

УДК 616-092.9

DOI: 10.14427/jipai.2023.4.60

## Показатели системы иммунитета и гемостаза в возрастных группах лабораторных крыс на фоне применения циклоспорина А

Е.В. Тризно, И.А. Беднов, М.Н. Тризно, Д.Р. Давыдова, А.Р. Рстакян

Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань

## Immunity and hemostasis system indicators in age groups of laboratory rats during the use of cyclosporine A

E.V. Trizno, I.A. Bednov, M.N. Trizno, D.R. Davydova, A.R. Rstakyan

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

### Аннотация

Дизрегуляция со стороны Т-клеточного звена повышает предрасположенность к сердечно-сосудистой патологии с возрастом. Поэтому мы смоделировали иммуносупрессию и экспериментальным путём сравнили состояние системы гемостаза у молодых и старых животных. Для эксперимента использованы белые беспородные крысы самцы. Циклоспорин в препарате Сандиммун-Неорал (Novartis, Швейцария) вводили крысам опытных групп внутримышечно. Белки системы комплемента С3, С4, иммуноглобулины (Ig) А, М, G и интерлейкин-6 смотрели иммуноферментным способом. Фенотипирование лимфоцитов проводили методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител (субпопуляций CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>). Полученные данные говорят, что ингибирование Т-лимфоцитарного звена (CD3<sup>+</sup>) не обязательно ведёт к компенсированному росту числа В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>), но стимулирует их функцию: повышение выработки иммуноглобулинов (M, G). В условиях пониженной реакции со стороны клеточного звена активируются компоненты системы комплемента (C3, C4). Несмотря на некоторое понижение фагоцитарной функции, отмечено увеличение числа натуральных киллеров (CD16<sup>+</sup>), активное потребление Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>), уменьшение Т-супрессоров (CD8<sup>+</sup>) и рост уровня интерлейкина-6 в плазме опытных крыс. Повышенная активность антитромбина у старых животных предотвращает прокоагулянтные сдвиги на фоне чрезмерного роста «площадок» с тканевым фактором. Таковыми здесь явились десквамированные эндотелиоциты, вскрывающие субэндотелиальный слой. Уровень последних в опытных группах вырос. Таким образом, мы видим картину активации гуморального звена системы иммунитета. Экспериментальная чрезмерная концентрация блокатора кальциневрина обличает первые патогенетические звенья со стороны системы гемостаза. Увеличение времени коагуляции начальных этапов свёртывания сочетается с ускорением конечного. Несмотря на рост фибриногена у молодых, рассогласованность в регуляции системы гемостаза проявилась преимущественно у старых особей лабораторных крыс.

### Summary

Dysregulation of the T-cell link increases the susceptibility to cardiovascular disease with age. Therefore, we modeled immunosuppression and experimentally compared the state of the hemostasis system in young and old animals. White outbred male rats were used for the experiment. Cyclosporine in Sandimmun-Neoral (Novartis, Switzerland) was administered intramuscularly to experimental rats. Complement system proteins C3, C4, immunoglobulins (Ig) A, M, G and interleukin-6 were examined by enzyme immunoassay. Phenotyping of lymphocytes was performed by indirect immunofluorescence using monoclonal antibodies (subpopulations CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>). The data obtained indicate that inhibition of the T-lymphocyte link (CD3<sup>+</sup>) does not necessarily lead to a compensated increase in the number of B-lymphocytes (CD19<sup>+</sup>), but stimulates their function: immunoglobulins are elevated (M, G). Under conditions of a reduced reaction from the cellular level, components of the complement system (C3, C4) are activated. Despite a slight decrease in phagocytic function, there was an increase in the number of natural killers (CD16<sup>+</sup>), active consumption of T-helpers (CD4<sup>+</sup>), a decrease in T-suppressors (CD8<sup>+</sup>), and an increase in the level of interleukin-6 in the plasma of experimental rats. Increased activity of antithrombin in old animals prevents procoagulant shifts against the background of excessive growth of "areas" with tissue factor. We found desquamated endothelial cells, that opens the subendothelial layer and its level was higher in the experimental groups. Thus, we see an activation of the humoral link of the immune system. Experimental excessive concentration of the calcineurin blocker exposes the first pathogenetic links from the hemostasis system. An increase in the coagulation time of the initial stages of coagulation is combined with an acceleration of the final one. Despite the growth of fibrinogen in young animals, the mismatch in the regulation of the hemostasis system manifested itself mainly in old specimens of laboratory rats.

