

Обзоры

Быков Ю.В.

Диабетический кетоацидоз и окислительный стресс: патофизиологические механизмы 6

Ничипорук К.А., Царенок С.Ю., Горбунов В.В., Ильямакова Н.А., Аксенова Т.А.

Взаимосвязь сосудистой кальцификации, остеопороза и системного воспаления 14

Лесная А.С., Даренская М.А., Семенова Н.В., Колесникова Л.И.

Новый аспект метаболических нарушений при ожирении: карбонильный стресс 24

Луценко А.В., Ясенявская А.Л., Самотруева М.А.

Микобактериальные инфекции: особенности микробиологической диагностики 34

Нестерев А.М., Худякова А.Д., Куртукова А.Б., Логвиненко И.И.

Бронхолегочная система в рамках синдрома пост-COVID-19: обзор литературы 45

Оригинальные исследования

Физиология

Молодовская И.Н., Типисова Е.В., Аликина В.А., Елфимова А.Э., Зябишева В.Н.

Взаимосвязь между уровнем психоэмоционального напряжения и содержанием биогенных аминов, половых и тиреоидных гормонов у мужского населения г. Архангельска 55

Зябишева В.Н., Типисова Е.В., Елфимова А.Э., Молодовская И.Н., Аликина В.А.

Типологические изменения уровней дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов у мужчин г. Архангельска в динамике фотопериодов года 63

Авхименко В.А., Тривоженко А.Б.

Велоэргометрическое доплеровское исследование мозгового кровотока после бальнеологической пантовой коррекции вазомоторной ауторегуляции 70

Анфиногенова О.И., Деер Н., Доменюк Д.А., Ивченко Г.С., Ржепаковский И.В.

Морфофункциональные и психофизиологические показатели организма в мониторинге здоровья студентов с учетом адаптации к условиям образовательной среды 78

Анатомия

Баландин А.А., Кобелева А.С., Баландина И.А.

Сравнительный анализ линейных размеров яичника, определенных с помощью сонографии, в возрастном аспекте 84

Медико-биологические науки

Калинина Е.Н., Вильданова Н.С., Кормщикова Е.С., Йовдий А.В., Смольникова М.В.

Определение критериев качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус Rh₀(D) 90

Реброва Т.Ю., Подоксенов Ю.К., Афанасьев С.А., Каменщиков Н.О., Корепанов В.А., Дьякова М.Л.

Эффекты оксида азота на микровязкость и полярность мембран эритроцитов при оперативном вмешательстве на сердце в эксперименте 101

Горчаков В.Н., Николайчук К.М., Демченко Г.А., Нурмаханова Б.А., Горчакова О.В.

Интегральная оценка лимфатического региона щитовидной железы при фитокоррекции последствий гипотиреоза 108

Хумаири А.Х., Сперанский Д.Л., Минакова М.Ю., Чердынцева Н.В., Удут В.В.

Влияние новых противоопухолевых соединений на основе производных азолоазинов на уровень повреждений ДНК нормальных клеток линии Vero в тесте ДНК-комет 117

Абдрахманова Р.О., Тазова Э.Г., Генатуллина Г.Н., Баева Г.Р., Даудова А.Д., Демина Ю.З., Ясенявская А.Л., Рубальский О.В.

Профиль антибиотикорезистентности изолятов золотистого стафилококка, выделенных от больных и бактерионосителей Астраханского региона, как основа выбора штаммов-продуцентов бактериофагов для дальнейшей комбинированной фаготерапии 125

Reviews

Bykov Yu.V.

Diabetic ketoacidosis and oxidative stress: pathophysiological mechanisms 6

Nichiporuk K.A., Tsarenok S.Yu., Gorbunov V.V., Ilyamkova N.A., Aksenova T.A.

Relationship between vascular calcification, osteoporosis and systemic inflammation 14

Lesnaya A.S., Darenskaya M.A., Semenova N.V., Kolesnikova L.I.

A new aspect of metabolic disorders in obesity: carbonyl stress 24

Lutsenko A.V., Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A.

Mycobacterial infections: features of microbiological diagnosis 34

Nesterets A.M., Khudiakova A.D., Kurtukova A.B., Logvinenko I.I.

Bronchopulmonary system within the confines of post-COVID-19 syndrome: literature review 45

Research articles

Physiology

Molodovskaya I.N., Tipisova E.V., Alikina V.A., Elfimova A.E., Zyabisheva V.N.

Relationships between the levels of psycho-emotional stress and the content of biogenic amines, sex and thyroid hormones in male population of Arkhangelsk 55

Zyabisheva V.N., Tipisova E.V., Elfimova A.E., Molodovskaya I.N., Alikina V.A.

Typological changes in the level of dopamine, cortisol and thyroid hormones in males of Arkhangelsk in the dynamics of year photoperiods 63

Avkhimenko V.A., Trivozhenko A.B.

Veloergometric Doppler study of brain blood circulation after balneological antler correction of vasomotor autoregulation 70

Anfinogenova O.I., Deep H., Domenyuk D.A., Ivchenko G.S., Rzhepakovsky I.V.

Morphofunctional and psychophysiological body indicators in monitoring students' health status, in view of their adjustment to academic environment 78

Anatomy

Balandin A.A., Kobeleva A.S., Balandina I.A.

Comparative analysis of the linear dimensions of the ovary, determined using sonography, in an age aspect 84

Biomedical sciences

Kalinina E.N., Vildanova N.S., Kormshchikova E.S., Yovdiy A.V., Smolnikova M.V.

Determination of quality criteria for candidate standard for anti-D immunoglobulin 90

Rebrova T.Yu., Podoksenov Yu.K., Afanasiev S.A., Kamenshchikov N.O., Korepanov V.A., Diakova M.L.

Effects of nitric oxide on microviscosity and polarity of erythrocyte membranes in experiment 101

Gorchakov V.N., Nikolaychuk K.M., Demchenko G.A., Nurmakhanova B.A., Gorchakova O.V.

Integral evaluation of thyroid lymphatic region in phytocorrection of hypothyroidism consequences 108

Al-Humairi A.H., Speranskiy D.L., Minakova M.Yu., Cherdyntseva N.V., Udut V.V.

Effect of new antitumor compounds based on azoloazine derivatives on the level of DNA damage in normal Vero cells in the DNA comet test 117

Abdrakhmanova R.O., Tazova E.G., Genatullina G.N., Baeva G.R., Daudova A.D., Demina Yu.Z.,

Yasenyavskaya A.L., Rubalsky O.V.

Profile of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and bacterial carriers of the Astrakhan region as the basis for the selection of bacteriophage producing strains for further combined phage therapy 125

Масленникова В.С., Мирошниченко С.М., Шелихова Е.В., Табанюхов К.А., Деулин И.Ю., Пыхтина М.Б.	
Исследование фунгицидного действия химерной формы интерферона альфа-2б в отношении грибов-патогенов растений и животных	130

Клиническая медицина

Корнеева Е.В., Воевода М.И.	
Клинические варианты метаболического синдрома у лиц молодого возраста, проживающих в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре	138
Краснер Я.А., Романов В.В., Фазулина О.Н., Осипенко М.Ф., Климонтов В.В.	
Уровень белков, вовлеченных в апоптоз и аутофагию, в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени	148
Мозговая Е.Э., Бедина С.А., Трофименко А.С., Спицина С.С., Мамус М.А., Зборовская И.А.	
Сравнительная характеристика профилей ксантиноксидоредуктазы крови при дискоидной и системной красной волчанке	155
Шпагина Л.А., Дробышев В.А., Кармановская С.А., Локтин Е.М., Шпагин И.С., Котова О.С., Паначева Л.А., Мусиенко Т.В., Заикина Е.А.	
Эффективность I этапа реабилитации медицинских работников со среднетяжелым течением интерстициального поражения легких, ассоциированного с COVID-19	164
Шикова Ю.В., Куфтерина А.Д., Сахаутдинова И.В., Борцова Ю.Л., Фагамов Р.Р., Галимова С.Ш., Галимова Э.Ф., Мочалов К.С.	
Антирадикальные и иммуномодулирующие эффекты гинекологических капсул, разрабатываемых для комплексного лечения заболеваний женской репродуктивной системы	170
Синицкая А.В., Хуторная М.В., Хрячкова О.Н., Поддубняк А.О., Синицкий М.Ю., Асанов М.А., Понасенко А.В.	
Ассоциации полиморфных вариантов <i>TLR</i> с ревматической болезнью сердца	177
Афтаева Л.Н., Мельников В.Л., Романова В.С., Борисова Е.А.	
Клинико-лабораторные аспекты инфекционного мононуклеоза в различных возрастных группах	185
Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Ромащенко П.Н., Самедов В.Б., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.	
Патологические изменения глиальных клеток в энтеральной нервной системе толстой кишки при хроническом медленно-транзитном запоре	191
Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Шевченко А.И., Корыткин А.А., Кожевников В.В., Зайдман А.М.	
Фенотипические особенности клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки	203
Щербаков В.И., Обухова О.О., Рябиченко Т.И., Скосырева Г.А., Горбенко О.М., Косьянова Т.Г.	
Изучение различных групп регуляторных молекул при беременности на фоне хронического пиелонефрита	210

Клинический случай

Строк А.Б., Ченкуров М.С., Костылева М.Н., Умуткузина Д.А.	
Клинический случай снижения эффективности вальпроевой кислоты на фоне антибактериальной терапии имипенемом/циластатином в педиатрической практике	215
Семичев Е.В., Геренг Е.А., Чекишева Т.Н., Кязимова М.А.	
Тубулярно-ворсинчатая аденома на фоне язвенного колита (клинический случай)	222
Яшин С.С., Юнусова Ю.Р., Чадаева М.Н.	
Клиническое наблюдение эндомиокардита Леффлера	229

Некролог

Академик РАН Леонид Семенович Барбараш	235
----------------------------------------------	-----

Maslennikova V.S., Miroshnichenko C.M., Shelikhova E.V., Tabanyukhov K.A., Deulin I.Yu., Pykhtina M.B.	
Study of the fungicidal effect of the chimeric form of interferon alpha-2b in relation to fungi-pathogens of plants and animals	130

