

# Взаимодействие системных и локальных нарушений гомеостаза при хроническом абактериальном простатите III–V категории (экспериментальное исследование)

**И.С. Шорманов, И.И. Можяев, Х.А. Соколова, А.И. Рыжков, Н.С. Шорманова**

ФГБУ высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

## Сведения об авторах:

Шорманов И.С. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой урологии с нефрологией Ярославского государственного медицинского университета Минздрава России, e-mail: kafuro@mail.ru

Shormanov I.S. – Dr. Sc., professor, Head of Department of Urology Nephrology of Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: kafuro@mail.ru

Можяев И.И. – старший лаборант кафедры урологии с нефрологией Ярославского государственного медицинского университета Минздрава России, e-mail: kafuro@mail.ru

Mozhaev I.I. – senior laboratory assistant of Department of Urology Nephrology of Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: kafuro@mail.ru

Соколова Х.А. – к.м.н., доцент кафедры урологии с нефрологией Ярославского государственного медицинского университета Минздрава России, e-mail: manoylov@yandex.ru

Sokolova Ch.A. – PhD, associate professor of Department of Urology Nephrology of Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: manoylov@yandex.ru

Рыжков А.И. – к.м.н., доцент кафедры урологии с нефрологией Ярославского государственного медицинского университета Минздрава России, e-mail: 1129682@gmail.com

Ryzhkov A.I. – PhD, associate professor of Department of Urology Nephrology of Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: 1129682@gmail.com

Шорманова Н.С. – к.м.н., ассистент кафедры патологической анатомии Ярославского государственного медицинского университета Минздрава России, e-mail: kafuro@mail.ru

Shormanova N.S. – Ph.D, assistant of Department of pathological anatomy of Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: kafuro@mail.ru

**Х**ронический простатит, без сомнения, является одним из наиболее частых урологических диагнозов, устанавливаемых у мужчин различного возраста, однако, истинная частота заболеваемости в мужской популяции остается до сих пор неизвестной, отражением чего являются порой весьма противоречивые данные о его эпидемиологии, представляемые различными авторами [1-4]. Столь же противоречивые научные данные имеются и относительно этиопатогенеза хронического простатита. Но если в случае с хроническим инфекционным простатитом этиопатогенез, как считается, вполне очевиден (проникновение и обсеменение предстательной железы (ПЖ) различными инфекционными агентами), то с неинфекционными (абактериальными) синдромами хронической тазовой боли у мужчин все обстоит гораздо сложнее. В настоящее время предложено не менее 50 различных теорий патогенеза хронического абактериального простатита (ХАП), что позволяет сегодня констатировать как мультифакторность данной формы заболевания, так и

необходимость междисциплинарных взаимодействий при изучении вопросов его этиологии и патогенеза. Это по мнению большинства современных исследователей и клиницистов позволит существенно улучшить результаты его профилактики и фармакотерапии, которые сегодня нельзя признать удовлетворительными [5].

Наибольшую сложность с точки зрения методологических, диагностических и лечебно-профилактических дефиниций, представляет ХАП III–V категории, который, согласно определениям National Institutes of Health (США), характеризуется отсутствием каких-либо патологических изменений в секрете ПЖ или эякуляте пациентов [6].

В настоящее время ХАП III–V категории, по мнению большинства современных авторов, рассматривается как органное поражение ПЖ, для которого характерно отсутствие единых, убедительных с позиций доказательной медицины этиологических факторов и патогенетических механизмов, что позволяет рассматривать ХАП III–V категории как мультифакторное заболевание и позиционировать как междисципли-

нарную проблему, которая должна обсуждаться с позиций тесного патогенетического взаимодействия разнообразных системных и органических нарушений гомеостаза с точкой приложения эффектов в ПЖ. По мнению многих исследователей, именно отказ от таких междисциплинарных методологических подходов к пониманию сущности ХАП III–V категории является одной из ключевых причин достаточно низкой эффективности фармакотерапии данного заболевания, на которую единодушно указывают все исследователи и клиницисты [7-10].

Согласно данным доступной научной литературы, нарушения гомеостаза на системном и органном уровнях, приводящие к ХАП III–V категории, в определенной степени связаны, взаимодействуют между собой и способны оказывать взаимное влияние друг на друга. Наиболее полным отражением этих взаимодействий, объединяющим имеющиеся многочисленные современные теории этиопатогенеза ХАП III–V категории, является каскадная теория С. J. Nickel, которая определяет данное заболевание как «мультифакторный взаимосвязанный каскад» пато-

логических превращений, которые инициируются любым агентом (событием или процессом) и приводят к возникновению симптомов и локального болевого синдрома [11]. Эта концепция «мультифакторного взаимосвязанного каскада» J.C. Nickel подразумевает тесную взаимосвязь между системными и органическими нарушениями гомеостаза при ХАП ШВ-категории, что требует применения интегративного системного подхода при обследовании пациентов и планировании фармакотерапии данной формы ХАП.

Следует отметить в целом позитивную тенденцию в современной урологической науке, которая постепенно переходит на междисциплинарные комплексные методы исследования, когда при изучении особенностей патогенеза урологических заболеваний за методологическую основу все чаще принимаются не теории локального патогенеза, а фундаментальные общепатологические теории, позволяющие комплексно и всесторонне оценить течение заболевания у конкретного пациента, а не болезнь в целом (персонифицированный, или пациент-таргетированный вариант медицины).

Одной из наиболее популярных современных теорий патогенеза большинства заболеваний является теория окислительного стресса (свободно-радикального окисления) [12]. Окислительный стресс на клеточно-тканевом уровне проявляется такими патологическими процессами, как усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Это ведет к генерализованным мембранопатиям – нарушению проницаемости клеточных мембран и мембран клеточных органелл, чрезмерному накоплению свободных радикалов внутри клетки, выходу лизосомальных ферментов внутрь клетки, накоплению внутри клетки ионов кальция, клеточному апоптозу и некрозу), гиперпероксидации, эндотелиальной дисфункции (ишемия, гипоксия), нарушению клеточной ре-

цепции и перцепции (арефлексия и вегетативно-медиаторная дисфункция клетки), энергетическому и метаболическому нарушению (митохондриальная дисфункция) и т.д. Они приводят сначала к функциональной, а при сохранении патологического окислительного стресса – и к органической клеточной и тканевой патологии [13].