## **Ключевые слова**

Циклоспорин, лимфоциты, иммуносупрессия, время свёртывания, эндотелиоциты.

Особенности функционирования иммунной системы стареющего организма обозначаются термином «иммуносенесценция» [1]. Важнейшим свойством иммуносенесценции является накопление клеток «памяти» в иммунной системе в ответ на многократно повторяющуюся в течение жизни стимуляцию, вызванную инфекционными и неинфекционными антигенами. Маркёрами воспаления при адаптивном иммунитете у долгожителей являются: снижение малодифференцированных Т-лимфоцитов, CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитов и повышение количества CD4<sup>+</sup> Т-хелперов и CD19<sup>+</sup> В-лимфоцитов, что часто связано с повышенным риском заболеваемости и смертности. Таким образом, стареющий организм постоянно находится в состоянии хронического воспаления, оказывающего существенное влияние на выживаемость и качество жизни [2]. В подобных условиях происходит «ремоделирование» иммунной системы, вызванное окислительным стрессом и сопровождаемое усилением апоптоза. Активация воспаления и иммунный ответ с последующей секрецией провоспалительных лимфокинов представляет собой основной механизм старения и ассоциированных с возрастом заболеваний [3,4].

Прежде всего, с возрастом возникают сдвиги во врождённом иммунитете, обеспечивающем быструю, но неспецифическую защиту за счёт моноцитов, натуральных киллеров (Nk)- лимфоцитов и дендритных клеток. Неспецифические иммунные реакции приводят к активации более медленного, но высокоспецифического адаптивного иммунного ответа [5].

В то же время накопление активированных Т-клеток у старших возрастных групп приводит к неадекватному увеличению синтеза провоспалительных цитокинов на действие патогенных раздражителей. С возрастом даже в отсутствие патологического процесса уровень, в частности, интерлейкина-6 (ИЛ-6), значительно повышается [6]. Так, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в период обострения отмечается значительное повышение концентрации ИЛ-6, что позволило отнести его к независимым прогностическим факторам смертности [7]. При обследовании здоровых пожилых людей была выявлена зависимость продолжительности жизни человека от уровня данного цитокина: чем

## **Keywords**

Cyclosporine, lymphocytes, immunosuppression, clotting time, endotheliocytes.

ниже его концентрация в крови, тем выше продолжительность жизни [8].

Параллельно с этим чётко прослеживается линейная зависимость уровней провоспалительных интерлейкинов и фибриногена, что свидетельствует об увеличении внутрисосудистого свёртывания крови в пожилом возрасте и торможении фибринолиза [6]. Кроме того, по мере старения у людей отмечается значительные изменения в системе гемостаза в сторону гиперкоагуляции. Одновременно снижается активность анти-тромбина, тормозится фибринолиз. Замечено, что ИЛ-6 ускоряет процесс свёртывания крови [9]. Важной причиной прокоагуляции является увеличение экспрессии лейкоцитами тканевого фактора (ТФ) [10]. При старении сосудистого эндотелия повышается слушивание клеток, обладающих прокоагулянтной активностью, и усиливается экспрессия ТФ [11].

Важнейшим ферментом иммунного ответа считается кальциневрин (CaN) [12]. Увеличение внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> в Т-лимфоцитах приводит к связыванию кальмодулина (CaM) с CaN, который затем дефосфорилирует ядерный фактор активированных Т-клеток (NFAT), транслоцируется в ядро и активирует лимфоциты [13,14].

Для моделирования иммуносупрессии нами был использован один из сильнейших иммунодепрессантов – циклоспорин А (CsA), используемый при трансплантации органов и аутоиммунных заболеваниях [15].

В цитоплазме Т-лимфоцитов CsA связывается с циклофилином А, изменяет свою пространственную структуру, в результате чего его гидрофобные и несущие заряд поверхности приобретают конгруэнтность по отношению к активным центрам фосфатазы кальциневрина. Её каталитическая активная субъединица активируется только после взаимодействия с кальмодулином при достаточном количестве внутриклеточного кальция (Ca<sup>2+</sup>). В условиях блокировки каталитического и регуляторного центров кальциневрина циклоспорин/циклофилиновым комплексом отсутствует возможность дефосфорилирования (активации) NFAT, его последующей транслокации в ядро и активации Т-клеток [13].