Clinical medicine

Korneeva E.V., Voevoda M.I.	
Clinical variants of the metabolic syndrome in young people living in the Khanty-Mansiysk autonomous region – Yugra	138
Krasner Ya.A., Romanov V.V., Fazullina O.N., Osipenko M.F., Klimontov V.V.	
Serum levels of proteins involved in apoptosis and autophagy in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease	148
Mozgovaya E.E., Bedina S.A., Trofimenko A.S., Spitsina S.S., Mamus M.A., Zborovskaya I.A.	
Comparative characteristics of blood xanthine oxidoreductase profiles in discoid and systemic lupus erythematosus	155
Shpagina L.A., Drobyshev V.A., Karmanovskaya S.A., Loktin E.M., Shpagin I.S., Kotova O.S., Panacheva L.A., Musienko T.V., Zaikina E.A.	
Efficacy of stage I rehabilitation of medical workers with moderate course of interstitial lung damage associated with COVID-19	164
Shikova Yu.V., Kufterina A.D., Sakhautdinova I.V., Bortsova Yu.L., Fagamov R.R., Galimova S.Sh., Galimova E.F., Mochalov K.S.	
Antiradical and immunomodulatory effects of gynecological capsules developed for complex treatment of diseases of the female reproductive system	170
Sinitskaya A.V., Khutornaya M.V., Khryachkova O.N., Poddubnyak A.O., Sinitsky M.Yu., Asanov M.A., Ponasenko A.V.	
Associations of <i>TLR</i> gene polymorphism with the risk of rheumatic heart disease	177
Aftaeva L.N., Mel'nikov V.L., Romanova V.S., Borisova E.A.	
Clinical and laboratory aspects of infectious mononucleosis in different age groups	185
Chumasov E.I., Maistrenko N.A., Romashchenko P.N., Samedov V.B., Petrova E.S., Korzhevskii D.E.	
Pathological changes of glial cells in the enteric nervous system of the colon with chronic slow-transit constipation	191
Strokovaya E.L., Pakhomova N.Yu., Shevchenko A.I., Korytkin A.A., Kozhevnikov V.V., Zaidman A.M.	
Phenotypic features of rib cartilage cells in funnel-shaped chest deformity	203
Shcherbakov V.I., Obukhova O.O., Ryabichenko T.I., Skosyreva G.A., Gorbenko O.M., Kosyanova T.G.	
Study of various groups of regulatory molecules during pregnancy against the background of chronic pyelonephritis	210

A clinical case

Strok A.B., Chenkurov M.S., Kostyleva M.N., Umutkuzina D.A.	
Decrease in the effectiveness of valproic acid against the background of antibacterial therapy with imipenem/cilastatin in pediatric practice: A case report	215
Semichev E.V., Gereng E.A., Chekischeva T.N., Kyazimova M.A.	
Tubular-villous adenoma against the background of ulcerative colitis (clinical case)	222
Yashin S.S., Yunusova Yu.R., Chadayeva M.N.	
Clinical case of Loeffler's endomyocarditis	229

Obituary

Academician of the Russian Academy of Sciences Leonid Semenovich Barbarash	235
----------------------------------------------------------------------------------	-----

Диабетический кетоацидоз и окислительный стресс: патофизиологические механизмы

Ю.В. Быков^{1,2}

¹ *Ставропольский государственный медицинский университет Минздрава России
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310*

² *Детская городская клиническая больница им. Г.К. Филиппского
355002, г. Ставрополь, ул. Пономарева, 5*

Резюме

Сахарный диабет (СД) – распространенная эндокринная патология с большим количеством острых и хронических осложнений, среди которых диабетический кетоацидоз (ДКА) является наиболее частым и тяжелым осложнением, особенно у детей и подростков с СД 1 типа. Окислительный стресс (ОС) – патологическое состояние, которое возникает в результате дисбаланса между образованием свободных радикалов и неэффективностью антиоксидантной системы. ОС служит мощным фактором риска развития многих диабетических осложнений. В последнее время он рассматривается как важная составляющая ДКА, патофизиологические механизмы развития которого изучены еще недостаточно хорошо. Описаны гипотезы, согласно которым ОС не только провоцирует и утяжеляет проявления ДКА, но и представляет собой тяжелое последствие самого ДКА, что приводит к прогрессированию многих микро- и макроскопических диабетических осложнений. Среди основных патофизиологических механизмов развития ОС при ДКА рассматриваются образование конечных продуктов гликирования, активация протеинкиназы C, полиолового и гексозаминового путей. Улучшение понимания патогенеза ОС при ДКА позволит оптимизировать диагностику ОС и подходы к коррекции ДКА за счет своевременного назначения антиоксидантов.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетический кетоацидоз, окислительный стресс, свободные радикалы.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Быков Ю.В. e-mail: yubykov@gmail.com

Для цитирования: Быков Ю.В. Диабетический кетоацидоз и окислительный стресс: патофизиологические механизмы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):6–13. doi: 10.18699/SSMJ20230601

Diabetic ketoacidosis and oxidative stress: pathophysiological mechanisms

Yu.V. Bykov^{1,2}

¹ *Stavropol State Medical University of Minzdrav of Russia
355017, Stavropol, Mira st., 310*

² *Children's City Clinical Hospital named G.K. Filippsky
355002, Stavropol, Ponomareva st., 5*

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a common endocrine disease with a large number of acute and chronic complications, among which diabetic ketoacidosis (DKA) is the most frequent and severe, especially in children and adolescents with type 1 DM. Oxidative stress (OS) is a pathological condition that develops due to an imbalance between free radicals formation and inefficiency of the antioxidant system. OS is a strong risk factor for the development of numerous diabetic complications. Recently OS has been considered as an important component of DKA, the pathophysiological mechanisms of which have not yet been fully elucidated. This paper describes hypotheses according to which OS not only triggers and exacerbates manifestations of DKA, but itself represents a severe consequence of DKA, leading to the progression of numerous micro- and macroscopic diabetic complications. The formation of glycation end products, activation of protein kinase C, polyol and hexosamine pathways are considered among the key pathophysiologic mechanisms of OS

development in DKA. Achieving a better understanding of OS pathogenesis in DKA will optimize the diagnosis of OS and approaches to DKA correction through timely prescription of antioxidants.

Key words: diabetes mellitus, diabetic ketoacidosis, oxidative stress, free radicals.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Correspondence author: Bykov Yu.V., e-mail: yubikov@gmail.com

Citation: Bykov Yu.V. Diabetic ketoacidosis and oxidative stress: pathophysiological mechanisms. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):6–13. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230601

Введение

Сахарный диабет (СД) – хроническое эндокринное заболевание, которое характеризуется гипергликемией, возникающей из-за дефектов секреции инсулина, действия инсулина или того и другого [1, 2]. Согласно современным данным, распространенность СД стремительно растет и уже достигает масштабов эпидемии [3–6]. Данные, предоставленные Международной диабетической федерацией, показывают, что в 2019 г. во всем мире у 463 млн человек был диагностирован СД, а по оценкам экспертов к 2045 г. это число может увеличиться до 700 млн (с преобладанием пациентов, у кого будет выявлен СД 2 типа) [7]. Поскольку СД связан с повышенным риском развития микрососудистых и макрососудистых осложнений, связанных с поражением сердца, цереброваскулярных и периферических артерий, прогнозируемый рост заболеваемости СД приведет к увеличению затрат на медицинскую помощь, снижению качества жизни пациентов и повышению смертности [4, 8–10].

СД 2 типа является наиболее распространенной формой заболевания (до 90 % пациентов), возникает из-за инсулинорезистентности и является одной из ведущих причин преждевременной смерти в мире [2, 7]. СД 1 типа, на долю которого приходится лишь 5–10 % от общего числа данной эндокринопатии [11], возникает преимущественно в результате аутоиммунного поражения β -клеток поджелудочной железы [2]. Наиболее частым осложнением СД 1 типа является диабетический кетоацидоз (ДКА), который хотя и фиксируется при СД 2 типа, но в меньшем объеме [12]. Несмотря на то что патогенез ДКА достаточно хорошо известен и изучен, в последнее годы появляется все больше информации о вовлеченности в патофизиологические механизмы данного осложнения – окислительного стресса (ОС) – патологического состояния, которое может не только утяжелять течение ДКА, но и являться мощным триггером возникновения осложнений после его манифестации [13, 14]. Целью данного обзора стало освещение вопросов, связанных

с патофизиологическими механизмами формирования ОС при ДКА.

ДКА как острое осложнение СД 1 типа

ДКА – наиболее частое острое осложнение СД 1 типа, особенно у детей и подростков [4, 12, 15–17], он диагностируется почти у каждого второго ребенка с данной эндокринной патологией [12]. Несмотря на то что в педиатрической практике ДКА чаще всего встречается у пациентов с СД 1 типа, в определенных условиях он может возникать и у взрослых пациентов с другими типами СД [18]. ДКА представляет собой сложное нарушение обмена веществ, вызванное абсолютным или относительным снижением эффективной концентрации инсулина и повышением уровня катехоламинов, кортизола, глюкагона и гормонов роста [19–21]. ДКА характеризуется неконтролируемой гипергликемией, кетозом и последующим метаболическим ацидозом [22]. Острая неконтролируемая гипергликемия на фоне ДКА объясняется тремя основными механизмами: усилением глюконеогенеза, ускорением гликогенолиза и нарушением утилизации глюкозы периферическими тканями [12, 23].

Снижение содержания инсулина и повышение уровня контррегуляторных гормонов при ДКА ускоряют липолиз, что приводит к высвобождению свободных жирных кислот (СЖК) в кровоток из жировой ткани и стимулирует превращение СЖК в кетоны путем окисления в печени [24]. Резкое увеличение концентрации СЖК и кетонов сопровождается дальнейшим увеличением выраженности гипергликемии за счет индукции резистентности к инсулину, что в конечном итоге приводит к кетонемии и метаболическому ацидозу [24]. Классическая киническая картина ДКА, как правило, включает полиурию, полидипсию, потерю веса, астенический синдром, рвоту и боль в животе, неврологический дефицит, вплоть до развития коматозного состояния и отека головного мозга [22].

