

УДК 602.68:57.083

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФАНТОМНЫХ БОЛЕЙ

© 2024 г. М. А. Мягкова<sup>1</sup>, З. В. Боброва<sup>1</sup>, С. Н. Петроченко<sup>1, \*</sup>, А. С. Крылов<sup>2</sup>, И. А. Мосейкин<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологически активных веществ Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка, Московская обл., Россия

<sup>2</sup>ООО «ДИАНАРК», Москва, Россия

<sup>3</sup>Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва, Россия

\*E-mail: dianark777@mail.ru

Поступила в редакцию 04.04.2024 г.

После доработки 30.07.2024 г.

Принята к публикации 28.08.2024 г.

Проведено сравнительное определение иммунологических показателей, естественных антител (е-Ат) к регуляторам основных систем биохимического гомеостаза:  $\beta$ -эндорфину, серотонину, дофамину, гистамину, орфанину, ангиотензину, ГАМК, глутамату, брадикинину, вазопрессину, тромбину,  $\alpha 2$ -макроглобулину у лиц с фантомным болевым синдромом (ФБС), полученным при ампутации после ранения. В соответствии с установленным диагнозом обследована группа из 14 чел., для которых выявлены особенности распределения иммунологических показателей. Для каждого обследованного пациента определен индивидуальный иммунопрофиль специфических е-Ат. Для всех участников исследования установлено достоверное увеличение уровня антител к серотонину, гистамину и ангиотензину, отражающих степень проявления ФБС, которое не зависит от самооценки обследуемого лица. Определение роли регуляторов биохимического гомеостаза в развитии фантомных болей показало, что при высокой, умеренной и слабой степени выраженности ФБС активированы системы биогенных аминов и ангиотензинэргическая. Снижение интенсивности ФБС нормализует отклонения всех иммунологических показателей. Уровень е-Ат для болевой ( $\beta$ -эндорфин) и противоболевой (орфанин) систем значимы только при низком ФБС. Мониторинг индивидуального профиля е-Ат к эндогенным регуляторам позволяет получить объективную картину болевого статуса организма пациента. Выраженность боли, оцененная по различным шкалам, может не иметь связи со степенью дисбаланса этих систем, с нейрофизиологическими и другими характеристиками проявления боли.

*Ключевые слова:* естественные антитела к эндогенным регуляторам, иммуноферментный анализ, фантомная боль, оценка болевого синдрома, визуально-аналоговая шкала.

DOI: 10.31857/S0131164624060073 EDN: AFVKGW

Синдром фантома с болью относится к одному из самых сложных хронических болевых синдромов, с трудом поддающемуся терапии. По данным исследований, фантомные боли возникают у 50–80% пациентов после ампутации конечностей [1–3]. Понимание механизмов развития фантомного болевого синдрома (ФБС) постоянно трансформируется. Предположение о главенствующей роли невринома, образующихся на концах пересеченных нервов, не оправдалось, поскольку их удаление не оказывало существенного лечебного эффекта. Следующая теория, предполагающая ответственными за генерацию болевых импульсов спинальные нервы, была опровергнута безрезультатно операциями по перерезке указанных нервных стволов [4, 5]. Сложности лечения обуславливают высокую

актуальность создания новых способов объективной диагностики и профилактики фантомов. Это позволит отслеживать динамику болевого синдрома, эффективность лечебного процесса. В настоящее время существующие методы оценки болевых ощущений подразделяют на “субъективные” (различные опросники), “субъективно-объективные” (алгометрия) и “объективные”. Это – электрофизиологические методы, “визуализация” боли с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ), биохимические методы [6]. ФБС имеет хроническое продолжительное течение, является следствием нарушений механизмов поддержания гомеостаза организма, который на молекулярном уровне характеризуется состоянием системы эндогенных биорегуляторов (ЭБ), обеспечивающих

биохимическое равновесие [7]. Этот процесс сопровождается нейроиммунным взаимодействием, основанным на связи механизмов регуляции болевой чувствительности, и работой иммунокомпетентных клеток организма [7–9]. В последнее десятилетие накоплен значительный фактический материал, который убедительно свидетельствует о существенной роли иммунологических механизмов в развитии болевых синдромов [10]. Изменение иммунологических показателей, специфических естественных антител к ряду эндогенных биорегуляторов (ЭБ) происходит при дорсалгиях различного генеза [11]. В настоящее время разработаны аналитические методы измерения уровня естественных антител (e-Ат), характеризующих состояние системы эндогенных биорегуляторов, участвующих в молекулярных механизмах, которые обеспечивают биохимическое гомеостатическое равновесие [7]. Совокупность e-Ат отражает и регулирует индивидуальный молекулярно-клеточный состав организма. Их содержание находится в прямой зависимости от уровня эндогенных мишеней. Установлено, что свойства указанных иммунологических маркеров претерпевают изменения в качественном и количественном отношении, на самых ранних стадиях возникновения заболевания [7, 12, 13]. Определение факторов нейрогуморальной регуляции, участвующих в передаче болевого сигнала, является перспективной основой для разработки диагностического метода объективизации боли.