Иммуномодулирующие эффекты CsA не ограничиваются подавлением пролиферации

Т-клеток, препарат также может модулировать реакции врождённых иммунных клеток, включая дендритные клетки, необходимые для праймирования Т-лимфоцитов, а также – макрофаги и нейтрофилы. Степень воздействия CsA на различные клеточные популяции, вероятно, зависит не только от способа доставки, но и от концентрации [15].

В данном эксперименте мы смоделировали условия, позволяющие рассмотреть начальные патогенетические звенья при высокодозированной иммунодепрессии в организме лабораторных животных. Понимая, что необходимость иммуномоделирующих тактик требует, зачастую, пожизненного использования, мы разделили крыс на молодую и старую возрастную категорию. В качестве маркерных реакций исследовали показатели взаимно влияющих друг на друга систем: иммунитета и гемостаза [16].

### Материалы и методы

Для эксперимента использованы белые беспородные крысы (самцы) массой тела 195–210 г из вивария лаборатории физиологии, морфологии, генетики и биомедицины ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» (Астрахань, Россия). Животные разделены по возрастному признаку на опытную №1 (6 месяцев,  $n=12$ ), опытную №2 (20–22 месяца,  $n=14$ ) и контрольную группы (9–11 месяцев,  $n=10$ ). Иммуносупрессирующий эффект получали с помощью циклоспорина в препарате Сандимун-Неорал (Novartis, Швейцария), который вводили крысам экспериментальных групп внутримышечно в дозе 20 мг/кг массы тела двадцать пять дней. Опытные животные до эксперимента содержались на карантине для физиологической адаптации и исключения больных особей. В работе мы руководствовались Положением о содержании и использовании лабораторных животных в ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ Минздрава России» и рекомендациями Commission of the European Communities, 86/609/ЕЕС.

Плазму крови у крыс забирали из нижней полой вены под наркозом (Золетил + Ксила + 0,9% раствор хлорида натрия по 0,03–0,04 мл на 200 г массы тела).

Белки системы комплемента С3, С4 и иммуноглобулины (Ig) А, М, G определяли с помощью иммуноферментных наборов (Cloud-Clone Corp., США). Фагоцитарную активность визуализировали микроскопическим методом по поглощению объектов фагоцитоза (частицы латекса 1,5 мкм, «ДиаМ», Россия). Смешивали 100 мкл отмытых

объектов фагоцитоза ( $10^8$  мл) и 100 мкл цельной гепаринизированной крови. Пробы инкубировали при  $37^\circ\text{C}$ . Ресуспендировали мазки и окрашивали по Романовскому-Гимзе. Показатель фагоцитоза в процентах указывает количество клеток-фагоцитов на один объект фагоцитоза, а индекс фагоцитоза – количество объектов фагоцитоза на один фагоцит. Фенотипирование лимфоцитов проводили методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (субпопуляций CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>). ИЛ-6 определяли в плазме с помощью иммуноферментных наборов (фирмы Cloud-Clone Corp., США). Показатели системы гемостаза изучались с помощью диагностикумов фирмы «Технология-стандарт», Россия. Определение степени циркулирующих эндотелиальных десквамированных клеток (ЦЭК) осуществляли по методике морфологической идентификации [17].

Нормальность распределения признаков в группах определена на основе критерия Колмогорова–Смирнова, проверка уровня значимости различий в независимых группах – критерия Манна–Уитни, зависимых – Вилкоксона. Обработывали вычисления с помощью статистического пакета Excel и программного обеспечения Statistica, версия 11.0 (разработчик StatSoft, США). Критический уровень статистической значимости составлял  $p=0,05$ . Данные в таблицах представлены в виде средней (M) и стандартного отклонения (s).

### Результаты и обсуждение

Полученные результаты исследования представлены в таблице 1.

Процентное содержание Т-лимфоцитов CD3<sup>+</sup> уменьшилось после воздействия CsA в группе старых животных на 12,6% ( $p\leq 0,05$ ), у молодых почти не изменилось. Абсолютное значение данных клеток понизилось, особенно в опытной группе молодых – на 53,3% ( $p\leq 0,01$ ).