Основные патофизиологические механизмы ОС

Согласно современным представлениям, ОС – это патологическое состояние, возникаю-

щее из-за дисбаланса между образованием свободных радикалов (СР) и нарушением антиоксидантной защиты организма [1, 14, 25–28]. То есть ОС является результатом усиленной выработки СР и/или снижения способности организма нейтрализовать их, что приводит к окислительному повреждению клеток и тканей [1, 19]. Термин «окислительный стресс» наиболее широко стал применяться с 1985 г., когда Хельмут Зис определил его как нарушение баланса между прооксидантами и антиоксидантами в пользу первых. Сегодня уже не вызывает сомнения тот факт, что ОС является важным провоцирующим триггером при ряде заболеваний, включая эндокринопатии (метаболический синдром, СД 1 и 2 типа), нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), а также при старении [1, 25, 29].

СР представлены главным образом активными формами кислорода (АФК), активными формами азота (АФА) и активными формами хлора [26, 30]. Считается, что именно повышенное производство АФК/АФА является наиболее важным активатором ОС, при этом активные формы хлора играют второстепенную роль [26]. АФК являются неизбежным побочным продуктом метаболизма [29], их основным источником в клетках млекопитающих является «стекание» электронов из митохондриальной дыхательной цепи и последующий перенос на молекулярный кислород с образованием супероксидного анион-радикала [29]. Супероксид представляет собой один из основных «первичных» АФК, будучи предшественником других АФК, обнаруживаемых в клетках в дальнейших реакциях [29]. В нормальных физиологических условиях производство АФК и АФА происходит в достаточно умеренных концентрациях, и антиоксидантная система быстро удаляет их, прежде чем они вызовут какие-либо структурные и функциональные повреждения на клеточном уровне [28]. Однако этот баланс достаточно хрупок, потому как СР очень нестабильны и крайне реакционноспособны [26]. Для нейтрализации негативного эффекта гиперпродукции СР служит система антиоксидантов, которые удаляют избыток СР и защищают клетки от их токсического воздействия [26]. Другими словами, антиоксиданты – это соединения, которые купируют проявления ОС [1]. Антиоксиданты могут быть эндогенными (например, восстановленный глутатион и антиоксидантные ферменты, такие как каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) или экзогенными (например, антиоксидантные витамины А, С и Е) [1].

ОС как фактор риска диабетических осложнений

Одним из основных механизмов развития и прогрессирования осложнений СД является ОС [4, 13, 14, 16, 25, 31], чему способствуют развитие резистентности к инсулину, дисфункция β -клеток поджелудочной железы, воспаление и митохондриальные нарушения [13, 16]. Считается, что при СД основной вклад в развитие ОС вносят именно митохондрии [26]. Известно, что образование СР при СД в результате неферментативного гликирования белков, окисления глюкозы и усиления перекисного окисления липидов приводит к повреждению основных антиоксидантных ферментов и инсулинорезистентности [26].

Повышение продукции СР при СД также может быть связано со снижением активности и содержания антиоксидантных ферментов, таких как каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза [3, 26], что делает ткани восприимчивыми к ОС и приводит к развитию основных острых и хронических диабетических осложнений (в том числе ДКА) [3, 26]. Помимо этого, увеличение поступления СЖК в клетки эндотелия макрососудов сопровождается их окислением в митохондриях, что в конечном итоге приводит к повышению концентрации FADH и последующему увеличению продукции АФК [32, 33].

ДКА и ОС: синдром порочного круга?

Показано, что острая гипергликемия и повышение уровня кетоновых тел на фоне ДКА являются важными триггерами активации ОС [4, 16, 34–36]. ДКА стимулирует выработку митохондриальных АФК, что вызывает внутриклеточный ОС и последующую резистентность к инсулину, способствуя снижению регуляции экспрессии рецептора инсулина на поверхности клеток [4]. Кроме того, АФК при ДКА стимулируют секрецию провоспалительных молекул, таких как цитокины (ИЛ-1 β , ИЛ-6), факторы роста и факторы транскрипции (например, NF- κ B и семейство рецепторов, активируемых пролиферацией пероксисом) [37]. Несколько экспериментальных и клинических исследований показали, что развитие острой гипергликемии на фоне ДКА приводит к выраженному воспалительному ответу, характеризующемуся повышением уровня провоспалительных цитокинов и маркеров ОС [19, 38]. Индуцированная тяжелой гипергликемией при ДКА продукция макрофагами провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-1 β , С-реактивный белок, приводит к нарушению секреции инсулина, а также снижению чувствительности к инсулину [39]. Инсулиноре-

зистентность в данном случае, по-видимому, обусловлены выраженной глюкозотоксичностью при ДКА на фоне сильной воспалительной реакции, в результате чего снижается выработка инсулина [39]. Показано, что значительное повышение уровня ИЛ-6, ИЛ-1 β , ИЛ-8, ФНО- α и других цитокинов после манифестации ДКА существенно снижает ответ на инсулинотерапию [19].

Выраженная воспалительная реакция, ОС и образование АФК могут приводить к поражению капилляров и повреждению липидов, мембран, белков (альбумины, рибосомные белки) и ДНК [40]. Важную роль в патофизиологии ОС играет именно окислительная модификация белков, чья роль в клеточном повреждении гораздо более значима, чем при перекисном окислении липидов, особенно при ДКА [40]. С другой стороны, ОС, вызванный ДКА, способствует дисфункции β -клеток поджелудочной железы, которые индуцируют высвобождение гормонов, противодействующих инсулину (глюкагон, кортизол и гормон роста), что приводит к активации печеночного глюконеогенеза и еще более выраженной гипергликемии (т.е., по сути, усилению клинических проявлений ДКА) [41]. Повышенный липолиз на фоне ОС ускоряет доставку СЖК в печень для синтеза кетонных тел: ацетоацетата и β -гидроксибутирата, что приводит к метаболическому ацидозу, по сути формируя синдром порочного круга [42].

Таким образом, гиперкетонемия и острая гипергликемия могут вызвать окислительно-восстановительный дисбаланс и активировать провоспалительные сигнальные пути, которые участвуют в возникновении и утяжелении микро- и макрососудистых диабетических осложнений после перенесенного эпизода ДКА [5, 19, 34, 38, 43–45]. Показано, что увеличение уровня кетонных способствует активации сигнальных путей MAPK (mitogen-activated protein kinase, митоген-активируемая протеинкиназа) и транскрипционного фактора NF- κ B, способствуя усилению ОС, который может быть связан с развитием сосудистых осложнений и атеросклероза [46]. Повышение содержания СЖК приводит к нарушению выработки оксида азота в эндотелиальных клетках и вызывает эндотелиальную дисфункцию [38].

Основные патофизиологические механизмы развития ОС при ДКА

Предполагается, что острая гипергликемия на фоне ДКА индуцирует образование СР и ослабляет эндогенные системы антиоксидантной защиты посредством нескольких патофизиологических механизмов: образование конечных продуктов гликирования (КПГ), активация протеинкиназы

С, полиолового и гексозаминового пути [3]. Рассмотрим их более подробно.

Образование КПГ

Острая гипергликемия, гиперкетонемия и повышение продукции АФК на фоне ДКА инициируют неферментативное гликирование аминокислот с образованием токсичных α -дикарбониллов и, в последующем – гетерогенной группы КПГ [29, 47, 48]. КПГ модифицируют внутриклеточные белки, в том числе участвующие в регуляции транскрипции генов [49]. В белках в первую очередь гликированию подвергаются остатки аргинина и лизина, и одним из наиболее распространенных КПГ является N(6)-карбоксиметиллизин [47]. КПГ могут нарушать межклеточную передачу сигналов и функции клеток, стимулируя выделение провоспалительных цитокинов и факторов роста [32, 48, 50]. Это вызывает гибель и дифференцировку клеток или снижение их адгезии и миграции [29]. КПГ распознаются несколькими клеточными рецепторами и запускают множество сигнальных путей, связанных с воспалением и ОС [51]. Продукция АФК/АФА индуцируется за счет связывания с рецептором КПГ, что приводит к активации протеинкиназы С наряду с активацией NF- κ B (ядерный фактор κ B) и НАДФН-оксидазы, что в свою очередь вызывает ухудшение передачи сигналов MAPK и приводит к усилению ОС [48].

Активация протеинкиназы С

Протеинкиназа С относится к самому большому семейству киназ, представленному 11 изоформами серин/треонинкиназ, которые играют решающую роль в сигнальных путях, активируемых фосфатидилсерином, кальцием и диацилглицерином [48]. Протеинкиназа С обладает уникальными структурными особенностями, которые делают ее чрезвычайно восприимчивой к окислительным модификациям [52]. В зависимости от места окисления и степени модификации фермент может быть либо активирован, либо инактивирован H_2O_2 [52]. Известно, что активация протеинкиназы С участвует в нескольких патологических клеточных реакциях, таких как экспрессия различных факторов роста, индукция сигнальных путей и усиление ОС [53]. Острая гипергликемия на фоне ДКА резко увеличивает выработку диацилглицерина за счет активации изоформ протеинкиназы С [32]. Фермент угнетает экспрессию ряда генов, что приводит к увеличению генерации СР и снижению производства соединений, необходимых для нормального функционирования клеток и продукции суживающего эндотелина-1 [32]. Таким образом, активация протеинкиназы С играет ключевую роль в усилении ОС при ДКА [48].