Цель работы заключалась в определении иммунологических маркеров – уровня естественных антител к регуляторам основных биохимических систем, включая торможение и возбуждение, опиатной и антиопиатной, биогенных аминов, ренин-ангиотензиновой, белкам гемостаза в сыворотке крови лиц, страдающих фантомным болевым синдромом, полученным при хирургической ампутации после минно-взрывного ранения установлении прогностической роли данных показателей в объективизации болевого статуса пациента.

## МЕТОДИКА

Настоящая работа была выполнена на базе клинико-диагностической лаборатории “ДИАНАРК” г. Москвы (лицензия № ЛО41-01137-77/00369646 от 09.12.2014 г). Материалы для исследования предоставлены госпиталем ФГБУ “НМИЦ ВМТ им. А. А. Вишневого” МО России (г. Красногорск). Было проведено обследование 14 пациентов-военнослужащих в возрасте от 29 до 37 лет (средний возраст  $32.0 \pm 0.7$  года), проходивших лечение после полученного в результате боевых действий минно-взрывного ранения (6–8 мес. назад), приведшего к ампутации конечности. В последующем проведенная хирургическая операция вызвала у пациентов развитие фантомных болей различной

степени тяжести. В данный момент пациенты находятся на стадии подготовки к протезированию. Оценку степени болевого синдрома, проводили по визуально-аналоговой шкале ВАШ, с учетом субъективных данных обследованных пациентов [6]. На отрезке прямой с 10 делениями больные отмечали интенсивность боли. Ноль соответствовал полному отсутствию боли, слабая боль – 0–2 балла, умеренная боль – 2.1–4 балла, сильная боль – 4.1–6 баллов, сильнейшая боль – 6.1–8 баллов, невыносимая боль – 8.1–10 баллов.

Забор образцов крови для анализа (5 мл) осуществляли у всех пациентов при поступлении в стационар на госпитализацию. Для получения сыворотки пробирки с образцами центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об./мин (центрифуга *Centrifuge CM-6M, ELMILtd*, Латвия). Далее образцы крови хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до момента тестирования. Для сравнения показателей использовали группу контроля из 14 здоровых человек, не испытывающих симптомы болевого синдрома, одинакового возраста с обследуемыми участниками эксперимента. При проведении иммунохимических исследований применяли твердофазный метод иммуноферментного анализа (ИФА) определения антител к регуляторам основных систем биохимического гомеостаза ( $\beta$ -эндорфину, серотонину, дофамину, гистамину, орфанину, ангиотензину, ГАМК, глутамату, брадикинину, вазопрессину, тромбину,  $\alpha 2$ -макроглобулину) в сыворотке крови человека. Метод включает следующие этапы: иммобилизацию комплекса синтетического антигена, состоящего из конъюгата производного указанного выше гаптена с полимерным носителем на полистирольном планшете (*Nunc*, Дания); последующее связывание полученного антигена со специфическими антителами анализируемого образца; выявление образовавшегося иммунного комплекса с помощью антивидовых антител, меченных пероксидазой хрена; измерение ферментативной активности в образовавшемся иммунном комплексе. Для проведения ИФА использовали “Набор реагентов для иммуноферментного определения антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови “АДИМУСТАТ®” (РУ № РЗН 2022/19268, “ДИАНАРК”, Россия). Синтез конъюгированных антигенов и условия проведения анализа выполнены в соответствии с разработанной нами ранее схемой [14].

Статистическую обработку результатов выполняли с применением пакета программ *SPSS 19.0* для научных исследований. Для оценки результатов выбрали значение величины средней арифметической ( $M$ ), стандартной ошибки ( $m$ ). Использовали при обработке данных критерии Пирсона, Стьюдента–Уэлча ( $t$ ). Гипотезы принимали с достоверностью 95% ( $p = 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено определение иммунологических показателей, отражающих функциональное состояние регуляторов биохимического гомеостаза, в группе обследованных пациентов-военнослужащих, находящихся на лечении после полученного минно-взрывного ранения, приведшего к ампутации конечности. Выбранные для анализа эндогенные молекулы являются универсальными маркерами психофизиологического здоровья человека, а отклонение их уровня от нормы может свидетельствовать о текущем состоянии и рисках начала заболевания.

Установлено, что изменение уровней специфических антител к эндогенным регуляторам ( $\beta$ -эндорфину, серотонину, дофамину, гистамину, орфанину, ангиотензину, ГАМК, глутамату, брадикинину, вазопрессину, тромбину,  $\alpha$ 2-макроглобулину) является индивидуальным, и каждый пациент обладает характерным иммунопрофилем (табл. 1).

