



Экспериментальные (на модели белых крыс) и клинические (у больных артериальной гипертензией и предиабетом) доказательства эффективности влияния на трофологический и регенераторный статус сульфидной бальнеотерапии: фундаментальное, рандомизированное контролируемое исследование

Владимирский В.Е.*, Хассабалла Ф.М., Владимирский Е.В., Гуляева Н.И.

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. В рамках терапевтических стратегий ведения пациентов с коморбидной патологией, таких как артериальная гипертензия (АГ) и предиабет, наряду с рекомендованными медикаментозными методами широко внедряются немедикаментозные методы лечения.

ЦЕЛЬ. В условиях эксперимента на белых крысах и клинического исследования больных артериальной гипертензией и предиабетом оценить влияние на распределение жира и гуморальный статус сульфидной бальнеотерапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Исследование носило клиничко-экспериментальный характер и состояло из 2 этапов – экспериментального и клинического. Экспериментальное исследование проведено на беспородных белых крысах с ожирением. Животным проводилось воздействие сульфидными ваннами и комбинацией сульфидных аппликаций и ванн. В клиническом этапе исследования участвовали пациенты с артериальной гипертензией и предиабетом. Все пациенты, включенные в настоящее исследование, получали стандартизованную медикаментозную терапию согласно клиническим рекомендациям, а пациенты группы наблюдения дополнительно – комбинированную сульфидную бальнеотерапию (иловые сульфидные аппликации Суксунского озера и ванны) в течение 14 дней. Исследовательская программа предполагала оценку веса, объема талии (ОТ), индекса массы тела (ИМТ), оценку концентрации в сыворотке ростового фактора эндотелия сосудов (ВЭФР); тканевого фактора роста (ТФР β), инсулина и лептина, а также определение толщины эпикардального жира (ТЭЖ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В условиях эксперимента выявлен липолиз в адипоцитах (сальник), а также увеличение количества гемокапилляров во всех зонах сердца и рост экспрессии CD34. Результаты клинического этапа исследования позволяют говорить о перераспределении жировых депо на фоне сульфидной бальнеотерапии. В динамике не получено статистически значимых отличий по весу и ИМТ, однако наблюдалось достоверное уменьшение ОТ и ТЭЖ в группе больных, получавших бальнеологическое исследование, у которых также наблюдалось значимое снижение концентрации ВЭФР, лептина и увеличение ТФР бета 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В эксперименте и клиническом исследовании продемонстрировано наличие липолитического, регенераторного и адипокинрегулирующих эффектов сульфидной бальнеотерапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: артериальная гипертензия, предиабет, сульфидная бальнеотерапия, трофологический статус, цитокины, ростовые факторы, иммуногистохимия

Для цитирования: Vladimirskiy V.E., Hassaballa F.M., Vladimirskiy E.V., Gulyaeva N.I. Experimental And Clinical Evidence of the Sulfide Balneotherapy Influence Efficacy on the Trophological and Regenerative Status: a Fundamental, Randomized Controlled Trial. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2022; 21 (6): 134-144. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2022-21-6-134-144>

***Для корреспонденции:** Владимирский Владимир Евгеньевич, e-mail: vladimirskii_v@mail.ru,

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6451-9045>

Статья получена: 02.09.2022

Поступила после рецензирования: 18.10.2022

Статья принята к печати: 02.11.2022

Experimental And Clinical Evidence of the Sulfide Balneotherapy Influence Efficacy on the Trophological and Regenerative Status: a Fundamental, Randomized Controlled Trial

Vladimir E. Vladimirovskiy¹, Fakhreldin M. Hassaballa, Evgeniy V. Vladimirovskiy, Natalia I. Gulyaeva

E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

ABSTRACT

INTRODUCTION. The therapeutic strategies for managing patients with comorbid conditions, such as arterial hypertension (AH) and prediabetes, are widely adopting non-drug methods along with the recommended medications.

AIM. To evaluate the effect on fat distribution and humoral status of sulfide balneotherapy in the conditions of the experiment on white rats and clinical study of AH and prediabetes patients.

MATERIAL AND METHODS. The study was of a clinical and experimental nature and consisted of 2 phases – experimental and clinical. The experimental study was carried out on obese, non-pedigreed white rats. Animals were exposed to sulfide baths and a combination of sulfide applications and baths. In the clinical phase of the study, patients with AH and prediabetes were included. All patients included in the present study received standardised drug therapy according to clinical guidelines, and patients in the observation group additionally received combined sulphide balneotherapy (Suksun lake sulphide applications and baths) for 14 days. The study program included assessment of weight, waist circumference (WC), body mass index (BMI), assessment of serum concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF); tissue growth factor (TGF b), insulin and leptin, as well as determination of epicardial fat thickness (EFT).

RESULTS AND DISCUSSION. The experimental conditions revealed lipolysis in adipocytes (omentum), as well as an increase in the number of hemocapillaries in all areas of the heart and the growth of CD34 expression. The results of the clinical stage of the study suggest redistribution of fat depots against the background of sulfide balneotherapy. There were no statistically significant differences in weight and BMI in the dynamics, but there was a significant decrease in OT and TEF in the group of patients who received balneotherapy, who also had a significant decrease in HEFR concentration, leptin and an increase in TEF beta 1.

CONCLUSION. The presence of lipolytic, regenerative and adipokine-regulating effects of sulfide balneotherapy was demonstrated in the experiment and clinical study.

KEYWORDS: hypertension, prediabetic state, balneotherapy, nutritional status, cytokines, immunohistochemistry

For citation: Vladimirovskiy V.E., Hassaballa F.M., Vladimirovskiy E.V., Gulyaeva N.I. Experimental And Clinical Evidence of the Sulfide Balneotherapy Influence Efficacy on the Trophological and Regenerative Status: a Fundamental, Randomized Controlled Trial. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2022; 21 (6): 134-144. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2022-21-6-134-144>

***For correspondence:** Vladimir E. Vladimirovskiy, e-mail: vladimirskii_v@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6451-9045>

Received: Sep 02, 2022

Revised: Oct 18, 2022

Accepted: Nov 02, 2022

ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) и предиабет – коморбидные заболевания, которые связаны с повышенной сердечно-сосудистой заболеваемостью и смертностью. До трети людей с АГ имеют инсулинорезистентность [1].

Инсулинорезистентность (ИР) чаще всего ассоциирована с висцеральным ожирением. По мере увеличения массы висцеральной жировой ткани увеличивается экспрессия многих провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-α), интерлейкин -6 (ИЛ-6), вызывающих инфильтрацию макрофагами [2]. Окислительный стресс и воспаление в жировой ткани приводят к увеличению активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, которая является одним из ключевых звеньев патогенеза АГ [3].