Относительное содержание В-лимфоцитов с фенотипом CD19<sup>+</sup> на фоне CsA понизилось на 27,3% ( $p\leq 0,05$ ) у старых, на 25% ( $p\leq 0,05$ ) у молодых особей, а относительное количество Т-хелперов CD4<sup>+</sup> уменьшилось на 50% ( $p\leq 0,01$ ) во всех возрастных категориях.

На фоне применения CsA также отмечалось уменьшение Т-хелперов на 50% ( $p\leq 0,01$ ), а содержание Т-супрессоров CD8<sup>+</sup> – на 60% ( $p\leq 0,001$ ) во всех различных по возрасту группах.

Процентное соотношение лимфоцитов CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> возросло в опытных группах на 14,3% ( $p\leq 0,05$ ).

**Таблица 1. Показатели системы иммунитета после воздействия циклоспорина**

Показатели	Контроль		Циклоспорин		
	Молодые (n=10)	Старые (n=10)	Молодые (n=12)	Старые (n=14)	
CD3 <sup>+</sup> (Тл)	%	86,0±3,05	87,0±3,05	83,0±3,07	76,0±3,06*
	×10 <sup>9</sup> /л	1,5±0,21	1,5±0,21	0,7±0,22**	0,9±0,23**
CD19 <sup>+</sup> (Вл)	%	12,0±0,44	11,0±0,44	9,0±0,41*	8,0±0,42**
	×10 <sup>9</sup> /л	0,2±0,05	0,2±0,05	0,2±0,01	0,2±0,02
CD4 <sup>+</sup> (Тх)	%	34,0±0,57	35,0±0,57	36,0±0,50	30,0±0,56*
	×10 <sup>9</sup> /л	0,6±0,01	0,6±0,01	0,3±0,02**	0,3±0,01**
CD8 <sup>+</sup> (Тсуп)	%	29,0±0,53	29,0±0,53	26,0±0,57*	22,0±0,54*
	×10 <sup>9</sup> /л	0,5±0,02	0,5±0,02	0,2±0,01**	0,2±0,03*
CD16 <sup>+</sup> (Nk)	%	11,0±0,41	10,0±0,41	14,0±0,42	13,0±0,41*
	×10 <sup>9</sup> /л	0,2±0,01	0,2±0,01	0,5±0,01***	0,4±0,02**
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>		1,2±0,22	1,2±0,22	1,4±0,21*	1,4±0,21*
IgA, мг/дл		10,4±0,43	10,1±0,43	3,1±0,21	3,1±0,23
IgM, мг/дл		29,3±0,53	28,4±0,53	42,6±0,59	46,3±0,52
IgG, мг/дл		396,1±8,7	410,1±8,7	442,3±8,9	485,4±8,9*
C3, г/л		0,65±0,02	0,7±0,02	0,1±0,02***	0,15±0,01**
C4, г/л		0,13±0,001	0,14±0,001	0,08±0,001*	0,08±0,002*
Фагоцитоз, %		55,8±2,05	54,3±2,05	58,1±2,08	42,2±2,05*
Фагоцитоз, индекс		21,6±0,57	20,1±0,57	14,4±0,46**	18,4±0,43
ИЛ-6, пг/мл		1,6±0,21	1,8±0,23	2,23±0,22	2,27±0,21

Примечание: Уровень статистической значимости \* – p≤0,05; \*\* – p≤0,01; \*\*\* – p≤0,001.

В результате эксперимента отмечалось увеличение относительного содержания Nk CD16<sup>+</sup>. Причём у старых крыс – на 23,1% (p≤0,05), а у молодых – на 21,4% (p≤0,05). Абсолютное количество клеток Nk CD16<sup>+</sup> в данных группах возросло на 60% (p≤0,001) у молодых, на 50% (p≤0,01) у возрастных крыс.

После воздействия CsA зафиксировано понижение IgA: у молодых на 70,2% (p≤0,001), а у старых особей на 67,3% (p≤0,001).