В механизмах развития боли участвуют медиаторные системы моноаминовой природы [15, 16]. Так, для всех обследованных лиц отмечено достоверное увеличение уровня е-Ат к серотонину. В случае гистамина исключением являются результаты анализа пациентов № 7, 13 и 14, для которых отмечена лишь тенденция к повышению. Показатель

**Таблица 1.** Результаты иммуноферментного анализа (ИФА) определения уровня естественных антител (е-Ат) в группе обследованных пациентов

Пациент № п/п	Показатели уровня естественных антител (ОП <sub>450</sub> ИФА) в сыворотке крови обследуемых пациентов											
	$\beta$ -эндорфин	Серотонин	Дофамин	Гистамин	Орфанин	Ангиотензин II	ГАМК	Глутамат	Брадикинин	Вазопрессин	Тромбин	$\alpha$ 2-макроглоб
№ 1	0.87	1.38**	0.98*	0.97*	1.23**	1.15*	0.97	1.02	0.97	0.89	0.97	0.89
№ 2	0.87	1.46**	1.12*	1.05*	1.13*	1.25*	1.22*	1.25*	0.81	0.92	1.09*	0.85
№ 3	1.28**	1.93**	1.64**	1.31**	1.45**	1.64*	1.43*	1.46*	1.55*	1.48*	1.61**	1.38*
№ 4	0.91*	1.45**	1.09*	1.11*	0.97	1.23*	1.14*	1.17*	0.92	0.89	1.01*	0.87
№ 5	0.88	1.74**	1.38**	1.37**	1.52**	1.41*	1.51**	1.62*	0.99	1.02*	1.09*	0.89
№ 6	1.81**	2.31**	1.89**	2.11**	1.89*	2.29*	2.22*	1.99**	1.02*	1.15*	1.07*	1.21**
№ 7	0.61	1.11*	0.89	0.69	0.65	0.78	0.85	0.91	0.73	0.78	0.86	0.74
№ 8	0.75	1.16*	0.89	0.97*	0.96	1.02*	0.96	0.96	0.81	0.87	0.91	0.88
№ 9	0.91*	1.42**	0.96	1.18*	0.86	0.95*	0.98	1.07	0.93	0.95	0.97	0.91
№ 10	0.48	0.64	0.71	0.73	0.66	0.66	0.91	0.73	0.68	0.81	0.91	0.73
№ 11	0.91*	1.69**	1.53**	1.09**	1.14**	1.79**	1.21**	1.31**	0.87	0.93	0.97	0.94
№ 12	0.79	1.49**	1.14**	0.99*	0.91	1.16**	0.61	0.93	0.89	0.78	0.93	0.75
№ 13	0.61	1.21**	0.96	0.89	0.79	1.01**	0.81	0.81	0.77	0.91	0.94	0.79
№ 14	0.66	1.01**	0.95	0.76	0.82	1.23**	0.86	0.93	0.98	1.01**	0.99	0.93
Группа контроля, n = 10	0.59 ± 0.17	0.77 ± 0.18	0.79 ± 0.15	0.62 ± 0.16	0.84 ± 0.14	0.62 ± 0.18	0.91 ± 0.15	0.92 ± 0.16	0.71 ± 0.15	0.72 ± 0.17	0.81 ± 0.13	0.69 ± 0.18

Примечание: ОП – оптическая плотность. \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$  по отношению к норме.

e-Ат к дофамину увеличен только для пациентов № 1–6, 11 и 12, а для остальных лиц изменения не достоверны.

Ряд эндогенных биорегуляторов, такие как пептиды орфанин и  $\beta$ -эндорфин, связаны с передачей болевого сигнала и относятся к опиоцептивной (НЦС) и антиопиоцептивной (АНЦС) системам [17]. У пациентов обследованной группы отмечено достоверное повышение уровня e-Ат к орфанину для лиц группы № 1–6 и 11, а для показателя e-Ат к  $\beta$ -эндорфину достоверное увеличение наблюдали лишь у пациентов № 3, 4, 6, 9 и 11.

Для половины пациентов обследуемой группы № 2–6 и 11 обнаружено увеличение значений показателей e-Ат тормозных и возбуждающих медиаторов (ГАМК и глутамат), которые влияют на проводимость болевого импульса и обеспечивают энергетический ресурс организма. Учитывая

тесную связь биохимических превращений указанных веществ при метаболизме, положительным является факт сбалансированного одновременного изменения этих показателей.

Проведенный анализ иммунологических показателей для пептидов ренин-ангиотензиновой системы позволил установить наиболее значимые изменения для уровня e-Ат к ангиотензину для всех обследованных лиц за исключением пациента № 7. Эндогенный регулятор ангиотензин может модулировать восприятия боли, за счет изменения стенки сосудов. В случае брадикинина, являющегося одним из медиаторов боли и воспаления, достоверное увеличение e-Ат наблюдали для пациентов № 3 и 6. Для показателей e-Ат к вазопрессину получены результаты аналогичные для e-Ат к брадикинину, которые лишь дополняют пациенты № 5 и 14. Для белков регуляторов гемостаза

**Таблица 2.** Сравнение показателей шкалы ВАШ с результатами иммуноферментного анализа (ИФА) в обследованной группе пациентов