Вышеописанные клеточно-тканевые механизмы окислительного стресса привлекают внимание исследователей, занимающихся вопросами изучения мультифакторного патогенеза ХАП Ш-В категории, поскольку способны обеспечить более глубокое методологическое изучение проблемы как на системном, так и органном уровнях, а, значит, создать теоретический плацдарм для разработки более эффективных методов профилактики и лечения. Вот почему в отечественной и зарубежной литературе появляется все больше публикаций, в рамках которых авторы изучают особенности цитокиновых реакций, оксидативного статуса, проявления нарушений обмена медиаторов вегетативной нервной системы и т.д. при ХАП Ш-В категории [14-20]. Однако при этом имеется определенный дефицит работ экспериментального плана, прежде всего, в отечественной литературе [21]. Вместе с тем, именно экспериментальное моделирование позволяет более фундаментально изучить проблему, поскольку не все методы исследования, применяемые в эксперименте, возможные с технической и морально-нравственной точки зрения реализовать в когорте людей в рамках клинических исследований. Данный факт послужил поводом для проведения настоящего экспериментального исследования и предопределил его цель и задачи.

*Цель исследования* – изучить, сравнить между собой и выявить возможные взаимосвязи между нарушениями гомеостаза системного (в крови) и органного (в ткани предстательной железы) характера в различных экспериментальных моделях ХАП Ш-В категории.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовались 90 беспородных половозрелых здоровых самцов белых крыс массой тела 180-200 граммов. С лабораторными животными работали в соответствии с действующими «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и российскими «Рекомендациями по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [22]. В качестве контрольной группы использовано 30 половозрелых интактных самцов белых крыс, не подвергавшихся никаким воздействиям, а результаты их обследования принимались за значения «здоровой нормы». Оставшиеся 60 животных были разделены на 3 экспериментальные группы.

В группе 1 исходно интактных животных (n=20) формировалась только экспериментальная модель ХАП в течение 3 месяцев по методике Б.В. Алешина и соавт. [23]. Это инвазивная методика, связанная с прошиванием ПЖ шелковой лигатурой через оперативный доступ в надлобной области в стерильных условиях под нембуталовым наркозом. Согласно данным автора, при гистологических исследованиях таких желез в раннем периоде отмечалось острое экссудативное воспаление, которое через 2 месяца трансформировалось в хронический воспалительный процесс с типичными атрофическими изменениями ацинусов и фиброзом стромы ПЖ. Через 6 месяцев после операции были выявлены атрофические изменения, фиброз и выраженный склероз. В настоящем исследовании самцы белых крыс вводились в эксперимент через 3 месяца после выполнения подобной манипуляции на ПЖ, временной промежуток был выбран с учетом того, чтобы модель соответствовала длительно

существующему хроническому абактериальному простатиту еще до развития склероза ПЖ, который имеет несколько иные анатомо-функциональные характеристики, чем даже длительно существующий ХАП без (суб)тотального простатосклероза и простатофиброза. У животных через надлонный разрез под нембуталовым наркозом осуществлялся доступ к ПЖ и ее быстрое извлечение. Далее проводили отделение кусочков органа массой примерно 250–300 мг (за 20–30 секунд), которые затем помещали в среду выделения, охлажденную до температуры тающего льда. В дальнейшем все манипуляции с тканями, до помещения пробы в параграфическую ячейку, проводили строго при температуре 0 °С в ледяной бане. Перед приготовлением гомогената с целью дополнительного измельчения, ткани ПЖ продавливали через охлажденный пресс, изготовленный из нержавеющей стали, с отверстиями диаметром 1 мм. Полученные кусочки ткани гомогенизировали в калиброванном гомогенизаторе типа Даунса из кварцевого стекла с тефлоновым пестиком при соотношении «среда выделения/ткань» как 1:2. Ткань разрушали мягкими продольными движениями пестика (10 тракций), затем гомогенат процеживали через капроновую сетку в охлажденную пробирку. Приготовленный 30% гомогенат ткани получали через 10–15 минут с момента извлечения тканей из организма животного и использовали для проведения дальнейших биохимических исследований [24,25].

В группе 2 исходно интактных животных (n=20) моделировался только системный стресс в течение 1 месяца по методике И.А. Коломейцевой [26]. Методика моделирования имобилизационного стресса заключается в создании условий, препятствующих движениям животных в течение длительного времени. Имобилизационный стресс воспроизводили ежедневным помещением животных в тесные пеналы объемом 42 см<sup>3</sup>, ограничивающие их подвиж-

ность. При помещении двух крыс в одну клетку животные практически заполняли все пространство клетки, что резко ограничивало возможность их движений, при этом у крыс сохраняли доступ к воде и еде. Длительность имобилизации составляла 6 часов в сутки в течение 30 дней. Затем все животные выводились из эксперимента: сначала у них осуществлялся забор периферической крови из хвостовой вены, после чего выполнялась декапитация после предварительной наркотизации внутривенным введением этиминала натрия (4 мг/100 г массы тела), удалялись ПЖ, из их ткани изготавливался гомогенат, который вместе с полученной ранее периферической кровью подвергался необходимым лабораторным исследованиям, как и в группе 1.

В группе 3 исходно интактных животных (n=20) сначала моделировался ХАП в течение 3 месяцев, а затем дополнительно воспроизводилась лабораторная модель системного стресса еще в течение 1 месяца по вышеописанным методикам. Таким образом, животные группы 3 выводились из эксперимента по истечении 4 месяцев и в дальнейшем подвергались таким же манипуляциям и обследованиям, как животные групп 1 и 2.