IgM и IgG увеличились почти во всех возрастных опытных группах. IgM повысился у старых особей на 31,2% (p≤0,01), а у молодых на 31,2% (p≤0,01). IgG увеличился на 15,5% (p≤0,05) и на 11,5% (p≤0,05) у старых и молодых соответственно.

Уровень компонентов системы комплемента C3 и C4 в кровотоке во всех опытных группах понизился. Особенно уменьшилось количество C3 компонента: у молодых на 84,6% (p≤0,001), у старых на 78,6% (p≤0,001). После введения CsA отмечалось понижение показателя C4 компонента системы комплемента больше у старых крыс – на 42,9%, чуть менее у молодых – на 38,5%.

Процент фагоцитирующих клеток на один объект фагоцитоза снизился у старых животных на 12,1% (p≤0,05), в то время как у молодых – только фагоцитарный индекс.

Количество Nk возросло как в процентном соотношении, так и абсолютных значениях. CsA

уменьшил долю Т-лимфоцитов, не влияя на абсолютное число В-лимфоцитов. Однако относительное содержание последних у молодых всё же понизил на 25% (p≤0,05). Соотношение Т-х/Т-суп увеличилось, причём за счёт Т-х-компонента. В пользу последнего факта говорит рост уровня ИЛ-6 в плазме у молодых крыс на 28,3% (p≤0,05), а у старых – на 20,7% (p≤0,05).

У активированных фагоцитов на поверхности также экспрессируются рецепторы к компонентам системы комплемента. После активации фагоциты вместе с В-лимфоцитами, усиленно продуцирующими антитела, связывают продукты расщепления системы комплемента, участвуя таким образом в комплементарном каскаде.

Результаты исследования системы гемостаза представлены в таблице 2.

После применения CsA в опытных группах определена тенденция к уменьшению уровня Ca<sup>++</sup> в плазме. Показатель активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), указывающий на внутренний путь активации свёртывающей системы, зависимый от фактора Хагемана, замедлился, но сильнее у молодых. АЧТВ увеличилось у молодых: на 75,3% (p≤0,001). У старшей группы отмечено замедление на 69,0% (p≤0,001).

Протромбиновое время (ПВ) на фоне CsA увеличилось в обеих возрастных группах: на 31,2%

**Таблица 2. Показатели системы гемостаза после воздействия циклоспорина**

Показатели	Контроль		Циклоспорин	
	Молодые (n=10)	Старые (n=10)	Молодые (n=12)	Старые (n=14)
АЧТВ, сек	19,4±0,53	17,5±0,41	78,7±4,41***	56,5±0, 52***
ПВ, сек	22,9±0,69	23,5±0,71	33,3±0,69***	23,5±0, 71**
ТВ, сек	23,0±0,41	21,5±0,73	17,0±0,42*	21,5±0, 72
Антитромбин, %	1,1±0,18	1,3±0,18	94,1±3,98*	115,7±4,23 **
Фибриноген, г/л	115,7±4,51	79±0, 59	2,7±0,18**	2,9±0,17**
ХIIа-завис. ф-з, сек	13,1±0,69	14,2±0,14	20,0±0,46***	14,1±0,63**
ЦЭК ×10 <sup>4</sup> /л	4,3±0,06	4,6±0,07	7,4±0,39	8,1±0,44

Примечание: Уровень статистической значимости \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* –  $p \leq 0,001$ . АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ПВ – протромбиновое время; ТВ – тромбиновое время; ЦЭК – циркулирующие эндотелиоциты.

( $p \leq 0,01$ ) и на 11,3% ( $p \leq 0,05$ ) у молодых и старых соответственно.

Тромбиновое время (ТВ) на фоне иммунодепрессии ускорилось, особенно у старых – на 26,1% ( $p \leq 0,05$ ), у молодых – на 11,2% ( $p \leq 0,05$ ).

Фибриноген во всех возрастных группах увеличился. Особенно у молодых – на 59,3% ( $p \leq 0,01$ ), и на 44,8% ( $p \leq 0,01$ ) у старых животных.

Антитромбин изменялся неоднозначно. Иммунодепрессия вызвала уменьшение показателя, но статистически значимо только у молодых – на 21,6% ( $p \leq 0,05$ ).