Гиперинсулинемия и инсулинорезистентность (ИР) являются независимыми кардиоваскулярными факторами риска [4-6]. Инсулин способствует атерогенезу, вызывая миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток, фибробластов, активацию свертывающей

системы крови и снижение активности фибринолиза [7]. Результаты многочисленных исследований подтвердили четкую взаимосвязь между ИР и ожирением [8, 9]. Показано, что ИР в первую очередь часто присутствует при висцеральном ожирении [10]. На мышинных моделях при хирургическом удалении висцерального жира наблюдалось уменьшение ИР [11].

В 2013 году был представлен большой мета-анализ (97 исследований, 2,88 млн. человек), на основании которого поставил вопрос о «парадоксе ожирения» – избыточный вес ассоциирован с более низкой летальностью от всех причин по отношению к нормальной весовой категории, а ожирение 1 степени не связано с более высокой смертностью. Лишь ожирение при ИМТ >35 кг/м² сопровождалось высоким риском смертности [12]. Данный «парадокс ожирения» выявлен и для больных ИБС и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [13]. Одно из возможных объяснений «парадокса ожирения» заключается в распределении жировых депо [14].

У пациентов с ожирением увеличивается количества жира в депо, которое бывает 2 типов – подкожная жировая клетчатка и висцеральная жировая ткань,

последняя в свою очередь может быть представлена интраабдоминальным жиром и внеабдоминальным эктопическим жировым пулом (в том числе эпикардальный жир) [15, 16]. При ожирении адипоциты висцерального пула жировой ткани гипертрофируются, что вызывает их гипоксию, запуская процесс перестройки и дисфункции висцерального жира. Поврежденные адипоциты висцеральной жировой ткани изменяют нейрогуморальную активность и способны продуцировать до 250 адипокинов, обладающих провоспалительными, атерогенными и протромбогенными эффектами [17, 18].

Увеличение объема висцерального жирового пула, независимо от общей массы тела приводит к развитию ИР, дислипидемии, АГ, увеличивая риск неалкогольной жировой болезни печени и ИБС [19]. Толщина эпикардального жира (ТЭЖ) – маркер висцерального ожирения, который взаимосвязан с величиной интраабдоминальных депо, выявленных при компьютерной томографии, и может быть использован для оценки кардиоваскулярного риска [15]. Эпикардальный жировой пул является эндокринным органом, производящим цитокины, способствующие системному воспалению, вазоспазму, повреждению интимы и нестабильности атеросклеротических бляшек [20]. В связи с этим, терапевтические стратегии, прямо или косвенно влияющие на состояние висцеральных жировых депо, потенциально интересны и перспективны.

В рамках терапевтических стратегий ведения пациентов с коморбидной патологией, таких как АГ и предиабет, наряду с рекомендованными медикаментозными методами широко внедряются немедикаментозные методы лечения. Богатые природные лечебные ресурсы и ряд физических факторов предоставляют возможность воздействовать сразу на несколько факторов риска, например на артериальную гипертензию и метаболические нарушения.

Биологические механизмы, с помощью которых погружение в лечебно-минеральную воду и применение грязи облегчают симптомы некоторых патологий, до сих пор полностью не изучены, но известно, что нейроэндокринные и иммунологические реакции, включая гуморальный и клеточный иммунитет задействованы в этих механизмах. Гормезис может играть решающую роль во всех этих биологических эффектах и механизмах эффективности.

Активной молекулой сульфидных минеральных вод и грязей является H_2S , горметин, который может активно проникать через кожу. H_2S оказывает различное физиологическое воздействие на организм человека. Во-первых, H_2S является основным гиперполяризующим фактором эндотелия (EDHF), который вызывает гиперполяризацию и вазорелаксацию сосудистого эндотелия и гладкомышечных клеток, активируя АТФ-чувствительные калиевые каналы средней и малой проводимости посредством цистеин S-сульфгидратации [21]. Во-вторых, H_2S может предотвратить вызванные цитокинами или окислителями повреждения, оказывая антиоксидантные эффекты [22]. В-третьих, H_2S может подавлять экспрессию провоспалительных факторов, угнетая активацию NF- κ B или повышая экспрессию гемоксигеназы 1 [23]. Кроме того, H_2S может помочь регулировать различные функции

человеческого тела за счет цитопротекторного, антифибротического, антиапоптотического и ангиогенного действия [24].

Увеличение продукции H_2S в жировой ткани ингибирует базальный или инсулин-стимулированный метаболизм глюкозы и регулирует чувствительность к инсулину. Это говорит о том, что H_2S может быть регулятором инсулинорезистентности [25].

Эти полезные свойства H_2S послужили основанием для планирования исследования влияния сульфидной бальнеотерапии на состояние трофологического статуса в эксперименте у белых крыс с ожирением и у пациентов с АГ и предиабетом.

ЦЕЛЬ

В эксперименте на белых крысах изучить состояние висцеральных депо (в области сальника и сердца) и миокарда, а у пациентов с артериальной гипертензией и предиабетом оценить влияние сульфидной бальнеотерапии на курорте «Ключи» на трофологический статус, ряд показателей липидного обмена и паттерн ростовых и гормональных факторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исходно было получено одобрение Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России на выполнение данного клинико-экспериментального исследования (протокол №5 от 03.03.2021 г.).

Исследование носило клинико-экспериментальный характер и состояло из 2 этапов – экспериментального и клинического.

Экспериментальное исследование проведено на самцах белых крыс (средний вес 391,4 г). Животные были разделены на группы: группа №1 (n=8) получала сероводородные ванны на базе курорта «Ключи» (8 ванн); группа №2 (n=8) – сероводородные ванны и аппликации иловой сульфидной грязи на область передней брюшной стенки (8 ванн и 8 аппликаций); контрольная группа №3 (n=8) – ванны с водой без сероводорода, температурой 36°C через день, экспозицией 8 мин. (8 ванн).

Для проведения эксперимента в утренние часы каждое животное помещали в специально изготовленную ванночку размерами 30x15x12 см. В ванночку наливалась теплая вода температуры 36°C с концентрацией сероводорода 120 мг/л объемом около 3 литров. В ванночку помещалось животное и находилось там 8 мин. По истечении 8 мин. животное возвращалось в клетку. В группе №1 животные получали ванны через день.

В группе №2 животные также получали ванны, в свободный от ванн день они получали аппликации иловой сульфидной грязи. Для этого перед началом всего эксперимента у этой группы животных выбривали шерсть в области живота. В день отсутствия ванн животным группы №2 накладывали на эту область пакетик с грязью температурой 37-38°C, который привязывался завязками на спине. Время экспозиции составляло 8 мин., животное находилось в той же ванночке, но без воды. После проведения аппликации животное возвращалось в клетку.

Контрольная группа №3 – получала ванны с водой без сероводорода, температурой 36°C через день, экспозицией 8 мин. (8 ванн).

Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением этических принципов «Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.). У животных забирали сердце в области верхушки (исследованию подвергалась стенка левого желудочка, которая была разделена на 4 зоны), а также сальник в области передней брюшной стенки, фиксировали в забуференном нейтральном формалине, заливали в парафин, готовили препараты, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Органы фиксировали в забуференном нейтральном формалине, заливали в парафин, окрашивали гематоксилином и эозином. Для проведения иммуногистохимических реакций с целью выявления в тканях гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток использовали кроличьи моноклональные противокрысинные антитела системы «Diagnostic Biosystems» для выявления экспрессии CD73 (ab175396), CD90 (ab92574), CD105 (ab231673), CD 34 (ab81289) и CD45 (ab10558), для определения пролиферирующих клеток выявляли экспрессию Ki-67(ab15580).

Окрашивание проводили согласно протоколу с использованием системы детекции HRP/DAB DetectionSistem с применением положительных контролей. После окрашивания гистологических препаратов осуществляли подсчет клеток, экспрессирующих соответствующие антигены, в 2-х зонах сальника: вокруг кровеносных сосудов (зона 1), в участках липолиза и расположения фибробластоподобных клеток (ФПК) (зона 2). После окрашивания гистологических препаратов сердца осуществляли подсчет клеток, экспрессирующих соответствующие антигены, в 4-х зонах: в стенке кровеносных сосудов (зона 1), в субэпикардальной зоне миокарда (зона 2), в субэндокардальной зоне миокарда (зона 3) и в средней части миокарда (зона 4). В каждой зоне при увеличении микроскопа на 1000 подсчет осуществляли в 10 полях зрения с вычислением процентного содержания клеток. Количественные показатели обрабатывали статистически. Микроскопирование и фотографирование препаратов проводили с помощью микроскопа «Ломо Микмед-6» и цифровой фотокамеры «TopCam».

Клинический этап исследования представлял из себя сравнительное проспективное рандомизированное исследование, которое выполнялось на курорте «Ключи» Суксунского района Пермского края. Предварительно был определен объем выборки для достижения мощности исследования 95%, который составил 71 пациент. На подготовительном этапе проанализировано 150 медицинских карт пациентов с артериальной гипертензией (АГ) и предиабетом, из которых случайным образом выбраны 84 пациента для участия в исследовании.

Критерии включения в исследование следующие:

1. Наличие АГ.
2. Возраст от 40 до 65 лет.
3. Признаки предиабета устанавливались согласно критериям, представленным в методических рекомендациях «Диагностика, лечение и диспансерное наблюдение пациентов с предиабетом в условиях первичной

медико-санитарной помощи» утвержденных директором ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, член-корреспондентом РАН, профессором, главным внештатным специалистом по терапии и общей врачебной практике Минздрава России О.М. Драпкиной «16» февраля 2021 г.

Критерии невключения в исследование представлены ниже.

1. Анамнестические, клинические и инструментальные признаки ишемической болезни сердца (ИБС).
2. АГ III стадии и 3 степени (на момент включения в исследование).
3. Наличие сведений о перенесенном ранее остром нарушении мозгового кровообращения.
4. Выявление лабораторных критериев и анамнестических сведений о наличии сахарного диабета (СД).
5. Любое хроническое заболевание в стадии обострения.
6. Диспансерное наблюдение у онколога.
7. Перенесенная новая коронавирусная инфекция в ближайшие 6 мес.
8. Клинические показания для постоянного применения антитромбоцитарной и антикоагуляционной терапии.
9. Признаки хронической сердечной недостаточности (ХСН) 2а,2б и 3 стадии, II, III и IV функционального класса по NYHA.

В дальнейшем методом рандомизации с помощью таблицы случайных чисел пациенты были разделены на 2 группы – наблюдения и сравнения по 42 пациента. Однако во время исследования выбыли по причине инфекционного заболевания 2 пациента группы наблюдения. В итоге группу сравнения составили 42 пациента (средний возраст – 52 (Pe 25/75 -48/60) года), а наблюдения – 40 (средний возраст 51 (Pe 25/75 -45/59) лет) (p>0,05).

Все пациенты, включенные в настоящее исследование получали стандартизованную медикаментозную терапию согласно клиническим рекомендациям.

Пациенты группы наблюдения дополнительно получали комбинированную сульфидную бальнеотерапию в течение 14 дней. Лечебный комплекс состоял из 8 общих ванн и 6 сеансов аппликаций иловой сульфидной грязи Суксунского озера. Характеристики ванн и аппликаций были те же, что и на экспериментальном этапе.

Исследовательская программа (исходно и на 14-17 день бальнеологического лечения) предполагала оценку следующих показателей.

1. Физикальные методы – оценка веса, объем талии, индекс массы тела (ИМТ).
2. Общеклинические лабораторные исследования: – общий анализ крови.
3. Биохимическое исследование активности аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, концентрации билирубина, щелочной фосфатазы, гамма-глутаматтранспептидазы, альбумина, липидных параметров (холестерин липопротеидов очень низкой плотности, холестерин липопротеидов низкой плотности, триглицериды, холестерин липопротеидов высокой плотности, общий холестерин).
4. Оценка регенераторных эффектов (иммуноферментный анализ (ИФА)): ростовой фактор эндотелия сосудов (ВЭФР); тканевой фактор роста бетта 1 (ТФР b).

5. Активность участия жировой ткани в углеводном обмене оценивалась по концентрации в плазме крови глюкозы, инсулина и лептина (ИФА анализ).

6. Определение ТЭЖ (ультразвуковое исследование).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальный этап исследования

Воздействие бальнеологических процедур у экспериментальных животных 1-ой и 2-ой групп вызывает

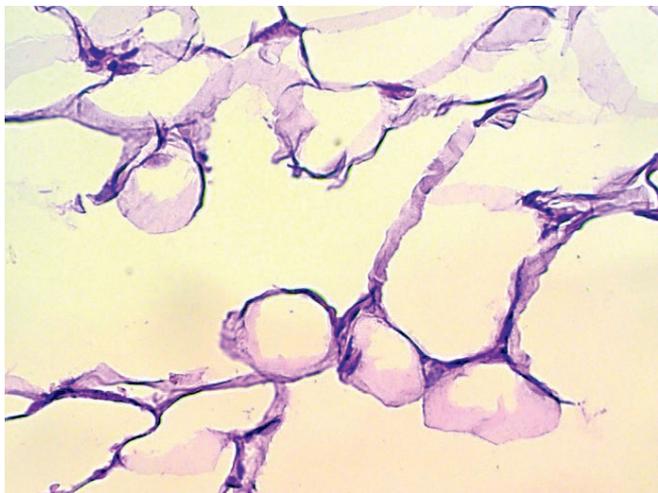


Рис. 1. Сальник. Адипоцит в состоянии липолиза. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение.1000

Fig. 1. Omentum. The adipocyte is in a state of lipolysis. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification.1000

При действии комплекса бальнеологических процедур (сероводородные ванны и ванны вместе с грязевыми аппликациями) у экспериментальных животных отмечалось увеличение количества гемокapилляров во всех 4-х зонах сердца и рост экспрессии CD34, который является маркером не только гемопоэтических стволовых клеток, но и эндотелия капилляров (рис. 3, 4).