Таким образом, в ходе экспериментального исследования из 90 животных было сформировано 4 группы: контрольная группа (n=30); группа 1 (n=20) – животные только с экспериментальной моделью ХАП; группа 2 (n=20) – животные только с экспериментальной моделью системного стресса; группа 3 (n=20) – животные с комбинированной экспериментальной моделью (ХАП + системный стресс).

У всех экспериментальных животных исследованию подвергалась периферическая кровь, взятая из хвостовой вены (системный уровень), и гомогенат ткани ПЖ (органный уровень), в которых изучались идентичные гомеостатические показатели цитокинового обмена и оксидатив-

ного статуса. Для оценки цитокинового обмена определяли содержание провоспалительного цитокина ИЛ-8 и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем, выпускаемых фирмой BIOSOURCE (Бельгия) [27,28]. Для оценки оксидативного статуса определяли уровень промежуточных продуктов ПОЛ (двухдневных конъюгатов) по методике И.Д. Стальной [29], окончательных продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) по спектрофлуориметрической методике И.Д. Стальной и Т.Г. Гаришвили [30], а также активность каталазы на спектрофотометре СФ-46 ЛОМО по методу Аebi, модифицированного М.А. Королюком и Л.И. Ивановой [31,32].

Статистическая обработка выполнялась в программе Microsoft Excel-2007 и Statistica 6.0. (StatSoft, USA). Для оценки межгрупповых различий значений признаков, имеющих непрерывное распределение, применяется t-критерий Стьюдента. Для исследования взаимосвязи количественных признаков между собой определялся коэффициент корреляции Спирмена (r). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых межгрупповых различий или факторных влияний) принимали, равным 0,05 [33].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты отдельного исследования цитокинового обмена в периферической крови и гомогенатах ПЖ в различных экспериментальных моделях представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, изменения цитокинового обмена в крови и в гомогенатах ПЖ имели место во всех трех основных группах экспериментального моделирования, но степень их выраженности была различной в зависимости от конкретной экспериментальной модели. Так, у животных группы 1 с моделью ХАП плазменные уровни провоспалительного ИЛ-8 и противовоспалительного

тельного ИЛ-10 достоверно не отличались от аналогичных показателей контрольной группы ( $p < 0,1$ ), в то время, как их содержание в гомогенатах ПЖ оказалось достоверно выше (ИЛ-8 на 48,0%, а ИЛ-10 – на 15,8%, соответственно;  $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой, но оказались менее выраженными по сравнению с аналогичными показателями основных групп 2 и 3 ( $p < 0,05$ ). В то же самое время в гомогенатах ПЖ у животных группы 1 отмечалось достоверное повышение уровней провоспалительных (ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов по сравнению с нормой, что являлось отражением превалирования преимущественно органных (ПЖ) нарушений обмена цитокинов (маркеров хронической воспалительной реакции) при развитии ХАП III-B категории в модели с первично интактной ПЖ и свидетельствовало о сохранении сбалансированности цитокиновых воспалительных реакций в ней ( $p < 0,05$ ).

У животных группы 2 с моделью системного стресса, напротив, более выраженные достоверные изменения цитокинового статуса отмечались на системном уровне (в плазме крови), которые заключались в одновременном повышении средних значений плазменных уровней провоспалительного ИЛ-8 на 28,5% и противовоспалительного ИЛ-10 на 21,9%, соответственно, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), что

свидетельствовало о запуске хронической воспалительной реакции системного уровня. Данные показатели при этом оказались более выраженными, чем у животных группы 1, но менее выраженными, чем у животных группы 3 ( $p < 0,05$ ). Одновременно уровни ИЛ-8 и ИЛ-10 в гомогенатах ПЖ животных группы 2 оказались на 66,7% и 32,0%, соответственно, выше, чем в контрольной группе, что также превышало аналогичные показатели группы 1 на 10,8% и 13,9% по каждому параметру, соответственно ( $p < 0,05$ ). По нашему мнению, это свидетельствовало о потенциальной возможности системной стрессовой реакции оказывать влияние на обмен цитокинов в ткани ПЖ. При этом следует отметить, что поскольку в гомогенатах ПЖ у животных группы 2 отмечалось одновременное повышение уровней провоспалительных (ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов, как и у животных группы 1 (обе группы имели исходно интактную ПЖ), то, очевидно, органный воспалительный ответ на влияние органный (группа 1) или системный (группа 2) фактора, хотя степень ее выраженности оказалась несколько выше в модели системной стрессовой реакции.

Степень и характер нарушений цитокинового обмена в крови и гомогенатах ПЖ у животных группы 3

во многом отличались от в целом однонаправленных реакций адаптации, наблюдавшихся у животных групп 1 и 2. В ответ на экспериментальную системную стрессовую реакцию у животных группы 3 с моделью ХАП средний плазменный уровень провоспалительного ИЛ-8 повышался достоверно более существенно, чем в контрольной группе и группах 1 и 2 ( $p < 0,05$ ). По сравнению с животными группы 2 прирост среднего плазменного уровня провоспалительного ИЛ-8 в группе 3 составил 75,0%, а по сравнению с животными контрольной группы – практически 180,0%, ( $p < 0,05$ ). Эти данные свидетельствовали о гиперэргическом характере системного хронического асептического воспаления, индуцированного хроническим стрессом, у животных с исходно созданной моделью ХАП. На этом фоне средний плазменный уровень противовоспалительного ИЛ-10 у животных группы 3 по сравнению с контрольной группой повышался только на 5,7%, а по сравнению с животными группы 2 даже снижался на 13,3% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о дисфункциональном (патологическом) характере хронического системного воспаления и определенном истощении системы цитокиновой защиты. Одновременно с более выраженными системными нарушениями цитокинового обмена в группе 3 выявлялись признаки более тяжелых нарушений органный цитокинового баланса. Средний уровень провоспалительного ИЛ-8 в гомогенатах ПЖ животных группы 3 достоверно увеличивался на 80% по отношению к показателю группы 1 и почти на 300,0 % (т.е., в 3 раза) по отношению к контрольной группе ( $p < 0,05$ ). На этом фоне средний уровень противовоспалительного ИЛ-10 в ткани железы не увеличивался, а, напротив, достоверно снижался на 25,5% от исходного уровня контрольной группы, на 35,7% – от уровня группы 1 и на 43,5% – от уровня группы 2 ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о развитии