ХIIа-зависимый фибринолиз замедлился во всех возрастных группах. Циклоспорин замедлил показатель лизиса на 30,4% ( $p \leq 0,01$ ) у старых и на 25,6% ( $p \leq 0,05$ ) у молодых. ХIIа-зависимый фибринолиз тоже замедлен, но в большей степени у молодых. У старых наметилась тенденция к ускорению. Можно предположить, что данный факт – из-за возрастной истощаемости плазминовой системы.

Уровень десквамированных циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭК) повысился в опытной группе молодых крыс на 41,9% ( $p \leq 0,05$ ), в группе старых – на 43,2% ( $p \leq 0,05$ ).

### Заключение

Кальциневрин – это полифункциональный белок, участвующий почти во всех аспектах клеточного функционирования. Блокада его циклоспорином А влечёт за собой подавление функции Т-лимфоцитов. Регуляция концентрации кальциневрина необходима, так как в случаях повышенной активности Т-лимфоцитов наблюдается обратная защитная ситуация – инициация патологий через сосудистые повреждения. Негативные факторы, провоцирующие рост внутриклеточного ионизированного кальция, активируют сигнальные пути кальциневрина, что ведёт к нарушению васкулярного барьера

и экспрессии тканевого фактора. Наш опыт применения повышенной концентрации CsA моделирует передозировку протекции в подобных случаях. Учитывая, что реакция со стороны системы гемостаза в первую очередь зависит от целостности эндотелия и имеет возрастные особенности, мы визуализировали их взаимосвязь с иммунологическими показателями.

Полученные данные говорят, что ингибирование Т-лимфоцитарного звена ( $CD3^+$ ) не обязательно ведёт к компенсированному росту числа В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ), но стимулирует их функцию: иммуноглобулины возросли. Однако у молодых преобладали IgM, а у старых – IgG компоненты системы. IgA уменьшился, что, возможно, связано с его потреблением в процессе образования циркулирующих иммунных комплексов. В условиях пониженной реакции со стороны клеточного звена активируются компоненты системы комплемента (C3, C4). Причём понижение уровня C3 указывает на активацию системы по классическому пути. Несмотря на некоторое снижение фагоцитарной функции (индекс – у молодых, а процент фагоцитоза – у возрастных), отмечено увеличение числа натуральных киллеров ( $CD16^+$ ), активное потребление Т-хелперов ( $CD4^+$ ), уменьшение Т-супрессоров ( $CD8^+$ ) и рост уровня интерлейкина-6 в плазме опытных крыс. Повышенная активность антитромбина у старых животных предотвращает прокоагулянтные сдвиги на фоне чрезмерного роста «площадок» с тканевым фактором. Таковыми здесь явились слущенные эндотелиоциты, вскрывающие субэндотелиальный слой. Уровень последних в опытных группах вырос. Таким образом, мы видим картину активации гуморального звена системы иммунитета. Экспериментальная чрезмерная концентрация блокатора кальциневрина обличает первые патогенетические звенья со стороны системы гемостаза. Увеличение време-

ни коагуляции начальных этапов свёртывания сочетается с ускорением конечного. Так, при замедлении АЧТВ у всех ПВ замедляется, но у молодых сильнее. Можно предположить, что у старых больше повреждённых клеток, способных экспрессировать тканевый фактор (десквамированных эндотелиоцитов, например). Несмотря на рост фибриногена у молодых, рассогласованность в регуляции системы гемостаза проявилась преимущественно у старых особей лабораторных крыс. На ускорение ТВ, особенно у молодых, мог повлиять повышенный фибриноген. Данный параметр у возрастных тоже повышен, но при этом у них активнее антитромбин.

Таким образом, в нашем исследовании видим, что ингибирование Т-лимфоцитарного звена не ведёт к компенсированному росту числа В-лимфоцитов, но стимулирует их функцию. В условиях пониженной реакции со стороны клеточного звена активируются компоненты систе-

мы комплемента. Экспериментальная чрезмерная концентрация блокатора кальциневрина обличает первые патогенетические звенья со стороны системы гемостаза. Увеличение времени коагуляции начальных путей активации свёртывания может сочетаться с ускорением конечного. Рассогласованность в регуляции системы гемостаза проявилась преимущественно у старых особей лабораторных крыс. Повышенная активность антитромбина у данной категории животных предотвращает прокоагулянтные сдвиги на фоне дисфункции эндотелия ввиду его повреждения и слущивания эндотелиоцитов.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Выражаем благодарность за неоценимую помощь в практическом осуществлении эксперимента Заслуженному работнику Высшей школы РФ, профессору, д.б.н. Давиду Львовичу Тёплому.