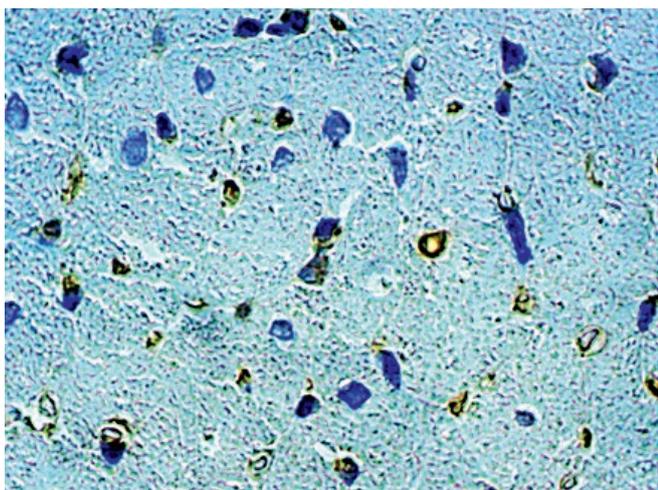


Рис. 3. Контроль. К6. Субэпикардальная зона миокарда. Гемокapилляры. Окраска на CD34. Увеличение 200

Fig. 3. Control. K6. subepicardial zone of the myocardium. Hemocapillaries. Staining on CD34. Magnification 200

липолиз в адипоцитах, который проявляется уменьшением размеров клеток, расширением объема их свободной от включений жира цитоплазмы и изменением формы ядра. Одновременно с этим наблюдается увеличение количества фибробластоподобных клеток (ФПК), что сопровождается развитием склеротических процессов в сальнике (рис. 1, 2).

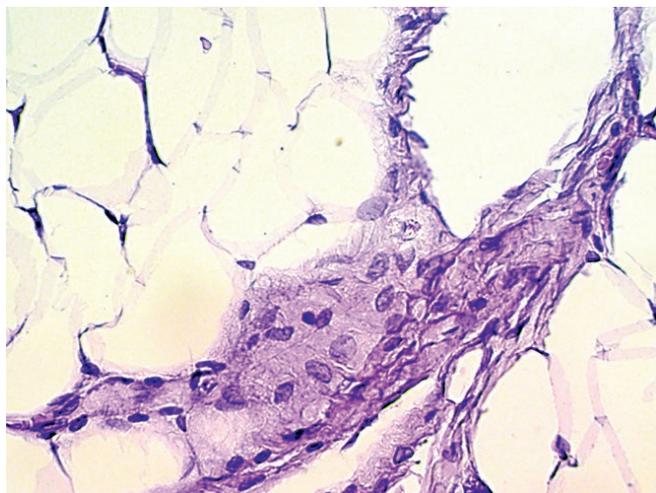


Рис. 2. Сальник. Фибробластоподобные клетки в участках склероза. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение.400

Fig. 2. Omentum. Fibroblast-like cells in areas of sclerosis. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 400

В сердце животных 1-ой экспериментальной группы, принимавших сероводородные ванны, наблюдалось уменьшение содержания жировых клеток в строме миокарда и снижение частоты выявления очагового склероза.

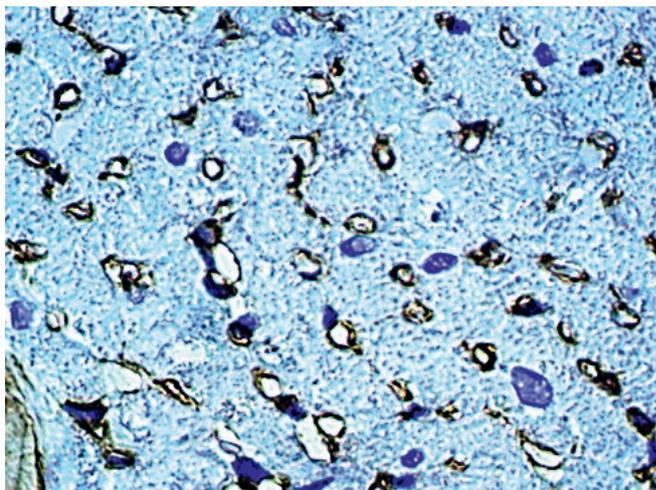


Рис. 4. Экспериментальная группа 1. Субэпикардальная зона миокарда. Гемокapилляры. Окраска на CD34. Увеличение 200

Fig. 4. Experimental group 1. Subepicardial zone of the myocardium. Hemocapillaries. Coloring on CD34. Magnification 200

Клинический этап исследования

Была проанализирована динамика изменения трофологического статуса на основании оценки веса, ИМТ, ОТ и толщины эпикардального жира (ТЭЖ) (табл. 1).

Таблица 1. Динамика показателей трофологического статуса у больных АГ и предиабетом в группах наблюдения и сравнения

Table 1. Dynamics of Nutritional Status Indicators in Patients with Hypertension and Prediabetes in the Observation and Comparison Groups

Фаза исследования / Research phase	Показатель / Index	Значение / value Me(P25/75)	P (Вилкоксона) / P (Wilcoxon)	Значение / value Me(P25/75)	P (Вилкоксона) / P (Wilcoxon)	P (Уитни-Манн) / (Whitney Mann)
Исходно / Initially	Вес, кг/ Weight, kg	96 (93;113,5)	0,38	94 (85;99)	0,07	0,86
Исходно / Initially	ИМТ, кг/м ² / BMI, kg / m ²	37 (34,95;39,25)	0,37	35 (33,85)	0,42	0,7
Исходно / Initially	ОТ, см/ WC, cm	103 (97,5;117)	0,46	104 (101;112)	0,04	0,5
Исходно / Initially	Толщина эпикардального жира, мм / Thickness of epicardial fat, mm	7,4 (6,7;7,7)	0,59	6,1 (5,5;8,7)	0,05	0,16

Примечание: ИМТ – индекс массы тела, ОТ – объем талии, p (Вилкоксона) для внутригрупповых различий, p (Уитни Манн) для межгрупповых различий

Note: BMI – body mass index, WC – waist circumference, p (Wilcoxon) for intragroup differences, p (Whitney Mann) for intergroup differences

Полученные результаты исследования позволяют говорить о перераспределении жировых депо на фоне сульфидной бальнеотерапии. В динамике наблюдения в группах пациентов (наблюдения и сравнения не получено статистически значимых отличий по весу и ИМТ, однако наблюдалось достоверное уменьшение ОТ и ТЭЖ в группе больных, получавших бальнеологическое исследование.