**Таблица 1. Результаты раздельного изучения показателей цитокинового статуса в различных экспериментальных моделях ( $M \pm m$ ) (n=90)**

Исследуемый показатель	Группа контроля (n=30) (средний балл и доверительный интервал 0,95)	Группа 1 (n=20) (средний балл и доверительный интервал 0,95)	Группа 2 (n=20) (средний балл и доверительный интервал 0,95)	Группа 3 (n=20) (средний балл и доверительный интервал 0,95)
<b>Периферическая кровь (пг/мл)</b>				
ИЛ-8	15,8 ± 1,2 (ДИ 4,2-21,2)	16,3 ± 1,4** (ДИ 5,4-24,2)	20,3 ± 2,3* (ДИ 6,3-28,2)	45,5 ± 6,4*** (ДИ 32,9-76,3)
ИЛ-10	210,3 ± 13,3 (ДИ 145,9-254,2)	215,3 ± 2,4** (ДИ 136,2-246,2)	226,3 ± 5,4*** (ДИ 156,2-286,2)	242,5 ± 4,4*** (ДИ 143,2- 265,3)
<b>Гомогенат предстательной железы (пг/мг ткани)</b>				
ИЛ-8	12,3 ± 1,6 (ДИ 4,2- 17,8)	18,5 ± 2,2*** (ДИ 8,2-22,9)	20,5 ± 3,6*** (ДИ 10,2-26,9)	36,5 ± 6,3*** (ДИ 24,3-56,2)
ИЛ-10	24,7 ± 2,5 (ДИ 21,3-28,3)	28,6 ± 3,2** (ДИ 21,5-34,4)	32,6 ± 4,9*** (ДИ 23,5-48,4)	18,4 ± 1,6*** (ДИ 13,2-20,5)

\*- различия статистически достоверны при сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

\*\*-различия статистически достоверны при сравнении показателей групп 1, 2 и 3 между собой ( $p < 0,05$ )

в ткани ПЖ декомпенсированной локальной воспалительной реакции с дефицитом противовоспалительных цитокинов.

Результаты изучения показателей оксидативного статуса в различных экспериментальных моделях представлены в таблице 2.

Как следует из таблицы 2, здоровые животные контрольной группы в норме имеют сравнительно невысокие показатели активности ПОЛ и активности каталазы сыворотки крови и ткани ПЖ. У животных группы 1 выявлялись наименее выраженные нарушения оксидативного статуса как на органном, так и системном уровнях по сравнению с другими основными группами (2 и 3). Несмотря на наличие достоверных различий с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), мы рассматривали этот факт как проявление функциональной компенсации органной и системной антиоксидантной защиты в норме при здоровой ПЖ. У животных группы 2 в плазме крови наблюдалось достоверное повышение концентрации промежуточных и конечных продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов – в 3,4 раза, а малонового диальдегида – в 1,8 раза), а также повышение активности каталазы на 40,1% по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Животные группы 3 демонстриро-

вали лабораторные признаки существенного усиления реакций ПОЛ, которые проявлялись увеличением плазменных концентраций промежуточных и конечных продуктов ПОЛ на фоне достоверного существенного повышения каталазной активности сыворотки крови по сравнению с группой 1 (в 1,9 раза) и более существенно в сравнении с группой контроля (в 2,7 раза) ( $p < 0,05$ ). Уровень промежуточных продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов) в крови достоверно повышался в 4,3 раза по отношению к контрольной группе ( $p < 0,05$ ), а по отношению к группе 2 плазменная концентрация диеновых конъюгатов повышалась на 26,3% ( $p < 0,1$ ). При этом количество конечных продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) в плазме крови оказалось достоверно больше на 54,6% только по отношению к контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Статистически значимые различия были также выявлены при исследовании активности каталазы в гомогенатах ткани ПЖ, уровень которой в группе 3 оказался достоверно выше по сравнению как с группой контроля, так и с группами 1 и 2 (в 2 раза, 1,6 раза и 1,3 раза, соответственно;  $p < 0,05$ ). Дополнительно между плазменным и простатическим уровнями активности каталазы у животных основ-

ных групп была выявлена достоверная прямая корреляционная связь ( $r = +0,415; n = 60; p = 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение в эксперименте цитокиновых и оксидативных реакций на системном и органном уровнях в различных моделях позволило выявить их некоторые особенности. Локальное моделирование первичного ХАП III-B категории показало, что при исходно здоровой предстательной железе (группа 1) при формировании в ней хронического неинфекционного воспаления цитокиновые и оксидативные нарушения проявляются преимущественно на органном уровне, а менее выраженные при этом изменения системного цитокинового и оксидативного балансов можно трактовать как физиологически адекватные и адаптационно-защитные, а потому до определенного момента «компенсированные».

Данная модель формирования ХАП, по нашему мнению, может соответствовать ранним (доклиническим) стадиям ХАП III-B категории, когда процесс локализован преимущественно в ткани ПЖ без достоверной связи с достоверными нарушениями системного гомеостаза.