Активация полиолового пути

В ходе двухстадийного полиолового пути глюкоза восстанавливается до сорбита, который затем превращается во фруктозу [48]. Известно, что в физиологических условиях, чтобы вступить в гликолитический путь, клеточная глюкоза преимущественно подвергается фосфорилированию гексокиназой с образованием глюкозо-6-фосфата [48, 54]. В физиологических условиях только следовые количества нефосфорилированной глюкозы (~ 3 %) входят в полиоловый путь [48, 54]. Однако в условиях острой гипергликемии на фоне ДКА происходит насыщение гексокиназой, что приводит к повышению уровня глюкозы и ее усиленному вступлению в полиоловый путь [48]. Показано, что при ДКА полиоловый путь активируется и утилизирует около 30 % всей глюкозы в организме [55]. Этот путь включает две основные реакции, катализируемые альдозоредуктазой и сорбитолдегидрогеназой [55]. Альдозоредуктаза восстанавливает глюкозу до сорбитола за счет NADPH, последний окисляется сорбитолдегидрогеназой с помощью NAD⁺ с образованием фруктозы [55]. Эти изменения приводят к нарушению редокс-баланса вследствие снижения внутриклеточного содержания NADPH и нарушения функционирования NAD(P)H-оксидазы, генерирующей супероксидный анион-радикал [48]. Уменьшение концентрации NADPH критически влияет на антиоксидантную систему, снижая уровень глутатиона и провоцируя ОС [48, 56].

Активация гексозаминового пути

Гексозаминовый путь – это альтернативный путь окисления глюкозы, в котором при участии глутамин-фруктозо-6-фосфат-амидотрансферазы фруктозо-6-фосфат превращается в глюкозамин-6-фосфат [48]. В физиологических условиях по этому пути утилизируется лишь небольшое количество фруктозо-6-фосфата, однако в условиях гипергликемии на фоне ДКА интенсивность работы гексозаминового пути увеличивается; повышение содержания глюкозо-6-фосфата в конечном итоге приводит к ингибированию активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, которая является ключевым ферментом, участвующим в поддержании уровня NADPH. Эта серия событий сопровождается усилением потока глюкозы по гексозаминовому пути и выраженности ОС [48].

Заключение

ДКА является острым и тяжелым осложнением при СД 1 и 2 типа с максимальной манифестацией в детском и подростковом возрасте. ОС, с одной стороны, может быть мощным триггером для возникновения ДКА, но с другой стороны,

является его грозным осложнением, что, в свою очередь, провоцирует развитие и нарастание тяжести других хронических диабетических осложнений. Патофизиологические механизмы развития ОС при ДКА достаточно многообразны, до конца не изучены и являются актуальным направлением для исследований в области современной эндокринологии. Более детальное и глубокое изучение патогенеза возникновения ОС позволит улучшить диагностические подходы при обнаружении ОС на фоне ДКА. Максимально ранняя диагностика ОС при ДКА может дать патофизиологические обоснования для рассмотрения вопросов назначения антиоксидантов в качестве дополнительной терапии у данного контингента пациентов, что еще должно быть подтверждено дальнейшими клиническими исследованиями в рамках доказательной терапии для последующего внедрения в практику.

Список литературы / References

1. Pasupuleti V.R., Arigela C.S., Gan S.H., Salam S.K.N., Krishnan K.T., Rahman N.A., Jeffree M.S. A review on oxidative stress, diabetic complications, and the roles of honey polyphenols. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:8878172. doi: 10.1155/2020/8878172
2. Black H.S. A synopsis of the associations of oxidative stress, ROS, and antioxidants with diabetes mellitus. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(10):2003. doi: 10.3390/antiox11102003
3. Papachristoforou E., Lambadiari V., Maratou E., Makrilakis K. Association of glycemic indices (hyperglycemia, glucose variability, and hypoglycemia) with oxidative stress and diabetic complications. *J. Diabetes Res.* 2020;2020:7489795. doi: 10.1155/2020/7489795
4. Li J., Shen X. Leptin concentration and oxidative stress in diabetic ketoacidosis. *Eur. J. Clin. Invest.* 2018;48(10):e13006. doi: 10.1111/eci.13006
5. Li J., Shen X. Oxidative stress and adipokine levels were significantly correlated in diabetic patients with hyperglycemic crises. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2019;11:13. doi: 10.1186/s13098-019-0410-5
6. Mayer-Davis E.J., Lawrence J.M., Dabelea D., Divers J., Isom S., Dolan L., Imperatore G., Linder B., Marcovina S., Pettitt D.J., ... SEARCH for Diabetes in Youth Study. Incidence trends of type 1 and type 2 diabetes among youths, 2002–2012. *N. Engl. J. Med.* 2017;376(15):1419–1429. doi: 10.1056/NEJMoa1610187
7. Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N., Colagiuri S., Guariguata L., Motala A.A., Ogurtsova K., ... IDF Diabetes Atlas Committee. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2019;157:107843. doi: 10.1016/j.diabres.2019.107843

8. American Diabetes Association. 4. Comprehensive medical evaluation and assessment of comorbidities: standards of medical care in diabetes-2020. *Diabetes care*. 2019;43(Suppl 1):S37–S47. doi: 10.2337/dc20-S004
9. Baynest H.W. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*. 2015;6(5):1–9. doi: 10.4172/2155-6156.1000541
10. Bommer C., Heesemann E., Sagalova V., Manne-Goehler J., Atun R., Bärnighausen T., Vollmer S. The global economic burden of diabetes in adults aged 20–79 years: a cost-of-illness study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(6):423–430. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30097-9
11. Быков Ю.В., Батуринов В.А. Когнитивные нарушения при сахарном диабете 1 типа. *Сиб. науч. мед. ж.* 2023;43(1):4–12. doi: 10.18699/SSMJ20230101
- Bykov Yu.V., Baturin V.A. Cognitive impairment in type 1 diabetes mellitus. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(1):4–12. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230101
12. Быков Ю.В. Диабетический кетоацидоз у детей и подростков: от патофизиологии до профилактики. *Забайк. мед. вестн.* 2021;(2):85–95. doi: 10.52485/19986173_2021_2_85
- Bykov Yu.V. Diabetic ketoacidosis in children and adolescents: from pathophysiology to prevention. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik = The Transbaikal Medical Bulletin*. 2021;(2):85–95. [In Russian]. doi: 10.52485/19986173_2021_2_85
13. Yaribeygi H., Sathyapalan T., Atkin S.L., Sahebkar A. Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2020;2020:8609213. doi: 10.1155/2020/8609213
14. Yaribeygi H., Farrokhi F.R., Butler A.E., Sahebkar A. Insulin resistance: review of the underlying molecular mechanisms. *J. Cell. Physiol*. 2019;234(6):8152–8161. doi: 10.1002/jcp.27603
15. Ziegler R., Neu A. Diabetes in childhood and adolescence. *Dtsch. Arztebl. Int*. 2018;115(9):146–156. doi: 10.3238/arztebl.2018.0146
16. Otal Y., Kahraman F.A., Haydar F.G., Erel Ö. Dynamic thiol/disulfide homeostasis as oxidative stress marker in diabetic ketoacidosis. *Turk. J. Med. Sci*. 2021;51(2):743–748. doi: 10.3906/sag-1904-55
17. Быков Ю.В., Батуринов В.А. Патофизиологические механизмы отека головного мозга при диабетическом кетоацидозе в детской практике. *Медицина*. 2021;(1):116–127. doi: 10.29234/2308-9113-2021-9-1-116-127
- Bykov Yu.V., Baturin V.A. Pathophysiological mechanisms of cerebral edema in diabetic ketoacidosis in children's practice. *Meditsina = Medicine*. 2021;(1):116–127. [In Russian]. doi: 10.29234/2308-9113-2021-9-1-116-127
18. Misra S., Oliver N.S. Diabetic ketoacidosis in adults. *BMJ*. 2015;351:h5660. doi: 10.1136/bmj.h5660
19. Aldhaefi M., Aldardeer N.F., Alkhani N., Alqarni S.M., Alhammad A.M., Alshaya A.I. Updates in the management of hyperglycemic crisis. *Front. Clin. Diabetes Healthc*. 2022;2:820728. doi: 10.3389/fcdhc.2021.820728
20. Barski L., Golbets E., Jotkowitz A., Schwarzfuchs D. Management of diabetic ketoacidosis. *Eur. J. Intern. Med*. 2023;S0953–6205(23)00231-5. doi: 10.1016/j.ejim.2023.07.005
21. Mays J.A., Jackson K.L., Derby T.A., Behrens J.J., Goel S., Molitch M.E., Kho A.N., Wallia A. An evaluation of recurrent diabetic ketoacidosis, fragmentation of care, and mortality across Chicago, Illinois. *Diabetes Care*. 2016;39(10):1671–1676. doi: 10.2337/dc16-0668
22. Rugg-Gunn C.E., Deakin M., Hawcutt D.B. Update and harmonisation of guidance for the management of diabetic ketoacidosis in children and young people in the UK. *BMJ Paediatr. Open*. 2021;5(1):e001079. doi: 10.1136/bmjpo-2021-001079
23. Karslioglu French E., Donihi A.C., Korytkowski M.T. Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic syndrome: review of acute decompensated diabetes in adult patients. *BMJ*. 2019;365:l1141. doi: 10.1136/bmj.l1114
24. Fayfman M., Pasquel F.J., Umpierrez G.E. Management of hyperglycemic crises. *Med. Clinics. North. Am*. 2017;101(3):587–606. doi: 10.1016/j.mena.2016.12.011
25. Inci K., Gokcen T., Aylin B., Serdar U. Acute hyperglycemia causes oxidative stress which is prevented by vitamin E pretreatment in healthy rabbits. *Journal of Research in Pharmacy*. 2022; 26(3):534–542. doi:10.29228/jrp.150
26. Asmat U., Abad K., Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise review. *Saudi Pharm. J*. 2016;24(5):547–553. doi: 10.1016/j.jsps.2015.03.013
27. Yaribeygi H., Farrokhi F.R., Rezaee R., Sahebkar A. Oxidative stress induces renal failure: a review of possible molecular pathways. *J. Cell. Biochem*. 2018;119(4):2990–2998. doi: 10.1002/jcb.26450
28. Rajlic S., Treede H., Münzel T., Daiber A., Durr G.D. Early detection is the best prevention-characterization of oxidative stress in diabetes mellitus and its consequences on the cardiovascular system. *Cells*. 2023;12(4):583. doi: 10.3390/cells12040583
29. Nowotny K., Jung T., Höhn A., Weber D., Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*. 2015;5(1):194–222. doi: 10.3390/biom5010194
30. Halliwell B., Gutteridge J.M. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 2015. 896 p.
31. Sindhu S., Akhter N., Kochumon S., Thomas R., Wilson A., Shenouda S., Tuomilehto J., Ahmad R. Increased expression of the innate immune receptor

