–93).
- Kulikov DA, Glazkov AA, Kovaleva YuA, et al. Prospects of laser doppler flowmetry application in assessment of skin microcirculation in diabetes. *Diabetes Mellitus* 2017; 20 (4): 279–85. Russian (Куликов Д. А., Глазков А. А., Ковалева Ю. А. и др. Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете. *Сахарный диабет* 2017; 20 (4): 279–85).
- Rassohin AV. Tissue placental therapy. SPb.: ELBI-SPb, 2014; 208 p. Russian (Рассохин А. В. Тканевая плацентарная терапия. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014; 208 с.).
- Ivanov AN, Shutrov IE, Norkin IA. Skin flap autografting as a method of microcirculation biostimulation in the conditions of normal and impaired innervation. *Regional blood circulation and microcirculation* 2015; 14 (3): 59–65 p. Russian (Иванов А. Н., Шутров И. Е., Норкин И. А. Аутооттрансплантация полнослойного кожного лоскута как способ биостимуляции микроциркуляции в условиях нормальной и нарушенной иннервации. *Региональное кровообращение и микроциркуляция* 2015; 14 (3): 59–65).

куляции в условиях нормальной и нарушенной иннервации. *Региональное кровообращение и микроциркуляция* 2015; 14 (3): 59–65).

- Solgalova AS, Soldatov VO, Pershina MA, Pokrovskaya TG. Piracetam and betahistine: possible mechanisms of endothelioprotection. *Kursk scientific and practical bulletin Man and his health* 2018; (2): 61–9. Russian (Солгалова А. С., Солдатов В. О., Першина М. А., Покровская Т. Г. Пирацетам и бетагистин: возможные механизмы эндотелиопротекции. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»* 2018; 2: 61–9).

- Buxtiyarova IP, Drogovoz SM, Shhekina EG. A study of the hypoglycemic properties of ralec on a model of alloxan diabetes in rats. *Vestnik KazNMU* 2014; (4): 301–4. Russian (Бухтиярова И. П., Дроговоз С. М., Щекина Е. Г. Исследование гипогликемических свойств ралейкина на модели аллоксанового диабета у крыс. *Вестник КазНМУ* 2014; (4): 301–4).

- Krupatkin AI, Sidorov VV. Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation: a guide for doctors. Moscow: Medicina, 2005; 256 p. Russian (Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. М.: Медицина, 2005; 256 с.).

- Popyhova EB, Ivanov AN, Stepanova TV, et al. The relation of carbohydrate metabolism disorders and markers of endothelial dysfunction in animals with absolute insulin deficiency at biostimulation by autotransplantation of the skin flap. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2019; 15 (2): 379–82. Russian (Попыхова Э. Б., Иванов А. Н., Степанова Т. В. и др. Взаимосвязь нарушений углеводного обмена и маркеров дисфункции эндотелия у животных с абсолютной недостаточностью инсулина при биостимуляции аутооттрансплантацией кожного лоскута. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2019; 15 (2): 379–82).

- Unuofin JO, Lebelo SL. Antioxidant Effects and Mechanisms of Medicinal Plants and Their Bioactive Compounds for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes: An Updated Review. *Oxid Med Cell Longev* 2020; (13): 1356893.

- Lespagnol E, Dauchet L, Pawlak-Chaouch M, et al. Early Endothelial Dysfunction in Type 1 Diabetes Is Accompanied by an Impairment of Vascular Smooth Muscle Function: A Meta-Analysis. *Front Endocrinol* (April 17, 2020). URL: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00203>.

- Feng W, Shi R, Zhang C, et al. Visualization of skin microvascular dysfunction of type 1 diabetic mice using in vivo skin optical clearing method. *J Biomed Opt* 2018; 24 (3): 1–9.

- Marco GS, Colucci JA, Fernandes FB, et al. Diabetes induces changes of catecholamines in primary mesangial cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40 (4): 747–54.

- Watson AMD, Gould EAM, Penfold SA, et al. Diabetes and Hypertension Differentially Affect Renal Catecholamines and Renal Reactive Oxygen Species. *Front Physiol* 2019; (10): 309.

- Ivanov AN, Lagutina DD, Gladkova EV, et al. Mechanisms of distant stimulatory action of skin autotransplantation in cases of peripheral nerve injury. *Russian Journal of Physiology* 2018; 104 (11): 1313–24. Russian (Иванов А. Н., Лагутина Д. Д., Гладкова Е. В. и др. Механизмы дистантного стимулирующего действия аутооттрансплантации кожного лоскута при повреждении периферического нерва. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова* 2018; 104 (11): 1313–24).

- Hramcova YuS, Artashyan OS, Yushkov BG, et al. The influence of mast cells on reparative regeneration of tissues characterized by various degrees of immune privilege. *Cell and Tissue Biology* 2016; 58 (5): 356–63. Russian (Храмцова Ю. С., Арташян О. С., Юшков Б. Г. и др. Влияние тучных клеток на репаративную регенерацию тканей с разной степенью иммунологической привилегированности. *Цитология* 2016; 58 (5): 356–63).

- Hattori Y, Hattori K, Matsuda N. Regulation of the Cardiovascular System by Histamine. *Handb Exp Pharmacol* 2017; (241): 239–58.