Пациент № п/п	Показатель ВАШ (бал)	Иммунологический показатель (отклонения в %)							
		Дофамин	Серотонин	Гистамин	$\beta$ -эндорфин	ГАМК	Глутамат	Ангиотензин II	Орфанин
№ 1	6.1–8	13.9↑	55.1↑	40.6↑	29.8↑	N	4.1↑	61.9↑	32.3↑
№ 2	0–2	30.2↑	64.0↑	52.2↑	29.8↑	23.2↑	27.5↑	76.1↑	21.5↑
№ 3	0–2	90.7↑	116.8↑	89.9↑	91.0↑	44.4↑	48.9↑	130.9↑	55.9↑
№ 4	2.1–4	26.7↑	62.9↑	60.9↑	35.8↑	15.1↑	19.4↑	73.2↑	4.31↑
№ 5	2.1–4	60.5↑	95.5↑	98.5↑	31.3↑	52.5↑	65.3↑	98.6↑	63.4↑
№ 6	0–2	119.8↑	159.5↑	205.8↑	170.1↑	124.2↑	103.1↑	222.5↑	103.2↑
№ 7	2.1–4	3.5↑	24.7↑	N	N	N	N	9.1↑	14.6↓
№ 8	4.1–6	4.5↓	6.0↓	10.3↑	8.0↓	7.3↓	8.3↓	4.9↓	7.3 ↓
№ 9	0–2	11.4↑	59.5↑	71.0↑	35.8↑	N	9.2↑	33.8↑	N
№ 10	2.1–4	2.74↑	14.67↓	5.8↑	9.43↓	N	12.05↓	N	13.16↓
№ 11	0–2	77.91↑	89.89↑	57.97↑	35.82↑	22.22↑	33.67	152.11↑	22.58↑
№ 12	6.1–8	32.56↑	67.42↑	43.48↑	17.91↑	28.24↓	N	63.38↑	N
№ 13	2.1–4	11.63↑	35.96↑	28.99↑	N	N	N	42.25↑	N
№ 14	2.1–4	10.47↑	13.48↑	N	N	N	N	73.24↑	N

*Примечание:* ↑ – увеличение показателя при сравнении со значениями контроля; ↓ – снижение показателя при сравнении со значениями контроля. N – не отличается от нормы.

отмечено повышение уровня е-Ат в случае тромбина у пациентов № 2-6, а в случае  $\alpha 2$ -магглобулина – № 3 и 6.

Таким образом, на данном этапе исследования для оценки “болевого статуса” пациентов наиболее информативными являются результаты ИФА определения следующих иммунологических показателей – е-Ат к: дофамину, серотонину, гистамину,  $\beta$ -эндорфину, ГАМК, глутамату, ангиотензину II, орфанину.

Для оценки интенсивности выраженности боли провели сравнительный анализ уровня е-Ат и показателей шкалы самооценки ВАШ.

Иммунологические показатели для исследуемых е-Ат рассчитаны в процентах, и представлены как разница отклонения значений оптической плотности (ОП) в ИФА от контрольных величин у каждого обследованного пациента. Показатели шкалы ВАШ выражены в баллах (табл. 2).

Согласно шкале самооценки, для обследованных лиц зарегистрирован различный уровень чувствительности к фантомной боли. У пациентов № 1 и 12 отмечена сильнейшая боль, далее пациенты № 4, 5, 7, 10, 13, 14 характеризовались показателем умеренной боли, а для пациента № 8 отмечена сильная боль, оставшиеся пациенты № 2, 3, 6, 9, 11 имели слабую боль или ее отсутствие.

Анализ представленных в табл. 2 данных показал, что для пациентов № 1 и 10 с высоким уровнем ФБС наиболее значимыми являются показатели для е-Ат к серотонину и ангиотензину. При снижении проявления ФБС (пациент № 8) отмечается небольшое по сравнению с нормой понижение колебаний по всем исследуемым иммунологическим показателям. Для пациентов № 4, 5, 7, 10, 13, 14, имеющих умеренный ФБС, установлено, что показатели е-Ат могут быть либо одновременно повышены для моноаминовой (серотонин, гистамин, дофамин) и ренин-ангиотензиновой (ангиотензин) системы, либо, в случае пациентов № 7, 13, 14, показатели близки к норме. При слабом проявлении ФБС (пациенты № 2, 3, 6, 9 и 11) наиболее значимым является уровень е-Ат к гистамину, серотонину и ангиотензину. Изменение показателей е-Ат к орфанину и  $\beta$ -эндорфину, участвующих в регуляции НЦС и АНЦС, обнаружено для пациентов № 3 и 6, с низким уровнем ФБС.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для оценки развития фантомного болевого синдрома проводили определение иммунологических показателей, включающее иммуноферментное измерение е-Ат к эндогенным медиаторам, участвующих в регуляции передачи болевого импульса. По современным научным представлениям, антитела к эндогенным регуляторам боли рассматриваются