Достоверных внутригрупповых и межгрупповых различий концентрации глюкозы сыворотки крови на этапах исследования не выявлено. При сравнении концентрации общего холестерина сыворотки крови после тестовых воздействий у пациентов группы сравнения

(5,5 (5;5,8) ммоль/л) и наблюдения (4,7 (4,3;5,2) ммоль/л) у последних отмечено достоверное более низкое значение этого параметра липидного спектра (статистика Уитни Манна –p =0,03). Остальные параметры липидного спектра исходно и после тестовых воздействий достоверно не различались.

Результаты исследования динамики паттерна ростовых и гормональных факторов показали значимое снижение васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) и лептина, а также увеличение концентрации тканевого фактора роста бетта 1 (ТФР бетта 1) на фоне проведенного курса сульфидной бальнеотерапии (рис. 5).

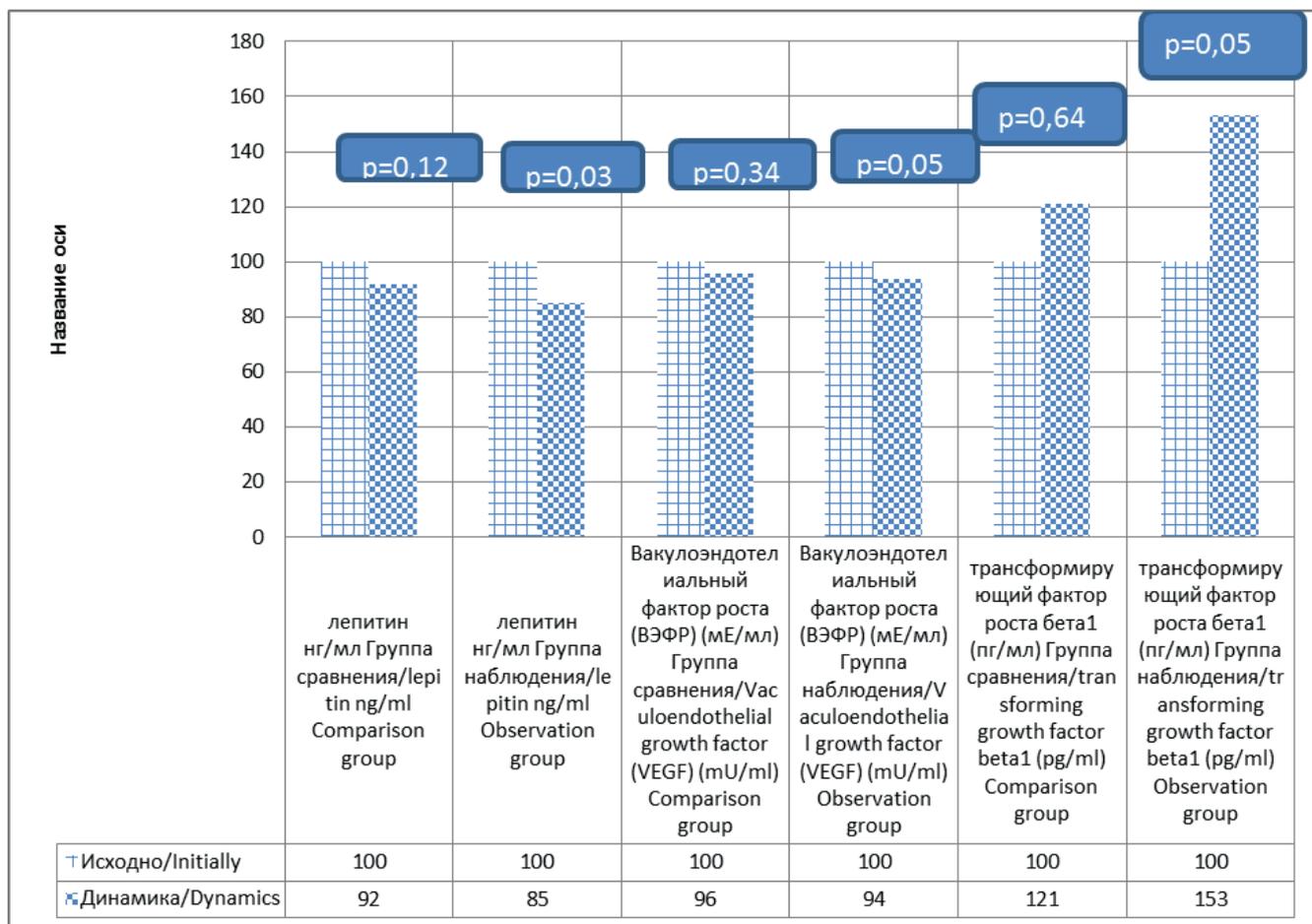


Рис. 5. Изменения адипо-цитокинового паттерна на фоне сульфидной бальнеотерапии у пациентов с АГ и предиабетом группы сравнения и наблюдения

Fig. 5. Changes in the adipo-cytokine pattern against the background of sulfide balneotherapy in patients with hypertension and prediabetes in the comparison and observation groups

В нашем эксперименте крысы подвергались воздействию общих сероводородных ванн и аппликаций сульфидных грязей на проекцию висцеральных жировых депо. Применение аппликаций обусловлено гипотезой о том, что подобное воздействие могло стимулировать пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и продукцию ряда адипокинов. Известно, что жировые депо обладают уникальным регенераторным потенциалом в связи с тем, что содержат в стромальной фракции клеток до 20% МСК [26]. Заместительное скопление ФПК у животных 1-ой и 2-ой групп вероятно объясняется влиянием бальнеологических процедур, приводящих к активизации липолиза, признаки которого были в обеих группах. Усиление липолиза адипоцитов может быть связано с действием сероводородных ванн на жировую ткань, в результате которого происходит изменение концентрации серотонина, простагландинов и других биологически активных веществ, активизирующих эти процессы [27].

Имеются данные, что выделяемые адипоцитами биологически активные вещества оказывают стимулирующее действие на более коммитированные предшественники фибробластов соединительной ткани, вырабатывающих межклеточное вещество соединительной ткани и формирующих, таким образом, небольшие зоны склероза [28].

Результаты исследования миокарда экспериментальных животных показали возможность липолитического эффекта сероводородных ванн и стимуляции неангиогенеза на фоне комбинированного воздействия ванн и аппликаций. Ранее было показано, что воздействие на эндотелиальные клетки доноров H₂S активирует множественные сигнальные пути с установленной ролью в неоваскуляризации. Введение NaHS активирует ось PI-3K/Akt [29], в то время как воздействие Na₂S усиливает фосфорилирование членов пути митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) [внеклеточная регулируемая сигналом киназа (ERK) 1/2 и p38] [29].