## Литература

1. Naismith E., Pangrazzi L. The impact of oxidative stress, inflammation, and senescence on the maintenance of immunological memory in the bone marrow in old age. *Biosci Rep.* 2019; 39(5): Pii: BSR 20190371.
2. Vallet H., Fali T., Sauce D. Et al. Aging of the immune system: From fundamental to clinical data. *Rev. Med. Interne.* 2019;40(2):105-111.
3. Ventura M.T., Casciaro M., Gangemi S. et al. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clin.Mol.Allergy.* 2017;15:21.
4. Голубкина Е.В., Мажитова М.В., Исякаева Р.Р. с соавт. Особенности распространения и идентификации растений рода солерос (*Salicornia*) – уникального источника пищевой соли. *Аграрный научный журнал.* 2020;3:11-15. doi: 10.28983/asj.y2020i3pp11-15
5. Кузник Б.И., Чалисова Н.И., Цыбиков Н.Н. с соавт. Стресс, старение и единая гуморальная защитная система организма. Эпигенетические механизмы регуляции. *Успехи физиологических наук.* 2020; 51(3):51-68.
6. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Степанов О.В. с соавт. «Белок молодости» GDF 11, состояние системы гемостаза и особенности кровотока у женщин, страдающих гипертонической болезнью. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2018;1:39-45.
7. Tunolomondo A., Raimondo D., Sciacca R et al. Arterial stiffness and ischemic stroke in subjects with and without metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2012;225 (1):216-219.
8. Forcina L., Franceschi C., Musarò A. The hormetic and hermetic role of IL-6. *Ageing research reviews.* 2022; 80:101697. doi: 10.1016/j.arr.2022.101697
9. Kaur S., Bansal Y., Kumar, R. et al. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 2020; 28(5): 115327. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115327
10. Zhang H., Zhou Y., Qu M. et al. Tissue Factor-Enriched Neutrophil Extracellular Traps Promote Immunothrombosis and Disease Progression in Sepsis-Induced Lung Injury. *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 2021; 11: 677902. doi: 10.3389/fcimb.2021.677902
11. Bochenek M. L., Schutz E., Schafer K. Endothelial cell senescence and thrombosis: Ageing clots. *Thromb. Res.* 2016; 147: 36-45.
12. Chen L., Song M., Yao C. Calcineurin in development and disease. *Genes Dis.* 2021; 9(4):915-927. doi:10.1016/j.gendis.2021.03.002
13. Roy J., Cyert M. S. Identifying new substrates and functions for an old enzyme: calcineurin. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2020; 12(3): a035436.
14. Ishizawa K., Wang Q., Li J. et al. Calcineurin dephosphorylates Kelch-like 3, reversing phosphorylation by angiotensin II and regulating renal electrolyte handling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(8):3155–3160.
15. Liddicoat A. M., Lavelle E. C. Modulation of innate immunity by cyclosporine A. *Biochem Pharmacol.* 2019;163:472-480. doi: 10.1016 / j.bcp.2019.03.022
16. Cong X., Kong W. Endothelial tight junctions and their regulatory signaling pathways in vascular homeostasis and disease. *Cellular signalling.* 2020; 66:109485. doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109485
17. Козловский В.И., Солодков А.П., Мяделец О.Д. с соавт. Методы определения числа циркулирующих в крови эндотелиоцитов. *Методические рекомендации.* Витебск, 2008, 29 с.

## Сведения об авторах

Тризно Е.В. – доцент, кандидат медицинских наук, Астраханский государственный медицинский университет. E-mail: neiron-2010@mail.ru.

Беднов И.А. – кандидат биологических наук, старший преподаватель, Астраханский государственный медицинский университет.

Тризно М.Н. – кандидат медицинских наук, доцент, Астраханский государственный медицинский университет.

Давыдова Д.Р. – ассистент, Астраханский государственный медицинский университет.

Рстакян А.Р. – ассистент, Астраханский государственный медицинский университет.

Поступила 9.06.2023.