как фактор обратной связи взаимодействия центральной нервной системы (ЦНС) и иммунной системы [18]. С помощью специфических антител происходит иммуномодуляция активности системы болевой проводимости [13]. Известно, что хроническую боль сопровождают стресс и эмоциональное напряжение. Они вызывают повышение секреции биогенных аминов в крови, которые играют ведущую роль в патогенезе болезненных и стрессовых состояний [19, 20]. Установлено, что концентрация серотонина обратно пропорциональна интенсивности хронической боли, уровень дофамина и серотонина повышается после курса массажа у пациентов с болями. Эксперименты на животных показали, что гистамин играет важную роль при спонтанной невропатической боли [12, 13, 15, 16]. Согласно результатам проведенного исследования, содержание специфических антител к серотонину, гистамину повышено у всех обследованных лиц, а для дофамина достоверное изменение выявлено у пяти пациентов, для остальных отмечена тенденция к повышению уровня е-Ат. По-видимому, такое распределение связано с индивидуальной психоэмоциональной реакцией на уровень боли и эффективность его купирования. Подтверждением этому служат литературные данные об увеличенной продукции катехоламинов при болевом синдроме и снижении их выработки после противоболевой терапии [12, 13]. Полученные данные свидетельствуют о том, что у обследованных пациентов уже сформировался дисбаланс медиаторов, и иммунная система ответила на это повышенной продукцией е-Ат к регуляторам боли.

В норме возникающая боль эффективно контролируется эндогенными механизмами НЦС и АНЦС, представителями которых являются пептиды [21, 22]. Нейропептид  $\beta$ -эндорфин образуется в клетках ЦНС, являясь эндогенным лигандом опиоидных рецепторов, участвует в устранении отрицательных эмоций и боли. Орфанин принадлежит к классу опиоидных пептидов, обеспечивает анальгезию в спинном мозге, регулирует высвобождение гормонов гипофиза в покое и при стрессе. Обнаружены изменения содержания в крови регуляторных пептидов:  $\beta$ -эндорфина, орфанина у людей, страдающих различными формами болевого синдрома [12, 18]. Анализируя полученные в работе результаты, можно отметить, что у половины обследованных пациентов в сыворотке крови происходит в различной степени повышение уровня антител к  $\beta$ -эндорфину, орфанину, но процесс не сопровождается одновременным изменением двух показателей. В физиологических условиях система, проводящая боль, сбалансирована комплексом противоболевой системы. Они функционируют содружественно и контролируют активность структур, участвующих в восприятии, проведении и анализе болевых сигналов. Активизация НЦС

под влиянием многообразных ноцицептивных раздражителей всегда стимулирует АНЦС, что ограничивает болевое ощущение и многочисленные поведенческие, вегетативные и метаболические реакции организма, способствуя более быстрому и эффективному восстановлению нарушенных структур и функций [18]. Индивидуальные различия в изменении иммунологических показателей для  $\beta$ -эндорфина, орфанина в обследованной группе пациентов свидетельствует о дисбалансе в системах.

Фантомная боль является сложным патологическим комплексом, в который вовлекаются периферические, спинальные и центральные отделы нервной системы [2, 23]. Значительная роль в этом процессе принадлежит перевозбуждению центральных нервных структур. Для половины пациентов обследуемой группы № 1–5 обнаружено увеличение значений показателей  $e$ -Ат тормозных и возбуждающих медиаторов (ГАМК и глутамат), которые участвуют в проводимости болевого сигнала [12, 18, 24]. Важно отметить, что оба показателя имеют однонаправленное изменение, это связано с их метаболизмом. Данный положительный факт свидетельствует о сбалансированности работы систем торможения и возбуждения.

Характерным показателем для всех пациентов обследованной группы является достоверное увеличение уровня антител к ангиотензину. Согласно литературным данным, ренин-ангиотензиновая система принимает определенное участие в реализации восприятия боли. Изучение связи болевой чувствительности у здоровых людей с наличием редких вариантов генов показало, что в значительной мере они принадлежат ангиотензинэргической системе [25, 26]. Пептиды брадикинина и вазопрессина являются биологически активными молекулами, участвующими в проводимости болевой пульсации при воспалении. Известно, что брадикинин активирует сигнальный каскад, приводящий к возникновению боли при травме [27]. В плане регуляции кровяного давления физиологическая функция этих пептидов связана с ангиотензином. К указанным ранее регуляторам обнаружено увеличение уровня  $e$ -Ат лишь у незначительного числа обследованных лиц. Аналогичные данные получены и для белков регуляторов гомеостаза. Результаты эксперимента свидетельствуют о неоднородной вовлеченности различных систем биохимической регуляции развития болевого синдрома. Это может быть связано с индивидуальными особенностями организма, длительностью болевого процесса и возможной степенью компенсации иммунологическими механизмами.