TLR10 in obesity and type-2 diabetes: association with ROS-mediated oxidative stress. *Cell. Physiol. Biochem.* 2018;45(2):572–590. doi: 10.1159/000487034

32. Ghasemi M., Amini-Khoei H., Lorigooini Z., Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2020;13(10):431–438. doi: 10.4103/1995-7645.291036

33. Tibaut M. Oxidative stress genes, antioxidants and coronary artery disease in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc. Agent. Med. Chem.* 2016;14(1):23–38. doi: 10.2174/1871525714666160407143416

34. Kanikarla-Marie P., Jain S.K. Hyperketonemia and ketosis increase the risk of complications in type 1 diabetes. *Free Radic. Biol. Med.* 2016;95:268–277. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.020

35. Yazıcı M.U., Ayar G., Savas-Erdeve S., Aza-pağası E., Neşelioğlu S., Erel Ö., Çetinkaya S. Role of ischemia modified albumin serum levels as an oxidative stress marker in children with diabetic ketoacidosis. *Comb. Chem. High. Throughput. Screen.* 2019;22(8):577–581. doi: 10.2174/1386207322666191008214919

36. Muriach M., Flores-Bellver M., Romero F.J., Barcia J.M. Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014;2014:102158. doi: 10.1155/2014/102158

37. Jha J.C., Banal C., Chow B.S.M., Cooper M.E., Jandeleit-Dahm K. Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress. *Antioxid. Redox. Signal.* 2016;25(1):657–684. doi: 10.1089/ars.2016.6664

38. Li J., Huang M., Shen X. The association of oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in diabetic patients with hyperglycemic crisis. *J. Diabetes Complications.* 2014;28(5):662–666. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2014.06.008

39. Glaser N., Chu S., Weiner J., Zdepski L., Wulff H., Tancredi D., O'Donnell M.E. Acute and chronic neuroinflammation is triggered by diabetic ketoacidosis in a rat model. *BMJ Open Diabetes Res. Care.* 2020;8(2):e001793. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001793

40. Li J., Pan L., Pan W., Li N., Tang B. Recent progress of oxidative stress associated biomarker detection. *Chem. Commun. (Camb).* 2023;59(48):7361–7374. doi: 10.1039/d3cc00878a

41. Sehgal M., Batra M., Jha P., Sanchez O. Risk factors and laboratory findings associated with diabetic ketoacidosis in hospitalized pediatric patients. *Cureus.* 2022;14(5):e25410. doi: 10.7759/cureus.25410

42. Paoli A., Cerullo G. Investigating the link between ketogenic diet, NAFLD, mitochondria, and oxidative stress: a narrative review. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(5):1065. doi: 10.3390/antiox12051065

43. Быков Ю.В., Батурин В.А., Волков Е.В. Уровень аутоантител к дофаминовым и NMDA рецепторам у детей в зависимости от степени тяжести диабетического кетоацидоза. *Забайк. мед. вестн.* 2022;(3):18–26. doi: 10.52485/19986173_2022_3_18

Bykov Yu.V., Baturin V.A., Volkov E.V. Levels of autoantibodies against dopamine and NMDA receptors in children depending on the severity of diabetic ketoacidosis. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik = The Transbaikal Medical Bulletin.* 2022;(3):18–26. [In Russian]. doi: 10.52485/19986173_2022_3_18

44. Chowdhury S., Ghosh S., Das A.K., Sil P.C. Ferulic acid protects hyperglycemia-induced kidney damage by regulating oxidative insult, inflammation and autophagy. *Front. Pharmacol.* 2019;10:27. doi: 10.3389/fphar.2019.00027

45. Chen M.Y., Meng X.F., Han Y.P., Yan J.L., Xiao C., Qian L.B. Profile of crosstalk between glucose and lipid metabolic disturbance and diabetic cardiomyopathy: Inflammation and oxidative stress. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2022;13:983713. doi: 10.3389/fendo.2022.983713

46. Rains J.L., Jain S.K. Effect of hyperketonemia (Acetoacetate) on nuclear factor-kappaB and p38 mitogen-activated protein kinase activation mediated intercellular adhesion molecule 1 upregulation in endothelial cells. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* 2015;13:71–77. doi: 10.1089/met.2014.0101

47. Hoffman W.H., Ishikawa T., Blum J., Tani N., Ikeda T., Artlett C.M. Soluble receptor for glycation end-products concentration increases following the treatment of severe diabetic ketoacidosis. *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* 2020;12(2):160–167. doi: 10.4274/jcrpe.galenos.2019.2019.0076

48. Singh A., Kukreti R., Saso L., Kukreti S. Mechanistic insight into oxidative stress-triggered signaling pathways and type 2 diabetes. *Molecules.* 2022;27(3):950. doi: 10.3390/molecules27030950

49. de Paula M.L.A., Rodrigues Villela A.M., Negri M.M., Kanaan S., de Carvalho Cardoso Weide L. Role of advanced glycation end products related to the onset of diabetic kidney disease complications. *Clin. Biomed. Res.* 2017;37(4):341–348.

50. Ighodaro O.M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus *Biomed. Pharmacother.* 2018;108:656–662. doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.058

51. Twarda-Clapa A., Olczak A., Białkowska A.M., Koziółkiewicz M. Advanced glycation end-products (AGEs): formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs. *Cells.* 2022;11(8):1312. doi: 10.3390/cells11081312

52. Gopalakrishna K., McNeill T.H., Elhiani A.A., Gundimeda U. Methods for studying oxidative regulation of protein kinase C. *Methods. Enzymol.* 2013;528:79–98. doi: 10.1016/B978-0-12-405881-1.00005-7

53. Lien C.F., Chen S.J., Tsai M.C., Lin C.S. Potential role of protein kinase C in the pathophysiology of diabetes-associated atherosclerosis. *Front. Pharmacol.* 2021;12:716332. doi: 10.3389/fphar.2021.716332

54. Behl T., Kaur I., Kotwani A. Implication of oxidative stress in progression of diabetic retinopathy.

Surv. Ophthalmol. 2016;61(2):187–196. doi: 10.1016/j.survophthal.2015.06.001

55. Yan L.J. Redox imbalance stress in diabetes mellitus: Role of the polyol pathway. *Animal Model Exp. Med.* 2018;1(1):7–13. doi: 10.1002/ame2.12001

56. Kilanczyk E., Saraswat Ohri S., Whittemore S.R., Hetman M. Antioxidant protection of

NADPH-depleted oligodendrocyte precursor cells is dependent on supply of reduced glutathione. *ASN Neuro.* 2016;8(4):1759091416660404. doi: 10.1177/1759091416660404

Сведения об авторе:

Быков Юрий Витальевич, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4705-3823, e-mail: yubikov@gmail.com

Information about the author:

Yuri V. Bykov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4705-3823, e-mail: yubikov@gmail.com

Поступила в редакцию 21.05.2023

После доработки 08.09.2023

Принята к публикации 06.10.2023

Received 21.05.2023

Revision received 08.09.2023

Accepted 06.10.2023

Взаимосвязь сосудистой кальцификации, остеопороза и системного воспаления

К.А. Ничипорук¹, С.Ю. Царенок¹, В.В. Горбунов¹, Н.А. Ильямакова², Т.А. Аксенова¹

¹ Читинская государственная медицинская академия Минздрава России

672000, г. Чита, ул. Горького, 39а

² Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Чита

672039, г. Чита, ул. Ленина, 4

Резюме

Сосудистая кальцификация часто встречается у пациентов с коронарной болезнью сердца и сопровождается неблагоприятными кардиоваскулярными событиями. В обзоре литературы отражены современные представления о взаимосвязи остеопороза, сосудистого кальциноза и системного воспаления. Обсуждаются общие патогенетические механизмы снижения минеральной плотности кости и развития сосудистой кальцификации. Несмотря на растущее число исследований, касающихся сочетанной патологии сердечно-сосудистой и костной систем, в настоящее время пока не установлена причинно-следственная связь между сосудистой кальцификацией и снижением костной массы. Кроме этого на сегодняшний день в литературе недостаточно данных о влиянии системного воспаления на процессы кальцификации. В настоящем обзоре на основе анализа имеющихся клинических и экспериментальных исследований описаны главные патогенетические механизмы сосудистой кальцификации при коронарном атеросклерозе. Обсуждаются вопросы влияния препаратов кальция и витамина D на развитие сосудистой кальцификации, а также ранние и отдаленные последствия чрескожного коронарного вмешательства и коронарного шунтирования у пациентов с наличием сосудистого кальциноза.

Ключевые слова: коронарный атеросклероз, остеопороз, минеральная плотность кости, эктопическая кальцификация, сосудистый кальциноз, воспаление.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Ничипорук К.А., e-mail: ksenya.nichiporuk.98@mail.ru

Для цитирования: Ничипорук К.А., Царенок С.Ю., Горбунов В.В., Ильямакова Н.А., Аксенова Т.А. Взаимосвязь сосудистой кальцификации, остеопороза и системного воспаления. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):14–23. doi: 10.18699/SSMJ20230602

Relationship between vascular calcification, osteoporosis and systemic inflammation

K.A. Nichiporuk¹, S.Yu. Tsarenok¹, V.V. Gorbunov¹, N.A. Ilyamakova², T.A. Aksenova¹

¹ Chita State Medical Academy of Minzdrav of Russia

672000, Chita, Gorkogo st., 39a

² Clinical Hospital "RR-Medicine" of Chita

672039, Chita, Lenina st., 4

Abstract

A lot of patients with coronary heart disease often suffer from vascular calcification. In many cases it is accompanied by harmful cardiovascular events. The modern ideas of the relationship between osteoporosis, vascular calcification and inflammation, the general mechanisms of development of vascular calcification and low bone mineral density are discussed. Despite a growing number of studies concerning the combined pathology of the cardiovascular and skeletal systems, a causal relationship between vascular calcification and a decrease in bone mass has not yet been established. Moreover, there is insufficient data on the effect of inflammation on ectopic calcification. Based on the analysis of available clinical and experimental studies, this review describes the main pathogenetic mechanisms of vascular calcification in coronary atherosclerosis. The influence of calcium and vitamin D medicines on the development of vascular calcification is discussed in this article. The author's attention is focused on early and long-term consequences of percutaneous coronary intervention and coronary bypass surgery in patients with vascular calcification.