Полученные результаты клинического этапа исследования позволяют говорить о перераспределении жировых депо на фоне сульфидной бальнеотерапии. В динамике наблюдения не получено статистически значимых отличий по весу и ИМТ, однако наблюдалось достоверное уменьшение ОТ и ТЭЖ. Межгрупповые сравнения показали обратную закономерность – отсутствию значимых различий по ОТ и ТЭЖ, и значимо меньшие в динамике значения веса и ИМТ на фоне бальнеологических лечебных воздействий. Данные клинические результаты подтверждают выводы, полученные в проведенном предварительном экспериментальном исследовании на белых крысах – липолиз в структурах сальника и сердца.

Анализ результатов в группе наблюдения и сравнения выявил статистически значимое меньшее значение общего холестерина крови после проведенного курса сульфидной бальнеотерапии, что может быть связано с влиянием сероводорода на функциональное состояние гепатоцитов. Гиполипидемическое действие сульфидной бальнеотерапии было также продемонстрировано в работе Ю.С. Моржицкой с соавт. [30].

Результаты исследования динамики паттерна ростовых и гормональных факторов показали значимое снижение VEGF и лептина, а также увеличение концентрации TGFB1-b на фоне проведенного курса сульфидной бальнеотерапии.

Лептин синтезируется адипоцитами и, в меньших количествах, тканями желудочно-кишечного тракта, скелетных мышц и гипофиза. Данный адипокин представляет собой протеин с системным действием, мишенью которого являются аркообразные ядра гипоталамуса, воздействие на которые определяет пищевое поведение. Гиперлептинемия может индуцировать ремоделирование сердца и атерогенез [31]. Снижение концентрации этого пептида на фоне сульфидной бальнеотерапии, по всей видимости, можно отнести к положительным эффектам.

ВЭФР – потенциальный митоген для клеток сосудов. Он оказывает сильное влияние на проницаемость сосудов, является мощным ангиогенным белком, принимая участие неоваскуляризации в различных патологических ситуациях. ВЭФР-А может вызывать вазодилатацию через NO-синтезный путь в эндотелиальных клетках, а также активировать миграцию моноцитов [32]. Данный аутокринный пептид с одной стороны выполняет защитную функцию – рост и расширение сосудов, с другой стороны является маркером функции эндотелия. Снижение концентрации ВЭФР, полученное в нашем исследовании на фоне сульфидной бальнеотерапии может быть отражением двух возможных механизмов – уменьшение эндотелиальной дисфункции и изменение секреции этого пептида на фоне увеличения концентрации сероводорода в крови (по принципу обратной связи), т.к. H₂S является ключевым медиатором ВЭФР-индуцированного ангиогенеза [29].

ТФР бета 1 в сосудистой стенке выражено подавляет миграцию и дифференцировку гладкомышечных клеток, а также значимо увеличивает продукцию экстрацеллюлярного матрикса различными типами фибробластов [34]. Установлена роль данного ростового фактора в неоангиогенезе, что может дестабилизировать атерогенез [35]. Таким образом, данный пептид может выступать и как протективный фактор (стимуляция репаративных процессов), и как фактор дестабилизации атерогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В эксперименте на белых зрелых крысах с ожирением показано, что применение курса общих сульфидных ванн и комбинации сульфидных ванн и иловых сульфидных аппликаций вызывает липолитический эффект в висцеральных жировых депо (сальнике) и сердце, стимулирует развитие фиброзной ткани в сальнике и неоангиогенез, преимущественно в субэпикардальных слоях миокарда.

2. У больных артериальной гипертензией и предиабетом на фоне комплексного лечения с включением 2-х недельного курса общих сульфидных ванн и сульфидных иловых аппликаций на зоны жировых депо наблюдается перераспределение жировых депо, что подтверждается значимым уменьшением величины окружности талии и толщины эпикардального жира по данным ультразвукового исследования сердца и отсутствием достоверных изменений веса и индекса массы тела.

3. У пациентов с артериальной гипертензией и предиабетом наблюдались достоверно меньшие значения общего холестерина крови, что может быть связано с влиянием сероводорода на функциональное состояние гепатоцитов.

4. После двухнедельного курса сульфидной бальнеотерапии наблюдается снижение сывороточной концентрации васкулоэндотелиального ростового фактора и лептина, а также увеличение тканевого ростового фактора бета-1, что объясняет ряд выявленных в исследовании клинических эффектов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Информация об авторах:

Владимирский Владимир Евгеньевич, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой факультетской терапии №1, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера.

E-mail: vladimirskii_v@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6451-9045>

Хассабалла Фахрельдин Мохамед, аспирант кафедры факультетской терапии №1, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера.

E-mail: fakhr975@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1661-0324>

Владимирский Евгений Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, кафедра факультетской терапии №1, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера.

E-mail: vladimirskie@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4199-1931>

Гуляева Наталья Ивановна кандидат медицинских наук, доцент, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера.

E-mail: bizon55@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0572-7594>

Вклад авторов:

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Наибольший вклад распределен следующим образом:

Владимирский В.Е. – обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, написание текста рукописи;

Хассабалла Ф.М. – отбор, обследование пациентов, разработка дизайна исследования, обработка, статистический анализ и интерпретация данных;

Владимирский Е.В. – разработка дизайна исследования, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации, научная редакция текста рукописи;

Гуляева Н.И. – разработка дизайна и проведение экспериментального исследования, проверка критически важного содержания, выполнение иммуногистохимических исследований, интерпретация полученных результатов.

Источник финансирования:

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов:

Авторы декларируют отсутствие других явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение:

Исследования осуществлялись в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу Минздрава России от 12.08 1997 г. № 755) и требований Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (Страсбург, 1986 г.). Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (протокол №55 от 17.11.2020 г.).

ADDITIONAL INFORMATION**Information about the authors:**

Vladimir E. Vladimirovskiy, Dr. Sci. (Med.), associate Professor, Head of the Department of Faculty Therapy No. 1, E.A. Wagner Perm State Medical University.

E-mail: vladimirovskii_v@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6451-9045>

Fakhreldin M. Hassaballa, post-graduate student of the Department of Faculty Therapy No. 1, E.A. Wagner Perm State Medical University.

E-mail: fakhrr975@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1661-0324>

Evgeny V. Vladimirovskiy, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Faculty Therapy No. 1, E.A. Wagner Perm State Medical University.

E-mail: vladimirovskie@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4199-1931>

Natalya I. Gulyaeva, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Histology, Embryology and Cytology, E.A. Wagner Perm State Medical University.