В настоящее время для оценки выраженности боли используют различные шкалы самооценки боли. Их легко, быстро и просто применять на практике. Однако эти методы являются

субъективными, так как отражают общее восприятие боли пациентом, не выделяют ноцицепцию как таковую и не учитывают вклад других систем. Проводя оценку роли регуляторов той или иной системы биохимического гомеостаза в развитии фантомных болей, можно предположить, что при высокой, умеренной и слабой степени выраженности ФБС активированы системы биогенных аминов и ангиотензинэргическая. По мере снижения интенсивности ФБС отмечена нормализация отклонения иммунологических показателей для всех исследуемых регуляторов. Изменения показателей НЦС и АНЦС наиболее значимо только при низком ФБС. Исследования последних лет показывают, что при развитии боли происходит множество реакций, не осознаваемых человеком, которые в итоге влияют как на интенсивность боли, так и на процесс ее хронизации. Важная роль при этом отводится нейроиммунным взаимодействиям. Также отмечается, что выраженность боли, оцененная по различным шкалам, может не иметь связи со степенью дисбаланса этих систем, с нейрофизиологическими и другими характеристиками проявления боли.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования выявлены особенности распределения иммунологических показателей  $e$ -Ат к регуляторам основных систем биохимического гомеостаза. Установлено, что каждый обследуемый пациент обладает индивидуальным иммунопрофилем, но для всех участников эксперимента характерно увеличение уровня  $e$ -Ат к серотонину, гистамину и ангиотензину. Определение указанных показателей отражает хронизацию болевого синдрома, но не зависит от самооценки степени выраженности фантомной боли. Мониторинг индивидуального профиля  $e$ -Ат к эндогенным регуляторам позволяет получить объективную картину болевого статуса организма пациента, а это в свою очередь даст возможность выбора эффективной, персональной лечебной программы.

**Финансирование работы.** Работа выполнена в соответствии с исследованием согласно Госрегистрации № 01200952666.

**Соблюдение этических стандартов.** Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены локальным Биоэтическим комитетом Института физиологически активных веществ РАН (Черноголовка, Московская область), протокол № 396/10 от 25.10.2023 г.

Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и

преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Осипова Н.А., Собченко Л.А.* Постампутационный фантомный болевой синдром: медицинские и социальные проблемы // *Анестезиология и реаниматология*. 2011. № 6. С. 41.
2. *Jackson M.A., Simpson K.H.* Pain after amputation / Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain // *Br. J. Anaesth.* 2004. V. 4. № 1. P. 20.
3. *Hsiao A.F., York R., Hsiao I. et al.* A randomized controlled study to evaluate the efficacy of noninvasive limb cover for chronic phantom limb pain among veteran amputees // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2012. V. 93. № 4. P. 617.
4. *Rusanescu G., Mao J.* Immature spinal cord neurons are dynamic regulators of adult nociceptive sensitivity // *J. Cell. Mol. Med.* 2015. V. 19. № 10. P. 2352.
5. *Moura V.L., Faurot K.R., Gaylord S.A. et al.* Mind-body interventions for treatment of phantom limb pain in persons with amputation // *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2012. V. 91. № 8. P. 701.
6. *Attal N., Bouhassira D., Baron R.* Diagnosis and assessment of neuropathic pain through questionnaires // *Lancet Neurol.* 2018. V. 17. № 5. P. 456.
7. *Мяжкова М.А., Петроченко С.Н., Морозова В.С.* Определение антител к эндогенным биорегуляторам для диагностики функционального состояния организма // *Известия АН. Серия химическая*. 2018. № 4. С. 762.
8. *Verma V., Sheikh Z., Ahmed A.S.* Nociception and role of immune system in pain // *Acta Neurol. Belg.* 2015. V. 115. № 3. P. 213.
9. *Решетняк В.К., Кукушкин М.Л.* Центральные и периферические механизмы физиологической и патологической боли // *Клиническая патофизиология*. 2015. № 1. С. 1.
10. *Левашова А.И., Морозова В.С., Петроченко С.Н. и др.* Сравнительный анализ иммунохимических и клинических показателей при дорсалгиях корешкового и рефлекторного генеза // *Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова*. 2017. Т. 117. № 3. С. 4.
11. *Левашова А.И., Мяжкова М.А.* Анализ иммунохимических показателей при вертеброгенном болевом синдроме // *Biomed. Chem. Res. Methods*. 2018. Т. 1. № 3. С. e00039.
12. *Игонькина С.И., Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Кукушкин М.Л.* Антитела к нейромедиаторам при нейропатической боли // *Нейроиммунология*. 2015. Т. 12. № 1–2. С. 45.
13. *Игонькина С.И., Ветрилэ Л.А., Кукушкин М.Л.* Влияние антител к норадреналину на развитие нейропатической боли // *Бюлл. экспер. биологии и медицины*. 2016. Т. 162. № 12. С. 678.
14. *Петроченко С.Н., Боброва З.В., Мяжкова М.А. и др.* Определение антител к эндогенным биорегуляторам для оценки функционального состояния здоровья спортсменов // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017. Т. 62. № 2. С. 346.
15. *Obara I., Telezhkin V., Alrashdi I., Chazot P.L.* Histamine, histamine receptors, and neuropathic pain relief // *Br. J. Pharmacol.* 2019. V. 177. № 3. P. 580.
16. *Манжуло И.В., Дюйзен И.В.* Нейрохимические изменения в роstralном вентромедиальном ядре продолговатого мозга крысы при развитии нейропатического болевого синдрома // *Нейрохимия*. 2015. № 3. С. 259.
17. *Ahmed M.A., Mohamed S.A., Sayed D.* Long-term antalgic effects of repetitive transcranial magnetic stimulation of motor cortex and serum beta-endorphin in patients with phantom pain // *Neurol. Res.* 2011. V. 33. № 9. P. 953.
18. *Левашова А.И., Мяжкова М.А., Мосейкин И.А.* Иммунохимические и электромиографические показатели в оценке болевого статуса при миотоническом синдроме // *Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова*. 2020. Т. 120. № 12. С. 73.
19. *Walker A.K., Kavelaars A., Heijnen C.J., Dantzer R.* Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression // *Pharmacol. Rev.* 2014. V. 66. № 1. P. 80.
20. *Viana F.* TRPA1 channels: molecular sentinels of cellular stress and tissue damage // *J. Physiol.* 2016. V. 594. № 15. P. 4151.
21. *Toll L., Bruchas M.R., Calo' G. et al.* Nociceptin/orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioid systems // *Pharmacol. Rev.* 2016. V. 68. № 2. P. 419.
22. *Левашова А.И., Мяжкова М.А.* Механизм действия антиопиоидных пептидов при болевом синдроме // *Известия АН. Серия химическая*. 2018. № 4. С. 624.
23. *Nuss P.* Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2015. V. 11. P. 165.
24. *Давыдова Т.В., Колобов В.В., Горбатов В.Ю. и др.* Антитела к глутамату, нейродегенеративные повреждения головного мозга. Перспективы иммунотерапии // *Патогенез*. 2012. Т. 10. № 3. С. 26.
25. *Гордеев А.В., Галушко Е.А., Савушкина Н.М.* Роль ангиотензинов в патогенезе воспалительных заболеваний суставов // *Терапевт. архив*. 2021. Т. 93. № 5. С. 635.
26. *Williams F.M., Scollen S., Cao D. et al.* Genes contributing to pain sensitivity in the normal population: An exome sequencing study // *PLoS Genet.* 2012. V. 12. № 8. P. e1003095.