Key words: coronary atherosclerosis, osteoporosis, bone mineral density, ectopic calcification, vascular calcification, inflammation.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Nichiporuk K.A., e-mail: ksenya.nichiporuk.98@mail.ru

Citation: Nichiporuk K.A., Tsarenok S.Yu., Gorbunov V.V., Ilyamakova N.A., Aksenova T.A. Relationship between vascular calcification, osteoporosis and systemic inflammation. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):14–23. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230602

Введение

В последние годы исследователи уделяют большое внимание проблеме влияния остеопороза на течение сердечно-сосудистых заболеваний. Особенностью пациентов с остеопорозом является развитие атеросклероза с более выраженной степенью кальцификации, чем, вероятно, обусловлена высокая частота сердечно-сосудистых осложнений у таких больных [1]. Так, в исследовании F. Bastos Gonçalves et al. доказано, что отложение кальция в стенках аорты связано с увеличением числа остеопоротических переломов и остеопорозом [2], в то время как кальциноз коронарных артерий у лиц с нормальной минеральной плотностью кости (МПК) встречается реже, чем у пациентов со сниженной МПК [3, 4]. В настоящее время окончательно не определена патогенетическая взаимосвязь между процессами кальцификации сосудистой стенки и уменьшением степени минерализации костей. Кальцификат сосудистой стенки содержит компоненты, схожие с представленными в костной ткани, такие как I тип коллагена, гидроксиапатиты, соединения кальция, костные морфогенетические белки и т.д. [5]. В процессах ремоделирования костной ткани и кальцификации сосудистой стенки принимают участие одинаковые регуляторные молекулы, микроэлементы и сложные органические соединения (липопротеиды, белки). Наряду с нарушением ремоделирования костной ткани обсуждается роль системного и локального воспаления в механизмах перехода кальция из костной ткани в сосудистую. Однако существует и обратное взаимодействие эктопической сосудистой кальцификации и нарушениями минерализации костей: при нарастании отложения кальцификатов в стенке сосудов снижается кровоснабжение костей на фоне сопутствующего ограничения физической активности, что в совокупности приводит к возникновению и прогрессированию костно-метаболических нарушений [6]. Таким образом, изучение механизмов развития эктопической сосудистой кальцификации и остеопороза будет определять перспективы новых терапевтических подходов, способных скорректировать эти процессы одновременно, а значит, и предотвратить развитие сердечно-сосудистых осложнений.

Целью настоящего обзора явился анализ литературных данных и установление патогенетических механизмов эктопической кальцификации при коронарном атеросклерозе на основе данных экспериментальных, клинических исследований, систематических обзоров и метаанализов. Представленные в нем сведения позволят специалистам терапевтического профиля познакомиться с актуальной информацией по вопросам взаимосвязи сосудистой кальцификации с воспалением и нарушениями костно-минерального обмена.

Выполнен поиск и анализ публикаций баз данных PubMed, Web of Science, Cochrane Library, eLibrary.ru по ключевым словам «коронарный атеросклероз», «остеопороз», «минеральная плотность кости», «эктопическая кальцификация», «сосудистый кальциноз». Глубина поиска составила 30 лет. Значимость давних публикаций обусловлена отсутствием подобных исследований в последние 10 лет, а также весомостью полученных в них результатов.

Остеопороз и атеросклероз, являясь самостоятельными заболеваниями, имеют множество общих патогенетических звеньев. Большое количество публикаций посвящено их ассоциации, а именно механизмам кальцификации стенки сосудов во взаимосвязи с нарушениями в костно-минеральном обмене. В метаанализе, включившем 25 исследований с участием 10299 пациентов, установлено, что по мере снижения МПК возрастала частота любых атеросклеротических изменений в сосудах. Аналогичные результаты наблюдались у женщин в постменопаузе [7]. Пациенты, перенесшие инфаркт миокарда (ИМ), демонстрируют снижение МПК [8].

Т.А. Раскина и соавт., исследуя 74 мужчин в возрасте от 50 до 73 лет с ИБС, выявили зависимость между костными минеральными нарушениями и степенью развития атеросклероза коронарных артерий (по шкале SYNTAX). У 71,6 % мужчин с ИБС обнаружена остеопения. Одно- или двухсосудистое поражение коронарных артерий чаще наблюдалось у пациентов с нормальной МПК, а трехсосудистое – при ее значительном уменьшении. Степень поражения коронарных артерий была обусловлена величиной кальциевого индекса. Исследователями сделан вывод о том, что низкая МПК у

мужчин ассоциируется с развитием более тяжелого поражения коронарных сосудов [9].

В исследовании О.Л. Барбараш и соавт., включавшем 112 мужчин в возрасте от 55 до 70 лет со стабильной ИБС, проводилась оценка показателей метаболизма костной ткани в зависимости от выраженности остеопороза и степени сосудистой кальцификации. 90 пациентов имели признаки остеопенического синдрома: у 34 из них выявлен остеопороз, у 56 – остеопении. По мнению авторов, многососудистое поражение коронарных артерий с наличием выраженного кальциноза ассоциировано со снижением МПК. Уменьшение содержания катепсина К и остеопротегерина (OPG) отмечалось у пациентов с наличием выраженного кальциноза коронарных артерий [10].

Данные о взаимосвязи тяжести поражения артерий с нарушениями МПК имеются и в отношении некоронарного кальциноза [11]. Так, в метаанализе D. Wei et al. продемонстрирована ассоциация высокого риска остеопоротических переломов проксимального отдела бедра и кальцификации брюшной части аорты [12].

Основные патогенетические механизмы сосудистой кальцификации и остеогенеза

На вопрос, почему у пациентов с остеопорозом повышается частота сосудистой кальцификации и связанных с ней сердечно-сосудистых осложнений, имеется ряд предположений. Одно из них касается раскрытия общности патогенеза остеопороза и атеросклероза, кроме того, установлены перекрестные факторы риска для обоих патологических состояний, к которым в настоящее время отнесены наступление менопаузы, возраст, курение, расстройства метаболизма, системное воспаление, снижение физической активности, хроническая болезнь почек со значимым снижением скорости клубочковой фильтрации, дефицит витаминов D и K [6]. Кроме этого, доказано, что отложение кальция в сосудах является активным процессом, имеющим сходство с остеогенезом. Для более полного понимания вопроса рассмотрим некоторые патогенетические механизмы сосудистой кальцификации и формирования костной ткани.

Сосудистый кальцификат включает в себя макроэлементы и сложные органические соединения, содержащиеся в костной ткани: остеопротегерин, кальций, коллаген первого типа и т.д. [13, 14]. Накапливаясь в сосудистых гладкомышечных клетках (ГМК) бляшки, они индуцируют остеогенную дифференцировку клеток. На дифференцировку ГМК в остеогенном направлении влияют и такие провоспалительные и проатерогенные факторы, как трансформирующий фактор

роста-бета, фосфаты, витамин D. Ингибитором кальцификации стенки сосудов является гликопротеин остеопонтин, который вступает во взаимодействие с гидроксиапатитом и препятствует образованию кристаллов [15].

Для более полного понимания развития сосудистой кальцификации рассмотрим подробнее патогенетические механизмы кальциноза сосудов. В зависимости от локализации выделяют кальцификацию интимы и меди артерий. Первая сопровождается развитием воспалительной реакции, а накопление окисленных липопротеинов низкой плотности способствует проникновению в интиму артерий иммунокомпетентных клеток – моноцитов и Т-хелперов, что приводит к активации макрофагов и ГМК и перемещению последних в место образования бляшки. Активированные макрофаги выделяют ряд провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α), которые способствуют повышению уровня металлопротеиназ, обладающих катаболическим действием на соединительно-тканые белковые структуры. Их разрушение может приводить к разрыву бляшки, и, как следствие, к тромбообразованию в сосуде. Процессы отложения кальция в меди сосуда не сопровождаются воспалением и приводят к концентрическому сужению просвета артерии. При этом выраженность кальцификации обусловлена активностью ингибирующих субстанций, синтезирующихся ГМК средней оболочки артерий. К таким соединениям можно отнести пирофосфаты, остеопонтин и т.д. В результате дефицита ингибиторов происходит кальцификация сосудов, при этом содержания кальция и фосфатов в крови может быть нормальным [16].

Установлено, что выраженную кальцификацию меди обуславливает недостаточность нуклеотидпирофосфатазы. Это можно объяснить тем, что пирофосфаты, как и остеопонтин, препятствуют образованию солей гидроксиапатита. При дефиците матриксного гамма-карбоксиглутамат-содержащего белка происходит активация сосудистой кальцификации за счет дифференцировки сосудистых ГМК до остеогенного ряда.

Рассматривая механизмы патогенеза эктопической сосудистой кальцификации, невозможно не упомянуть о роли лиганд-рецепторной системы RANK/RANKL/OPG. OPG, относящийся к суперсемейству рецепторов ФНО-α, является своего рода «ловушкой» для лиганда рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL). Препятствуя его связыванию с RANK, OPG угнетает дифференцировку и активацию клеток остеокластов и активирует их апоптоз [17]. RANKL, будучи ключевым активатором остеокластической популяции клеток, усиливает процессы резорбции

кости и благоприятствует процессам сосудистой кальцификации. Так, установлено, что RANKL способствует прогрессированию кальцификации в ГМК сосудов: связываясь с RANK, он усиливает выработку белка морфогенеза костей 4-го типа в ГМК сосудов, что запускает их кальцификацию. OPG, блокируя взаимодействие RANKL с RANK, препятствует сосудистой кальцификации [18].