E-mail: bizon55@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0572-7594>

Author's contribution:

All authors confirm their authorship according to the ICMJE criteria (all authors contributed significantly to the conception, study design and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Special contribution:

Vladimirovskiy V.E. – review of publications on the topic of the article, development of study design, analysis and interpretation of data, writing the text of the manuscript.

Hassaballa F.M. – selection, examination of patients, development of study design, processing, statistical analysis and interpretation of data.

Vladimirovskiy E.V. – development of research design, verification of critical content, approval of the manuscript for publication, scientific revision of the text of the manuscript.

Gulyaeva N.I. – design development and experimental study, verification of critical content, immunohistochemical studies, interpretation of the results.

Source of funding:

This study was not supported by any external sources of funding.

Disclosure:

The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics Approval:

Studies were performed in accordance with the rules of work with experimental animals (Appendix to Order No. 755 of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 12.08.1997) and the requirements of the European Convention on the Protection of Experimental Animals (Strasbourg, 1986). The study was approved by the Local ethical committee of the E.A. Wagner Perm State Medical University (Protocol No.5 dated Nov 17,2020).

Consent for Publication:

Not applicable.

Список литературы / References

- Zywicki V., Capozza P., Caravelli P., Del Prato S., De Caterina R. Glucose tolerance and markers of myocardial injury after an acute coronary syndrome: predictive role of the 1-h plus 2-h plasma glucose at the oral glucose tolerance test. *Cardiovascular Diabetology*. 2022; 21(1): 152 p. <https://doi.org/10.1186/s12933-022-01590-w>
- Shahim B., De Bacquer D., De Backer G., Gyberg V., Kotseva K., Mellbin L., Schnell O., Tuomilehto J., Wood D., Ryden L. The prognostic value of fasting plasma glucose, two-hour postload glucose, and HbA1c in patients with coronary artery disease: a report from EUROASPIRE IV: a survey from the European Society of Cardiology. *Diabetes Care*. 2017; (40): 1233-1240. <https://doi.org/10.2337/dc17-0245>
- Liu N., Sheng J., Wang Y. Effect of stress hyperglycaemia on monocyte chemoattractant protein-1 levels and the short-term prognosis of patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2019; 17(5): 3823-3829. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7338>
- Шишко Е.И., Мохорт Т.В., Мохорт Е.Г. Нарушения эндокринной регуляции при заболеваниях, связанных с инсулинорезистентностью. Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. 2016; (5): 76-81. [Shyshko E.I., Mokhort T.V., Mokhort A.G. The endocrine regulation disorders in diseases associated with insulin resistance] *Lechebnoe Delo: Nauchno-Prakticheskii Terapevticheskii Zhurnal*. 2016; (5): 76-81 (In Russ.)]
- Wu W., Wu Y., Yang J., Sun D., Wang Y., Ni Z., Yang F., Xie Y., Tan X., Li L., Li L. Relationship between obesity indicators and hypertension-diabetes comorbidity among adults: a population study from Central China. *BMJ Open*. 2022; 12(7): e052674. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-052674>
- Garbuzenko D.V. Pathophysiological mechanisms of cardiovascular disorders in non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*. 2022; 15(3): 194-203. <https://doi.org/10.22037/ghfbb.v15i3.2549>
- Литвинова Л.С., Кириенкова Е.В., Мазурин И.О. Патогенез инсулинорезистентности при метаболическом ожирении. Биомедицинская химия. 2015; 61(1): 70-82. <https://doi.org/10.18097/PBMC20156101070> [Litvinova L.S., Kirienkova E.V., Mazunin I.O. Insulin resistance pathogenesis in metabolic obesity. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2015; 61(1): 70-82. <https://doi.org/10.18097/PBMC20156101070> (In Russ.)]
- Tucker L.A. Fiber Intake and Insulin Resistance in 6374 Adults: The Role of Abdominal Obesity. *Nutrients*. 2018; 10(2): 237 p. <https://doi.org/10.3390/nu10020237>
- Pileggi C.A., Hooks B.G., McPherson R., Dent R.R.M., Harper M.E. Targeting skeletal muscle mitochondrial health in obesity. *Clinical Science*. 2022; 136(14): 1081-1110. <https://doi.org/10.1042/CS20210506>
- Hruby A., Hu F.B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *PharmacoEconomics*. 2015; 33(7): 673-89. <https://doi.org/10.1007/s40273-014-0243-x>
- Lambadiari V., Dimitriadis G., Kadoglou N.P.E. The impact of oral anti-diabetic medications on heart failure: lessons learned from preclinical studies. *Heart Failure Reviews*. 2018; 23(3): 337-346. <https://doi.org/10.1007/s10741-018-9690-3>
- Flegal K.M., Kit B.K., Orpana H., Graubard B.I. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2013; 309(1): 71-82. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.113905>
- Kanic V., Frank B., Kompara G., Suran D. Differential associations between body mass index and outcome in different age groups in patients with myocardial infarction. *Indian Heart Journal*. 2022; 74(4): 289-295. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2022.06.004>
- Бородкина Д.А., Груздева О.В., Квиткова Л.В., Барбараш О.Л. Распределение жировых отложений: разгадка кажущегося парадокса ожирения в кардиологии? Ожирение и метаболизм. 2017; 14(2): 3-8. <https://doi.org/10.14341/OMET201723-8> [Borodkina D.A., Gruzdeva O.V., Kvitkova L.V., Barbarash O.L. Body fat distribution: the answer to the apparent paradox of obesity in cardiology? *Obesity and Metabolism*. 2017; 14(2): 3-8. <https://doi.org/10.14341/OMET201723-8> (In Russ.)]
- Драпкина О.М., Шепель Р.Н., Деева Т.А. Толщина эпикардального жира – «визитная карточка» метаболического синдрома. Ожирение и метаболизм. 2018; 15(2): 29-34. <https://doi.org/10.14341/omet9295> [Drapkina O.M., Shepel R.N., Deeva T.A. The thickness of the epicardial fat is the "visit card" of metabolic syndrome. *Obesity and Metabolism*. 2018; 15(2): 29-34. <https://doi.org/10.14341/omet9295> (In Russ.)]
- Кокшарова Е.О., Майоров А.Ю., Шестакова М.В., Дедов И.И. Метаболические особенности и терапевтический потенциал бурой и «бежевой» жировой ткани. Сахарный диабет. 2014; (4): 5-15. [Koksharova E.O., Mayorov A.Yu., Shestakova M.V., Dedov I.I. Metabolic characteristics and therapeutic potential of brown and 'beige' adipose tissues. *Diabetes Mellitus*. 2014; (4): 5-15 (In Russ.)]
- Schleinitz D., Krause K., Wohland T., Gebhardt C., Linder N., Stumvoll M., Blüher M., Bechmann I., Kovacs P., Gericke M., Tönjes A. Identification of distinct transcriptome signatures of human adipose tissue from fifteen depots. *European Journal of Human Genetics*. 2020; 28(12): 1714-1725. <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0681-1>
- Armstrong A., Jungbluth Rodriguez K., Sabag A., Mavros Y., Parker H.M., Keating S.E., Johnson N.A. Effect of aerobic exercise on waist circumference in adults with overweight or obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*. 2022; 23(8): e13446. <https://doi.org/10.1111/obr.13446>
- Geng Y., Faber K.N., de Meijer V.E., Blokzijl H., Moshage H. How does hepatic lipid accumulation lead to lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease? *Hepatology International*. 2021; 15(1): 21-35. <https://doi.org/10.1007/s12072-020-10121-2>
- Karampetsou N., Alexopoulos L., Minia A., Pliaka V., Tsolakos N., Kontzoglou K., Perrea D.N., Patapis P. Epicardial Adipose Tissue as an Independent Cardiometabolic Risk Factor for Coronary Artery Disease. *Cureus*. 2022; 14(6): e25578. <https://doi.org/10.7759/cureus.25578>
- Liu J., Mesfin F.M., Hunter C.E., Olson K.R., Shelley W.C., Brokaw J.P., Manohar K., Markel T.A. Recent Development of the Molecular and Cellular Mechanisms of Hydrogen Sulfide Gasotransmitter. *Antioxidants*. 2022; 11(9): 1788. <https://doi.org/10.3390/antiox11091788>
- Hussain Lodhi A., Ahmad F.U., Furwa K., Madni A. Role of Oxidative Stress and Reduced Endogenous Hydrogen Sulfide in Diabetic Nephropathy. *Drug Design, Development and Therapy*. 2021; (15): 1031-1043. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S291591>
- Manandhar S., Sinha P., Ejiwale G., Bhatia M. Hydrogen Sulfide and its Interaction with Other Players in Inflammation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2021; (1315): 129-159. https://doi.org/10.1007/978-981-16-0991-6_6
- Yu W., Jin H., Tang C., Du J., Zhang Z. Sulfur-containing gaseous signal molecules, ion channels and cardiovascular diseases. *British Journal of Pharmacology*. 2018; 175(8): 1114-1125. <https://doi.org/10.1111/bph.13829>
- Chen H.J., Ngowi E.E., Qian L., Li T., Qin Y.Z., Zhou J.J., Li K., Ji X.Y., Wu D.D. Role of Hydrogen Sulfide in the Endocrine System. *Frontiers in Endocrinology*. 2021; (12): 704620. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.704620>
- Васильев В.С., Мантурова Н.Е., Васильев С.А., Терюшкова Ж.И. Биологическая характеристика жировой ткани. Пластическая хирургия и эстетическая медицина. 2019; (2): 33-42. <https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia201902133> [Vasil'ev V.S., Manturova N.E., Vasil'ev S.A., Teryushkova Zh.I. Biological features of adipose tissue. *Plastic Surgery and Aesthetic Medicine*. 2019; (2): 33-42. <https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia201902133> (In Russ.)]