Результаты экспериментального моделирования системного стресса в группе 2 у животных также с исходно интактной ПЖ позволили сделать вывод, что системная стрессовая реакция способна, индуцируя более выраженные нарушения обмена цитокинов и реакций ПОЛ на системном уровне (в крови), одновременно быть триггером для развития аналогичных нарушений в ткани ПЖ. Это подтверждает наличие связи между системными и органными нарушениями гомеостаза при ХАП III-B категории. Однако это же моделирование показало, что исходно здоровая ПЖ в этих условиях обладает достаточным запасом прочности системы органной противовоспалительной (противоцитокиновой) и антиокси-

**Таблица 2. Результаты раздельного изучения показателей оксидативного статуса в различных экспериментальных моделях ( $M \pm m$ ) (n=90)**

Исследуемый показатель	Группа контроля (n=30) (средний балл и доверительный интервал 0,95)	Группа 1 (n=20) (средний балл и доверительный интервал 0,95)	Группа 2 (n=20) (средний балл и доверительный интервал 0,95)	Группа 3 (n=20) (средний балл и доверительный интервал 0,95)
<b>Периферическая кровь</b>				
Диеновые конъюгаты (ммоль/л)	4,5 ± 1,3 (ДИ 1,2-6,9)	6,5 ± 1,2 (ДИ 1,8-8,8)	15,2 ± 2,3* (ДИ 10,5-23,9)	19,2 ± 1,3* (ДИ 12,6-27,9)
Малоновый диальдегид (ммоль/л)	0,32 ± 0,08 (ДИ 0,12-0,39)	0,45 ± 0,03* (ДИ 0,22-0,56)	0,55 ± 0,03* (ДИ 0,45-1,23)	0,57 ± 0,05* (ДИ 0,51-0,63)
Активность каталазы (мкат/л)	48,3 ± 4,7 (ДИ 25,8-61,9)	55,3 ± 2,7**/*** (ДИ 32,8-64,9)	67,9 ± 6,3**/*** (ДИ 54,3-73,8)	132,2 ± 5,3**/*** (ДИ 65,2-156,7)
<b>Гомогенат предстательной железы (пг/мг ткани)</b>				
Диеновые конъюгаты (ммоль/л)	25,7 ± 1,2 (ДИ 12,4-35,3)	29,9 ± 0,6* (ДИ 22,4-39,3)	34,6 ± 3,2* (ДИ 19,2-43,3)	38,7 ± 2,6* (ДИ 27,4-48,9)
Малоновый диальдегид (ммоль/л)	35,3 ± 3,7 (ДИ 15,9-39,9)	42,3 ± 1,2**/*** (ДИ 21,9-41,2)	46,9 ± 2,4**/*** (ДИ 25,6-54,8)	50,3 ± 2,2**/*** (ДИ 34,9-61,2)
Активность каталазы (мкат/л)	19,2 ± 1,4 (ДИ 17,0-22,7)	24,2 ± 0,5**/*** (ДИ 20,2-29,7)	29,2 ± 2,8**/*** (ДИ 23,9-32,4)	38,6 ± 2,3**/*** (ДИ 9,5-16,9)

\*- различия статистически достоверны при сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

\*\*- различия статистически достоверны при сравнении показателей групп 1, 2 и 3 между собой ( $p < 0,05$ ).

дантной защиты, позволяющей ей адекватно и достаточно полноценно реагировать на изменения системного гомеостаза, о чем свидетельствовал адаптационно-защитный и физиологически адекватный характер протекания цитокиновых и оксидативных реакций в группе 2.

Данная модель формирования ХАП III-B категории, по нашему мнению, может отражать важную роль системных стрессовых реакций в индукции нарушений гомеостаза в ткани исходно здоровой ПЖ, которые характерны для ХАП III-B категории.

В комбинированной модели ХАП и системного стресса (группа 3) изменения цитокинового и оксидативного статусов на системном уровне (крови) имели одинаково направленный в целом компенсированный характер, как и в группах 1 и 2. Однако в гомогенатах ПЖ выявлялись признаки функциональной декомпенсации органной системы противовоспалительной и антиоксидантной защиты, что проявлялось дефицитом противовоспалительного цитокина ИЛ-10 по отношению к провоспалительному цитокину ИЛ-8, а также наибольшим (в сравнении во всеми группами) повышением активности каталазы ПЖ. Таких органных гомеостатических сдвигов ни в одной из групп исследования выявлено не было. Эти находки позволили сделать вывод, что исходно нездоровая ПЖ менее устойчива к воздействию системного стресса, который способен дополнительно усугубить метаболизм железа. При этом «физиологичность» протекания органных цитокиновых и оксидативных реакций, наблюдавшаяся в двух экспериментальных мономоделях (ХАП и системный стресс по отдельности группы 1 и 2, соответ-

ственно, исчезала, и ранее физиологические реакции приобретали уже характер патологических, деструктивно ориентированных и функционально избыточных (в частности, резкое повышение каталазной активности в группе 3), которые в свою очередь способны привести к дополнительной альтерации органа.

Данная комбинированная модель, по нашему мнению, может отражать естественное течение ХАП III-B категории в клинической практике, в рамках которой всегда имеет место тесное взаимодействие различных системных и органных факторов, поддерживающих и вызывающих прогрессирование основного заболевания.

Полученные результаты различных экспериментальных моделей позволяют также предложить некоторые новые лабораторные маркеры ХАП III-B категории. По нашим данным, ими могут быть сниженный уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и повышенный уровень активности каталазы секрета ПЖ, которые отражают степень декомпенсации органных нарушений при ХАП и могут применяться как первичные диагностические тесты и тесты мониторинга эффективности его терапии.

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование продемонстрировало наличие патогенетических связей между системными и органными нарушениями гомеостаза при ХАП III-B категории, что крайне важно для понимания сущности заболевания и разработки новых методов его фармакотерапии, ориентированной на коррекцию как системных, так и органных (простатических) нарушений гомеостаза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патогенез ХАП III-B категории до сих пор остается не до конца понятным, поэтому, оставаясь своеобразной «темной лошадкой» современной урологии, данная форма хронических воспалительных неинфекционных заболеваний характеризуется неудовлетворительными результатами фармакотерапии, для улучшения которой необходимо изменить концепцию нашего восприятия данной нозологии. Результаты проведенного экспериментального исследования позволяют подтвердить уже имеющиеся в научной литературе многочисленные данные о том, что ХАП III-B категории, клинически протекая как преимущественно локальная патология ПЖ, на самом деле должен рассматриваться как заболевание с системными патогенетическими механизмами. Между органными и системными нарушениями гомеостаза, выявляемыми при ХАП III-B категории, существует не только тесное взаимодействие, но и взаимное отягощение, что делает это заболевание нередко резистентным в отношении традиционной локальной (простатотропной) фармакотерапии. Очевидно, прорыв в терапии ХАП III-B категории и улучшение качества жизни пациентов может быть достигнут только с позиций междисциплинарности и мультифакторности его патогенеза, что делает необходимым и целесообразным разработку и внедрение в клиническую практику новых комплексных и комбинированных методов его фармакотерапии, ориентированной на патогенетическую коррекцию как системных, так и органных (простатических) нарушений гомеостаза. ■

**Ключевые слова:** хронический абактериальный простатит (ХАП) III-B, цитокины, стресс, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, каталаза, патогенез, взаимосвязь, системный уровень, органный уровень.