Среди российских публикаций встречаются единичные работы, посвященные изучению участия системы OPG/RANKL в формировании сосудистой кальцификации. В исследовании М.В. Ярославцевой и соавт. было включено 79 человек, возраст и пол не учитывались при анализе. У 20 участников установлена клинически выраженная диабетическая нейропатия и кальциноз меди артерий нижних конечностей, вторую группу составили 29 пациентов с облитерирующим атеросклерозом в сочетании с сахарным диабетом, контрольную – 30 человек, не имеющих каких-либо нарушений в углеводном обмене. Достоверное повышение концентрации OPG выявлено у пациентов с сахарным диабетом, которое было максимальным у лиц с облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей. В группе больных с кальцинозом меди установлена отрицательная взаимосвязь между содержанием OPG и RANKL [19]. В этом же исследовании авторы выявили сверхэкспрессию RANKL и OPG в участках кальцинатов коронарных артерий. [20]. Таким образом, показано, что система OPG вовлечена в механизмы эктопической сосудистой кальцификации, однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Витамин D, атеросклероз и кальцификация артерий

Большое количество исследований посвящено влиянию витамина D на развитие сердечно-сосудистых заболеваний [21]. Доказано, что при нормальном уровне витамина D в сыворотке крови риск развития кардиоваскулярной патологии снижается на 33 % [23]. Рецепторы к витамину D обнаружены во многих органах и тканях, в частности, в сосудистых клетках и в миокарде. E. Giovannucci et al. подтвердили связь гиповитаминоза D с более высоким риском ИМ [23]. Гиповитаминоз D, являясь важнейшим фактором нарушения МПК, ассоциирован с высоким риском развития остеопении, в особенности среди пожилых пациентов. Установлена линейная зависимость между уровнем циркулирующего 5-гидроксивитамина D и МПК [24].

М. Verdoia et al. исследовали 1484 пациента, которым производилась коронарная ангиография. 70,4 % из них имели дефицит витамина D, большая часть были женщинами старшей возрастной

группы. Авторами сделан вывод, что содержание 25(OH)D имело обратную зависимость от уровня общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности. Гиповитаминоз D опосредованно, через нарушения липидного обмена, повышает риск развития ишемической болезни сердца, а также является прогностически неблагоприятным, утяжеляя течение данного заболевания [25].

М. Takeda et al. в исследовании на мышах показали, что пероральное введение активной формы витамина D ингибирует прогрессирование атеросклероза. Это происходит за счет нескольких возможных механизмов. Во-первых, кальцитриол способствует увеличению популяции регуляторных Т-лимфоцитов Foxp3⁺, во-вторых, ингибирует созревание дендритных клеток в атеросклеротических бляшках [26]. Антиатерогенный эффект регуляторных Т-лимфоцитов связан с ограничением активности эффекторных Т-лимфоцитов, для активации которых необходимы зрелые дендритные клетки. Снижение прогрессирования атеросклероза при использовании кальцитриола и его синтетического аналога парикальцитола показано и в исследованиях *in vitro* на макрофагах и ГМК [27]. ФНО-α и костный морфогенный белок-2, высвобождаясь при активации макрофагов, способствуют отложению кальция в сосудистой стенке. Кальцитриол, в свою очередь, способствует уменьшению продукции факторов-активаторов кальцификации, одновременно увеличивая уровень матриксного гамма-карбоксиглутамат-содержащего белка, остеоопонтина, ингибирующих кальцификацию [28].

Кальций и сосудистая кальцификация

Препараты кальция и витамина D являются необходимыми компонентами любой схемы лечения остеопороза. Учитывая, что имеются данные как о положительном, так и об отрицательном воздействии препаратов кальция на сердечно-сосудистую систему, их назначение у пациентов с повышенным сердечно-сосудистым риском должно быть весьма осторожным. В последнее время особое внимание уделяется взаимосвязи использования препаратов кальция с последующим развитием эктопической кальцификации.

Существуют данные, что повышение сердечно-сосудистого риска связано с приемом кальцийсодержащих препаратов. Особый интерес представляет метаанализ, включающий 15 слепых рандомизированных контролируемых исследований, с участием 12000 пациентов в возрасте старше 40 лет, по результатам которого вероятность ИМ повышалась при приеме препаратов кальция в дозе 500 мг/сут без витамина D. Риск развития инсульта или внезапной смерти при

этом оставался на прежнем уровне [29]. В одном из исследований, результаты которого представлены в данном метаанализе, выяснено, что причиной повышения риска развития ИМ является гиперкальциемия, повлекшая развитие сосудистой кальцификации [29].

Воспаление и кальциноз коронарных артерий

Отложение кальция в стенке сосудов представляет собой сложный многофакторный процесс, важная роль в котором, помимо снижения МПК, отводится нарушению липидного, углеводного обменов, в частности, гипергликемии и гиперлипидемии, а также воспалению [30]. Особый интерес представляют исследования о взаимосвязи воспаления и сосудистой кальцификации, которая начинается именно в очагах воспаления, что может объясняться локальным уменьшением плотности коллагеновых волокон на данных участках. Степень и обратимость поражения стенки сосудов зависят от баланса про- и противовоспалительных факторов, таких как интерлейкины, интерфероны, колониестимулирующие факторы, факторы некроза опухоли [31–34]. При инфильтрации в бляшку макрофаги и лимфоциты продуцируют цитокины, под действием которых происходит гибель ГМК или их дифференцировка в остеогенном направлении. Кальций, высвобождающийся в результате апоптоза, способствует формированию очага микрокальцификации, а активное воспаление в бляшке делает ее более нестабильной [35, 36]. В результате слияния участков микрокальцификации образуются очаги макрокальцификации, что позволяет бляшке быть более устойчивой к повреждению [37]. Макрофаги под действием частиц фосфата кальция высвобождают ФНО- α , который с помощью своего рецептора TNFR1 усиливает кальцификацию [38], а также способствует остеогенной дифференцировке ГМК [39]. Согласно данным Y. Tintut et al., введение мышам ФНО- α способствует развитию сосудистой кальцификации [40].

ИЛ-1 β также индуцирует сосудистую кальцификацию [41]. ИЛ-37, недавно обнаруженный член семейства ИЛ-1, считается противовоспалительным цитокином. В исследовании M. Chai et al. с участием 200 пациентов в возрасте до 80 лет с клиническими проявлениями ИБС установлено повышение содержания ИЛ-37 у лиц с тяжелой коронарной кальцификацией (индекс Агастона > 400); различия по полу и возрасту отсутствовали. По мнению авторов, экспрессия ИЛ-37 может быть вызвана активацией воспаления и высокий уровень ИЛ-37 может стать предиктором тяжелого коронарного кальциноза [42]. Особый интерес представляет метаанализ, включивший

12 исследований. В работах было рассмотрено участие в сосудистой кальцификации факторов воспаления, таких как высокочувствительный С-реактивный белок, матриксная металлопротеиназа-9, моноцитарный хемотаксический белок-1, липопротеин-ассоциированная фосфолипаза A2, ИЛ-6, ФНО- α , основной фактор роста фибробластов. В большинстве исследований корреляционная связь была слабой и нивелировалась после учета факторов кардиоваскулярного риска и индекса массы тела [43].

У здоровых женщин среднего возраста выполнен анализ влияния концентрации высокочувствительного С-реактивного белка, циркулирующего фактора VII, фибриногена, ингибитора активатора плазминогена-1 на развитие атерокальциноза. Авторами продемонстрировано, что только последний способствует накоплению коронарного кальция [44].

Несмотря на установленную зависимость между концентрацией провоспалительных биомаркеров и развитием сосудистой кальцификации, данные некоторых исследований весьма противоречивы. Так, согласно данным N.C. Wang et al., уровень провоспалительных цитокинов, таких как моноцитарный хемотаксический фактор-1 и ИЛ-8, выше в некальцифицированных бляшках в сравнении с кальцифицированными, а содержание белка морфогенеза костей 6-го типа и остеокальцина – меньше. Это позволяет предположить, что снижение выраженности воспаления наблюдается по мере усиления кальцификации [45].

M.J. Budoff et al. пришли к выводу, что развитие коронарной кальцификации прогрессирует на 22–54 % в год [46]. По мнению авторов, усугубление атерокальциноза связано с провоспалительным эффектом солей кальция, а также их иницирующим влиянием на дальнейшее отложение ионов кальция в сосудистой стенке. Вместе с тем активность иммунного воспаления в коронарных сосудах снижается по мере возрастания степени кальцификации [47].

Чрескожное коронарное вмешательство у пациентов с кальцинозом коронарных артерий

Реваскуляризация у лиц с выраженным кальцинозом коронарных артерий технически сложно осуществима. При выполнении чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) у данной когорты пациентов чаще наблюдаются ранние и отдаленные сердечно-сосудистые осложнения, такие как рестеноз и тромбоз стента [48]. Выполнение ангиопластики у больных с сосудистой кальцификацией не рекомендовано из-за угрозы развития интраоперационных осложнений [49].

Высокая частота диссекции коронарных артерий, острой окклюзии сосуда, развитие рестенозов в последующем могут быть объяснены тем, что из-за различной степени кальциноза давление, которое баллон при раздувании оказывает на сосудистую стенку, часто оказывается неравномерным, что влечет за собой возникновение неблагоприятных последствий [50]. Кроме этого доказано, что развитие перипроцедурного ИМ чаще происходит у пациентов с выраженным кальцинозом коронарных артерий, что может быть обусловлено эмболизацией сосудов. [51].

Согласно исследованиям I. Moussa et al., у пациентов с коронарным кальцинозом наиболее эффективным является использование стентов с лекарственным покрытием, в этом случае частота развития рестеноза стента в течение первого года после ЧКВ уменьшается на 56 % [52]. Установлено более частое развитие рестеноза и впоследствии проведение повторной реваскуляризации у пациентов с кальцинозом коронарных артерий по сравнению с лицами без коронарной кальцификации [53]. Кроме этого опасность развития феномена «no-reflow», тромбоза, формирования перипроцедурного ИМ значительно выше у пациентов с коронарным кальцинозом, перенесших ротационную атерэктомию [54].