27. Ефименко Н.В., Гордиенко Д.Н., Чалая Е.Н. Комплексная медицинская реабилитация военнослужащих с эрозивно-язвенными поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2019; 18(4): 220-226. <https://doi.org/10.17816/1681-3456-2019-18-4-220-226> [Efimenko N.V., Gordienko D.N., Chalaya E.N. Complex medical rehabilitation of the military with erosive ulcer-bearing area and duodenum. *Russian Journal of Physiotherapy, Balneology and Rehabilitation*. 2019; 18(4): 220-226. <https://doi.org/10.17816/1681-3456-2019-18-4-220-226> (In Russ.)]
28. Москаленко Р.А., Корнеева Ю.С. Роль жировой ткани в возникновении и прогрессировании колоректального рака. *Архив патологии*. 2019; 81(1): 52-56. <https://doi.org/10.17116/patol20198101152> [Moskalenko R.A., Korneva Y.S. Role of adipose tissue in the development and progression of colorectal cancer. *Arkhiv Patologii*. 2019; 81(1): 52-56. <https://doi.org/10.17116/patol20198101152> (In Russ.)]
29. Papapetropoulos A., Pyriochou A., Altaany Z., Yang G., Marazioti A., Zhou Z., Jeschke M.G., Branski L.K., Herndon D.N., Wang R., Szabó C. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. *National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009; 106(51): 21972-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908047106>
30. Моржицкая Ю.С., Владимирский Е.В. Оценка комплексного лечения курорта «Ключи» с применением сероводородных ванн на течение ишемической болезни сердца. *Пермский медицинский журнал*. 2007; 24(4): 47-52. [Morzhickaya Yu.S., Vladimirsij E.V. Evaluation of the complex treatment of the resort "Klyuchi" with the use of hydrogen sulfide baths for the course of coronary heart disease. *Perm Medical Journal*. 2007; 24(4): 47-52 (In Russ.)]
31. Wójcik-Gładysz A., Wańkowska M., Misztal T., Romanowicz K., Polkowska J. Effect of intracerebroventricular infusion of leptin on the secretory activity of the GnRH/LH axis in fasted prepubertal lambs. *Animal Reproduction Science*. 2009; 114(4): 370-83. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.10.009>
32. Шулькина С.Г., Щекотов В.В., Смирнова Е.Н., Антипова А.А. Сосудисто-эндотелиальный фактор роста и липокалин-2 как маркеры раннего повреждения нефрона у больных артериальной гипертензией и ожирением. *Современные технологии в медицине*. 2016; 8(1): 148-152. <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.1.20> [Shulkina S.G., Schekotov V.V., Smirnova E.N., Antipova A.A. Vascular Endothelial Growth Factor and Lipocalin-2 as Markers of Early Nephron Damage in Patients with Hypertension and Obesity. *Sovremennye Tehnologii v Medicine*. 2016; 8(1): 148-152. <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.1.20> (In Russ.)]
33. McPherson R., Tybjaerg-Hansen A. Genetics of Coronary Artery Disease. *Circulation Research*. 2016; 118(4): 564-78. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306566>
34. Sie M.P., Uitterlinden A.G., Bos M.J., Arp P.P., Breteler M.M., Koudstaal P.J., Pols H.A., Hofman A., van Duijn C.M., Witteman J.C. TGF-beta 1 polymorphisms and risk of myocardial infarction and stroke: the Rotterdam Study. *Stroke*. 2006; 37(11): 2667-71. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000244779.30070.1a>
35. Ferrari G., Cook B.D., Terushkin V., Pintucci G., Mignatti P. Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) induces angiogenesis through vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated apoptosis. *Journal of Cellular Physiology*. 2009; 219(2): 449-58. <https://doi.org/10.1002/jcp.21706>