**Key words:** chronic abacterial prostatitis (CAP) III-B, cytokines, stress, diene conjugates, malonic dialdehyde, catalase, pathogenesis, interrelation, systemic level, organ level.

**Резюме:**

**Цель исследования:** изучить, сравнить между собой и выявить возможные взаимосвязи между нарушениями гомеостаза системного (в крови) и органного (в ткани предстательной железы) характера в различных экспериментальных моделях хронического абактериального простатита (ХАП) III-B.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовано 90 беспородных половозрелых здоровых самцов белых крыс массой тела 180-200 граммов, которые были разделены на 4 группы: контрольная группа (n=30) и 3 основные группы экспериментального моделирования (группа 1 (n=20) – животные с экспериментальной моделью ХАП; группа 2 (n=20) – животные с экспериментальной моделью системного стресса; группа 3 (n=20) – животные с комбинированной экспериментальной моделью ХАП и системного стресса. У всех животных исследовались периферическая кровь (системный уровень) и гомогенат ткани предстательной железы (органый уровень), в которых изучались идентичные гомеостатические показатели цитокинового обмена (ИЛ-8 и ИЛ-10) и оксидативного статуса (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, активность каталазы), показатели контрольной группы были приняты за условную норму.

**Результаты.** В модели ХАП показано, что наиболее существенные сдвиги по изучаемым параметрам гомеостаза наблюдались в гомогенате предстательной железы и в меньшей степени в системном кровотоке ( $p < 0,05$ ). Эти находки могут отражать ранние, начальные (доклинические) стадии ХАП III-B. В модели системного стресса при исходно интактной предстательной железе показана способность системной стрессовой реакции запускать нарушения цитокинового и оксидативного характера не только в системном кровотоке, но и в гомогенатах предстательной железы. Данные находки позволяли расценивать системный стресс как возможный патогенетический системный фактор ХАП III-B. Комбинированная модель продемонстрировала наличие достоверных связей между системными и органными нарушениями цитокинового и оксидативного гомеостаза, которые склонны не только к взаимодействию, но и взаимному отягощению.

**Выводы.** Хронический абактериальный простатит III-B может рассматриваться как локальная патология предстательной железы со смешанным мультифакторным патогенезом, опосредуемым взаимодействием и взаимным отягощением системных и органных гомеостатических нарушений. С учетом результатов экспериментального исследования с целью улучшения результатов лечения ХАП III-B необходимо развить патогенетическую комплексную фармакотерапию, направленную одновременно на коррекцию всех гомеостатических нарушений, как на органном, так и на системном уровнях.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Summary:**

**Interaction of systemic and local homeostasis disturbances in patients with chronic abacterial prostatitis III-B (Experimental study).**

I.S. Shormanov, I.I. Mozhaev, Ch.A. Sokolova, A.I. Ryzhkov, N.S. Shormanova

**Aim** is to study, compare and identify the possible interrelations between the homeostasis disorders of the systemic (blood) and organ (in the prostate gland) levels in various experimental models of chronic abacterial prostatitis (CAP) III-B.

**Material and methods.** In the experiment 90 random adult healthy male rats weighing 180-200 grams were used, which were divided into 4 groups: control group (n = 30) and 3 basic groups of experimental modeling (group 1 (n = 20) – animals with experimental model of CAP, group 2 (n = 20) – animals with experimental model of systemic stress, group 3 (n = 20) – animals with combined experimental model of CAP and system stress. Peripheral blood (systemic level) and tissue homogenate (organ level) in which identical homeostatic indices of cytokine metabolism (IL-8 and IL-10) and oxidative status (diene conjugates, malonic dialdehyde, catalase activity) were studied at all animals, and the parameters of the control group were taken as the conditional norm.

**Results.** In the CAP model it was shown that the most significant shifts in the studied homeostatic parameters were observed in the homogenate of the prostate gland and to a lesser extent in the systemic blood flow ( $p < 0.05$ ). These findings can reflect the early, initial (pre-clinical) stages of CAP III-B. In the model of systemic stress with initially intact prostate, the ability of a systemic stress reaction to trigger cytokine and oxidative disorders not only in the systemic blood stream but also in the homogenates of the prostate gland is shown. These findings allowed us to regard systemic stress as a possible pathogenetic systemic factor of CAP III-B. The combined model demonstrated the presence of reliable links between systemic and organ disorders of cytokine and oxidative homeostasis, which are prone not only to interaction, but also to mutual burdening.