27. *Dutra R.C., Bento A.F., Leite D.F. et al.* The role of kinin B1 and B2 receptors in the persistent pain induced by experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice: Evidence for the involvement of astrocytes // *Neurobiol. Dis.* 2013. V. 54. P. 82.

## REFERENCES

1. *Osipova N.A., Sobchenko L.A.* [Post amputation phantom pain syndrome medical and social problems] // *Anesteziol. Reanimatol.* 2011. № 6. P. 41.
2. *Jackson M.A., Simpson K.H.* Pain after amputation / Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain // *Br. J. Anaesth.* 2004. V. 4. № 1. P. 20.
3. *Hsiao A.F., York R., Hsiao I. et al.* A randomized controlled study to evaluate the efficacy of noninvasive limb cover for chronic phantom limb pain among veteran amputees // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2012. V. 93. № 4. P. 617.
4. *Rusanescu G., Mao J.* Immature spinal cord neurons are dynamic regulators of adult nociceptive sensitivity // *J. Cell. Mol. Med.* 2015. V. 19. № 10. P. 2352.
5. *Moura V.L., Faurot K.R., Gaylord S.A. et al.* Mind-body interventions for treatment of phantom limb pain in persons with amputation // *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2012. V. 91. № 8. P. 701.
6. *Attal N., Bouhassira D., Baron R.* Diagnosis and assessment of neuropathic pain through questionnaires // *Lancet Neurol.* 2018. V. 17. № 5. P. 456.
7. *Myagkova M.A., Petrochenko S.N., Morozova V.S.* Detection of natural antibodies to endogenous bioregulators for the diagnostics of the functional state of the body // *Rus. Chem. Bull.* 2018. V. 67. № 4. P. 762.
8. *Verma V., Sheikh Z., Ahmed A.S.* Nociception and role of immune system in pain // *Acta Neurol. Belg.* 2015. V. 115. № 3. P. 213.
9. *Reshetnyak V.K., Kukushkin M.L.* [Central and peripheral mechanisms of physiologic and pathologic pain] // *Clin. Pathophysiol.* 2015. № 1. P. 1.
10. *Levashova A.I., Morozova V.S., Petrochenko S.N. et al.* [A comparative study of immune and clinical indicators in radicular and myofascial back pain] // *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova.* 2017. V. 117. № 3. P. 4.
11. *Levashova A.I., Myagkova M.A.* Analysis of immunochemical parameters in vertebrogenic pain syndrome // *Biomed. Chem. Res. Methods.* 2018. V. 1. № 3. P. e00039.
12. *Igonkina S.I., Vetrilae L.A., Zakharova I.A., Kukushkin M.L.* [Antibodies to neurotransmitters in neuropathic pain] // *Neuroimmunol.* 2015. V. 12. № 1–2. P. 45.
13. *Igonkina S.I., Vetrilae L.A., Kukushkin M.L.* [Influence of antibodies to noradrenaline on the development of neuropathic pain] // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 162. № 12. P. 678.
14. *Petrochenko S.N., Bobrova Z.V., Myagkova M.A.* [The detection of antibodies to endogenous bio-regulators for evaluating functional condition of health of sportsmen] // *Klin. Lab. Diagn.* 2017. V. 62. № 2. P. 346.
15. *Obara I., Telezhkin V., Alrashdi I., Chazot P.L.* Histamine, histamine receptors, and neuropathic pain relief // *Br. J. Pharmacol.* 2019. V. 177. № 3. P. 580.
16. *Manjulo I.V., Duisen I.V.* [Neurochemical changes in the rostral ventromedial nucleus of the rat medulla oblongata during the development of neuropathic pain syndrome] // *Neurochemistry.* 2015. № 3. P. 259.
17. *Ahmed M.A., Mohamed S.A., Sayed D.* Long-term analgesic effects of repetitive transcranial magnetic stimulation of motor cortex and serum beta-endorphin in patients with phantom pain // *Neurol. Res.* 2011. V. 33. № 9. P. 953.
18. *Levashova A.I., Myagkova M.A., Moseikin I.A.* [Immunochemical and electromyographic indicators for assessment of pain status in myofascial back pain syndrome] // *Zh. Nevrol. Psikhiatr. im. S.S. Korsakova.* 2020. V. 120. № 12. P. 73.
19. *Walker A.K., Kavelaars A., Heijnen C.J., Dantzer R.* Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression // *Pharmacol. Rev.* 2014. V. 66. № 1. P. 80.
20. *Viana F.* TRPA1 channels: molecular sentinels of cellular stress and tissue damage // *J. Physiol.* 2016. V. 594. № 15. P. 4151.
21. *Toll L., Bruchas M.R., Calo' G. et al.* Nociceptin/orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioid systems // *Pharmacol. Rev.* 2016. V. 68. № 2. P. 419.
22. *Levashova A.I., Myagkova M.A.* Mechanism of action of anti-opioid peptides at pain syndrome // *Rus. Chem. Bull.* 2018. V. 67. № 4. P. 624.
23. *Nuss P.* Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2015. V. 11. P. 165.
24. *Davydova T.V., Kolobov V.V., Gorbatov V.Yu. et al.* [Glutamate antidodies, brain neurodegenerative damages. Perspectives of immunotherapy] // *Pathogenesis.* 2012. V. 10. № 3. P. 26.
25. *Gordeev A.V., Galushko E.A., Savushkina N.M.* [The role of the angiotensins in the pathogenesis of inflammatory joint disease] // *Ter. Arkh.* 2021. V. 93. № 5. P. 635.
26. *Williams F.M., Scollen S., Cao D. et al.* Genes contributing to pain sensitivity in the normal population: an exome sequencing study // *PLoS Genet.* 2012. V. 12. № 8. P. e1003095.
27. *Dutra R.C., Bento A.F., Leite D.F. et al.* The role of kinin B1 and B2 receptors in the persistent pain induced by experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice: Evidence for the involvement of astrocytes // *Neurobiol. Dis.* 2013. V. 54. P. 82.

## Comparative Determination of Immunological Indicators for Assessment of Phantom Pain

M. A. Myagkova<sup>a</sup>, Z. V. Bobrova<sup>a</sup>, S. N. Petrochenko<sup>a,\*</sup>, A. S. Krylov<sup>b</sup>, I. A. Moseykin<sup>c</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Physiologically Active Substances Federal Research Center for Problems  
of Chemical Physics and Medical Chemistry RAS, Chernogolovka, Moscow region, Russia*

<sup>b</sup>*DIANARK LLC, Moscow, Russia*

<sup>c</sup>*Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia*

\*E-mail: dianark777@mail.ru

A comparative determination of immunological parameters, natural antibodies (e-Abs) to the regulators of the main systems of biochemical homeostasis was carried out:  $\beta$ -endorphin, serotonin, dopamine, histamine, orphanin, angiotensin, GABA, glutamate, bradykinin, vasopressin, thrombin,  $\alpha$ 2-macroglobulin in persons with phantom pain syndrome (PPS) resulting from amputation after injury. In accordance with the established diagnosis, a group of 14 people was examined, for whom features of the distribution of immunological parameters were identified. For each examined patient, an individual immunoprofile of specific e-Abs was determined. A significant increase in the level of antibodies to serotonin, histamine and angiotensin was established for all study participants, reflecting the degree of manifestation of FBS, which does not depend on the self-esteem of the person being examined. Determining the role of regulators of biochemical homeostasis in the development of phantom pain showed that with high, moderate and weak severity of FBS, the biogenic amine and angiotensinergic systems are activated. A decrease in FBS intensity normalizes deviations in all immunological parameters. The level of e-Abs for the pain ( $\beta$ -endorphin) and analgesic (orphanin) systems are significant only at low FBS. Monitoring the individual profile of e-Abs to endogenous regulators allows us to obtain an objective picture of the pain status of the patient's body. The severity of pain, assessed on various scales, may have no connection with the degree of imbalance of these systems, with neurophysiological and other characteristics of the manifestation of pain.

*Keywords:* natural antibodies to endogenous regulators, enzyme-linked immunosorbent assay, phantom pain, pain syndrome assessment, visual analogue scale.