**Conclusions.** Chronic abacterial prostatitis III-B can be considered as a local pathology of the prostate with mixed multifactorial pathogenesis, mediated by interaction and mutual burdening of systemic and organ homeostatic disorders. Taking into account the results of the experimental study in order to improve the results of treatment of CAP III-B, it is necessary to develop pathogenetic complex pharmacotherapy, directed simultaneously at the correction of all homeostatic disorders, both at the organ and systemic levels.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Pavone-Macaluso M. Chronic prostatitis Syndrome: a common, but poorly understood condition. Part II. *Eur Urol Suppl* 2007;5(1):16-25
2. Pontari M. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain: the disease. *J Urol* 2009;182(1):19-20. doi: 10.1016/j.juro.2009.04.053
3. Кульчавеня Е.В., Холтобин Д.П., Шевченко С.Ю., Потапов В.В., Зулин В.В. Частота хронического простатита в структуре амбулаторного урологического приема. *Экспериментальная и клиническая урология* 2015;(1):16-18.
4. Доста Н.И., Севостьянов Н.С. Простатит: современные аспекты этиопатогенеза, диагностики и лечения. *Рецепт* 2014; 93(1):124-130.
5. Cohen JM, Fagin AP, Hariton E, Niska JR, Pierce MW, Kuriyama A, et al. Therapeutic intervention for chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS): a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012;7(8):e41941. doi: 10.1371/journal.pone.0041941
6. Engeler D, Baranowski AP, Borovicka J, Cottrell A, Dinis-Oliveira P, Elneil S, et al. Guidelines on Chronic Pelvic Pain. *EAU*, 2014. 132 p. URL: [https://uroweb.org/wp-content/uploads/26-Chronic-Pelvic-Pain\\_LR.pdf](https://uroweb.org/wp-content/uploads/26-Chronic-Pelvic-Pain_LR.pdf)
7. Белоусов И.И. Диагностика и лечение невоспалительной формы хронического абактериального простатита: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ростов-на-Дону: 2014. 47 с.
8. Сивков А.В., Ромих В.В., Захарченко А.В. Хронический простатит категории III-B/синдром хронической тазовой боли и сексуальные дисфункции. *Андрология и генитальная хирургия* 2015;(4): 18-26.
9. Тюзиков И.А., Иванов А.П. Абактериальный синдром хронической тазовой боли у мужчин как мультидисциплинарная проблема. *Фундаментальные исследования* 2012;(1):121-124.
10. Тюзиков И.А. Взаимосвязь системных факторов в патогенезе синдрома хронической тазовой боли у мужчин. *Урология* 2012;(6):48-51.
11. Nickel JC, Weidner W. Chronic prostatitis: current concepts and antimicrobial therapy. *Infect. Urol* 2000;13(5a): 22-28.
12. Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956 Jul;11(3):298-300
13. Менщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. М. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Фирма "Слово", 2006, 556 с.

14. Дорощев С.Д., Кудрявцев Ю.В., Кудрявцева Л.В. Иммуногистохимические аспекты хронического абактериального простатита. *Эффективная фармакотерапия* 2014;2:26-38.
15. Серегин, С.П. Пути повышения эффективности патогенетически обоснованного лечения хронического простатита: дис. ... д-ра. мед.наук. Челябинск, 1997. 190 с.
16. Новиков А. В., Серегин С. П., Шестаков С. Г., Шатохин М. Н. Антиоксидантный статус и состояние местного иммунитета у больных хроническим простатитом. *Курский, научно-практический вестник "Человек и его здоровье"* 2001; 2: 50-53.
17. Леонтьев И.Г. Перекисное окисление липидов и содержание катионных белков при лечении хронического уретрогенного простатита лазеромангнитоэлектростимуляцией: автореф. дис. ... канд.мед.наук. Тюмень, 2006. 22 с.
18. Huang S, Fang X, Meng Y, Chen Y, Zhang X, Zhao S. Sympathetic nervous system overactivity in the Wistar rat with proliferative lesions of ventral prostate induced by chronic stress. *Urol Int* 2009;83(2):230-5. doi: 10.1159/000230030
19. Schwartz ES, Xie A, La JH, Gebhart GF. Nociceptive and inflammatory mediator upregulation in a mouse model of chronic prostatitis. *Pain* 2015;156(8):1537-44. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000201
20. Jang TL, Schaeffer AJ. The role of cytokines in prostatitis. *World J Urol* 2003;21(2):95-99.
21. Тюзиков И.А., Мартов А.Г., Иванов А.П. Влияние острого операционного стресса на обмен биогенных аминов в предстательной железе и стероидогенез (экспериментальное исследование). *Урология* 2012;(4):33-36.
22. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. [Под ред. Фисенко В.П.] М.: МЗ РФ, 2000. 398 с.
23. Алешин Б.В., Бондаренко Л.А., Бреславский А.С. Функциональные и структурные изменения коры надпочечников у кроликов в условиях хронического воспаления предстательной железы. *Бюллетень экспериментальной биологии* 1977;83(3): 276-277.
24. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. М.: Спецлит, 2010. 94 с.
25. Методы биохимических исследований. [Под ред. Прохорова М.И.]. Л.: Медицина, 1982. 272 с.
26. Коломейцева И.А. Изменение структуры сна при разных сроках стрессирования. *Экспериментальные неврозы и их фармакологическая терапия*. М.: Наука, 1988; С. 53-60
27. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. М.: ГЭОТАР-Медицина, 2002. 736 с.
28. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорова И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2000. 430 с.
29. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот. В кн.: *Современные методы в биохимии*. М.: Медицина, 1977; 63-64.
30. Стальная И.Д., Гаришвилли Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: *Современные методы в биохимии*. М.: Медицина, 1977; 66-68.
31. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело* 1988;(1):16-19.
32. Киселёва Р.Е., Альба Н.В., Баршанова Г.С. Практикум по патобиохимии. Учебное пособие для студентов заочного отделения. Саранск, 1998.
33. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с.

REFERENCES (3, 4, 7-10, 13-17, 21-33)

3. Kulchavenya E.V., Holtobin D.P., Shevchenko S.Yu., Potapov V.V., Zulin V.V. Chastota hronicheskogo prostatita v strukture ambulatornogo urologicheskogo priema. [The frequency of the chronic prostatitis in the outpatient practice]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2015;(1):16-18. (In Russian)
- 4 Dosta N.I. Sevostyanov N.S. Prostatit: sovremennyye aspekty etiopatogeneza, diagnostiki i lecheniya. [Prostatitis: modern aspects of etiology and pathogenesis, diagnosis and treatment]. *Retsept* 2014; 93(1):124-130. (In Russian)
7. Belousov I.I. Diagnostika i lechenie nevospalitelnoy formy hronicheskogo abakterialnogo prostatita [Diagnosis and treatment of non-inflammatory form of chronic abacterial prostatitis]. *Dr. Med. Sci. (thesis)*. Rostov-na-Donu: 2014. 47 p. (In Russian)
8. Sivkov A.V., Romih V.V., Zaharchenko A.V. Hronicheskii prostatit kategorii IIIB/sindrom hronicheskoy tazovoy boli i seksualnyie disfunktsii. [Chronic prostatitis of category IIIB / chronic pelvic pain syndrome and sexual dysfunctions]. *Andrologiya i genitalnaya hirurgiya* 2015;(4): 18-26. (In Russian)
9. Tyuzikov I.A., Ivanov A.P. Abakterialnyy sindrom hronicheskoy tazovoy boli u muzhchin kak multidistsiplinarnaya problema. [Abacterial chronic pelvic pain syndrome at men as multidisciplinary problem]. *Fundamentalnyie issledovaniya* 2012;(1):121-124. (In Russian)
10. Tyuzikov I.A. Vzaimosvyaz sistemnyih faktorov v patogeneze sindroma hronicheskoy tazovoy boli u muzhchin. [Relationship of systemic factors in the pathogenesis of chronic pelvic pain syndrome in men]. *Urologiya* 2012;(6):48-51. (In Russian)
13. Menschikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K., Bondar I.A., Krugovyyih N.F., Trufakin V.A. M. Okislitelnyy stress. *Prooksidanty i antioksidanty*. Firma "Slovo", 2006, 556 p. (In Russian)
14. Dorofeev S.D., Kudryavtsev Yu.V., Kudryavtseva L.V. Immunogistohimicheskie aspekty hronicheskogo abakterialnogo prostatita. [Immunohistochemistry of chronic abacterial prostatitis]. *Effektivnaya farmakoterapiya* 2014;2:26-38. (In Russian)
15. Seregin, S.P. Puti povysheniya effektivnosti patogeneticheski obosnovannogo lecheniya hronicheskogo prostatita. [Ways of increasing the effectiveness of pathogenetically substantiated treatment of chronic prostatitis]: *Dr. med.nauk. (Dissertation)* Chelyabinsk, 1997. 190 p. (In Russian)
16. Novikov A. V., Seregin S. P., Shestakov S. G., Shatohin M. N. Antioksidantnyy status i sostoyanie mestnogo immuniteta u bolnyih hronicheskim prostatitom. [Antioxidant status and state of local immunity in patients with chronic prostatitis]. *Kurskiy, nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorove"* 2001; 2: 50-53. (In Russian)
17. Leontev I.G. Perekisnoe okislenie lipidov i sodержание kationnyih belkov pri lechenii hronicheskogo uretrogennoho prostatita lazeromagnitoelektrostimulyatsiyey. [Peroxide oxidation of lipids and the content of cationic proteins in the treatment of chronic urethrogenic prostatitis by laser magneto-electrostimulation]. *Cand.med.nauk. (thesis)*. Tyumen, 2006. 22 p. (In Russian)
21. Tyuzikov I.A., Martov A.G., Ivanov A.P. Vliyanie ostrogo operatsionnogo stressa na obmen biogennyih aminov v predstatelnoy zheleze i steroidogenez (eksperimentalnoe issledovanie). [Effect of acute operational stress on the exchange of biogenic amines in prostate gland and steroidogenesis (experimental study)] *Urologiya* 2012;(4):33-36. (In Russian)
22. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyih farmakologicheskikh veshchestv. [Editor Fisenko V.P.] M.: MZ RF, 2000. 398 p. (In Russian)
23. Aleshin B.V., Bondarenko L.A., Breslavskiy A.S. Funktsionalnyie i strukturnyye izmeneniya kory nadpochechnikov u krolikov v usloviyah hronicheskogo vospaleniya predstatelnoy zhelezy. [Functional and structural changes in the adrenal cortex of rabbits in conditions of chronic inflammation of the prostate]. *Byulleten eksperimentalnoy biologii* 1977;83(3): 276-277. (In Russian)
24. Korzhevskiy D.E., Gilyarov A.V. Osnovy gistologicheskoy tehniki. M.: Spetslit, 2010. 94 p. (In Russian)
25. Metody biokhimicheskikh issledovaniy. [Editor Prohorova M.I.]. L.: Meditsina, 1982. 272 p. (In Russian)
26. Kolomeytseva I.A. Izmenenie strukturyi sna pri raznyih srokah stressirovaniya. *Экспериментальные неврозы и их фармакологическая терапия*. М.: Наука, 1988; P. 53-60. (In Russian)
27. Borisov L.B. Meditsinskaya mikrobiologiya, virusologiya, immunologiya. M.: GEOTAR-Meditsina, 2002. 736 p. (In Russian)
28. Haitov R.M., Ignateva G.A., Sidorova I.G. Immunologiya. M.: Meditsina, 2000. 430 p. (In Russian)
29. Stalnaya I.D. Metod opredeleniya dienovoy kon'yugatsii nenasyischennyih vyisshih zhirnyih kislot. V kn.: *Sovremennyye metody v biokhimii*. M.: Meditsina, 1977; 63-64. (In Russian)
30. Stalnaya I.D., Garishvilli T.G. Metod opredeleniya malonovogo dialdegidu s pomoshchyu tiobarbiturovoy kisloty. V kn.: *Sovremennyye metody v biokhimii*. M.: Meditsina, 1977; 66-68. (In Russian)
31. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokareva V.E. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. *Laboratornoe delo* 1988;(1):16-19. (In Russian)
32. Kiselyova R.E., Alba N.V., Barshanova G.S. Praktikum po patobiokhimii. *Учебное пособие для студентов заочного отделения*. Саранск, 1998. (In Russian)
33. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. (Transl. from Eng). M.: Praktika, 1998. 459 p. (In Russian)