Коронарный кальциноз и операция коронарного шунтирования

Учитывая, что ЧКВ у пациентов с коронарным кальцинозом сопряжено с развитием ряда осложнений, наиболее оптимальным методом лечения этой категории больных считается коронарное шунтирование (КШ). В настоящее время имеются единичные оригинальные исследования, касающиеся прогностического значения коронарного кальциноза для перенесших КШ. Согласно исследованию M.T. Castagna et al., кальцификация аутовенозных шунтов наиболее часто развивалась у пациентов с исходным кальцинозом коронарных артерий [55]. В другом исследовании проводилось наблюдение за 755 больными острым коронарным синдромом в течение года после проведенного КШ. Годичная смертность у пациентов с выраженным кальцинозом была на 8,1 и 7,3 % больше, чем у пациентов с умеренным поражением сосудистой стенки и с отсутствующим кальцинозом соответственно [56].

C.V. Bourantas et al. установили, что в группе из 548 пациентов со значительной кальцификацией коронарных артерий смертность в течение пяти лет после КШ была значительно выше, чем в группе из 997 человек с отсутствием выраженного коронарного кальциноза (соответственно 17,1 и 9,9 %) [57]. Интересны результа-

ты недавнего проспективного исследования 462 пациентов, которым было выполнено плановое КШ, из них кальциноз целевых коронарных артерий отмечался у 108, у 354 пациентов кальциноз в шунтируемых сосудах отсутствовал. Группы пациентов были сопоставимы по возрасту и полу. При сравнении интраоперационных и ранних послеоперационных показателей авторами сделан вывод, что при кальцинозе шунтируемых сосудов частота применения сложных хирургических вмешательств, таких как Y-конструкция, секвенциальные анастомозы, пролонгированная шунт-пластика, эндартерэктомия из коронарных артерий, значительно выше. Значимых различий в течение раннего послеоперационного периода не зарегистрировано: в обеих группах летальность отсутствовала, частота периоперационного ИМ была сходной, потребность в инотропной поддержке, частота развития нарушений ритма сердца существенно не различались, рецидива стенокардии в госпитальный период не отмечено [58].

Заключение

Данные многих исследований патогенетических механизмов эктопической кальцификации весьма неоднозначны. Работы авторов до начала 2000-х годов демонстрируют проблему отложения кальция в сосудистой стенке в основном с позиций ее взаимосвязи со снижением костной массы. Данная точка зрения подтверждается и в последующем десятилетии. В последние годы появляется все больше исследований, касающихся ассоциации сосудистой кальцификации с процессами системного воспаления. Это может быть связано с открытием новых про- и противовоспалительных цитокинов, а также с изучением их роли в формировании сосудистого кальциноза.

Таким образом, можно сказать о том, что требуется продолжить исследования механизмов эктопической кальцификации. Нельзя исключить взаимодействие между резорбцией кости и отложением кальция в стенки сосудов, которые происходят под влиянием сопряженных факторов. Кроме того, накопленные на сегодняшний день данные позволяют говорить о коморбидности и патогенетической взаимосвязи нарушений костно-минерального обмена и эктопической сосудистой кальцификации. Учитывая, что в любой схеме лечения остеопороза присутствуют препараты кальция и витамина D, нельзя не сказать об их влиянии на процессы сосудистой кальцификации.

Доказано, что прием кальцийсодержащих добавок без витамина D ассоциирован с потенциальным повышением сердечно-сосудистого риска. Гиперкальциемия, развивающаяся при их приеме, способствует сосудистой кальцифика-

ции. Препараты витамина D при этом препятствуют прогрессированию атеросклероза, ингибируя отложение кальция в сосудистой стенке. Несмотря на данные исследований, этот вопрос остается недостаточно изученным. В литературе имеются данные о взаимосвязи сосудистой кальцификации и воспаления, однако они весьма противоречивы, что также требует дальнейшего изучения. Доказано, что кальциноз коронарных артерий часто встречается у больных коронарной болезнью сердца и ассоциируется с большими кардиоваскулярными событиями и неблагоприятными исходами. Наличие сосудистой кальцификации является предиктором развития осложнений ЧКВ и связан с более неблагоприятными исходами стентирования. В связи с этим методом выбора лечения таких пациентов считается коронарное шунтирование.

Список литературы / References

1. Бланкова З.Н., Самсонова Н.С., Федотенков И.С., Шария М.А., Терновой С.К., Орловский А.А., Свирида О.Н., Агеев Ф.Т. Взаимосвязь артериальной жесткости с кальцинозом коронарных артерий и аорты у пациентов высокого сердечно-сосудистого риска со сниженной минеральной плотностью костной ткани. *Евраз. кардиол. ж.* 2019;(2S):292.
- Blankova Z.N., Samsonova N.S., Fedotenkov I.S., Sharia M.A., Ternovoy S.K., Orlovsky A.A., Svirida O.N., Ageev F.T. The relationship of arterial stiffness with calcification of the coronary arteries and aorta in patients at high cardiovascular risk with reduced bone mineral density. *Yevraziyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Eurasian Heart Journal*. 2019;(2S):292. [In Russian].
2. Bastos Gonçalves F., Voûte M.T., Hoeks S.E., Chonchol M.B., Boersma E.E., Stolker R.J., Verhaagen H.J. Calcification of the abdominal aorta as an independent predictor of cardiovascular events: a meta-analysis. *Heart*. 2012;98(13):988–994. doi: 10.1136/heartjnl-2011-301464
3. Marcovitz P.A., Tran H.H., Franklin B.A., O'Neill W.W., Yerkey M., Boura J., Kleerekoper M., Dickinson C.Z. Usefulness of bone mineral density to predict significant coronary artery disease. *Am. J. Cardiol*. 2005;96(8):1059–1063. doi: 10.1016/j.amjcard.2005.06.034
4. Hyder J.A., Allison M.A., Wong N., Papa A., Lang T.F., Sirlin C., Gapstur S.M., Ouyang P., Carr J.J., Criqui M.H. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study. *Am. J. Epidemiol*. 2009;169(2):186–194. doi:10.1093/aje/kwn303
5. Tintut Y., Demer L.L. Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. *Curr. Opin. Lipidol*. 2001;12(5):555–560. doi: 10.1097/00041433-200110000-00012
6. Скрипникова И.А., Абилова Е.С., Алиханова Н.А., Косматова О.В. Жесткость сосудов, кальцификация и остеопороз. Общие патогенетические компоненты. *Кардиоваскуляр. терапия и профилактика*. 2018;17(4):95–102. doi:10.15829/1728-8800-2018-4-95-102
- Skrpnikova I.A., Abirova E.S., Alikhanova N.A., Kosmatova O.V. Vessel stiffness, calcification and osteoporosis. Common pathogenetic components. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2018;17(4):95–102. [In Russian]. doi: 10.15829/1728-8800-2018-4-95-102
7. Ye C., Xu M., Wang S., Jiang S., Chen X., Zhou X., He R. Decreased bone mineral density is an independent predictor for the development of atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(5):e0154740. doi:10.1371/journal.pone.0154740
8. Magnus J.H., Broussard D.L. Relationship between bone mineral density and myocardial infarction in US adults. *Osteoporos Int*. 2005;16(12):2053–2062. doi:10.1007/s00198-005-1999-9
9. Малюта Е.Б., Раскина Т.А., Барбараш О.Л., Коков А.Н., Масенко В.Л., Воронкина В.А. Взаимосвязь между остеопеническим синдромом и заболеванием коронарных артерий у пациентов мужского пола с ишемической болезнью сердца. *Соврем. ревматол.* 2014;8(1):18–22. doi: 10.14412/1996-7012-2014-1-18-22
- Malyuta E.B., Raskina T.A., Barbarash O.L., Kokov A.N., Masenko V.L., Voronkina V.A. Relationship between the osteopenic syndrome and coronary artery disease in male patients with ischemic heart disease. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology Journal*. 2014;(1):18–22. [In Russian]. doi: 10.14412/1996-7012-2014-1-18-22
10. Барбараш О.Л., Лебедева Н.Б., Коков А.Н., Новицкая А.А., Хрячкова О.Н., Воронкина А.В., Раскина Т.А., Шибанова И.А. Связь биохимических маркеров метаболизма костной ткани, остеопенического синдрома и коронарного атеросклероза у мужчин со стабильной ишемической болезнью сердца. *Атеросклероз*. 2015;11(2):5–13.
- Barbarash O.L., Lebedeva N.B., Kokov A.N., Novitskaya A.A., Khryachkova O.N., Voronkina A.V., Raskina T.A., Shibanova I.A. The relationship of biochemical markers of bone metabolism, osteopenic syndrome and coronary atherosclerosis in men with stable coronary heart disease. *Ateroskleroz = Atherosclerosis*. 2015;11(2):5–13. [In Russian].
11. Rodríguez A.J., Scott D., Hodge A., English D.R., Giles G.G., Ebeling P.R. Associations between hip bone mineral density, aortic calcification and cardiac workload in community-dwelling older Australians. *Osteoporos Int*. 2017;28(7):2239–2245. doi: 10.1007/s00198-017-4024-1
12. Wei D., Zheng G., Gao Y., Guo J., Zhang T. Abdominal aortic calcification and the risk of bone frac-

- tures: a meta-analysis of prospective cohort studies. *J. Bone Miner. Metab.* 2018;36(4):439–446. doi: 10.1007/s00774-017-0849-0
13. Qiao J.H., Mishra V., Fishbein M.C., Sinha S.K., Rajavashisth T.B. Multinucleated giant cells in atherosclerotic plaques of human carotid arteries: Identification of osteoclast-like cells and their specific proteins in artery wall. *Exp. Mol. Pathol.* 2015;99(3):654–662. doi: 10.1016/j.yexmp.2015.11.010
14. Higgins C.L., Isbilir S., Basto P., Chen I.Y., Vaduganathan M., Vaduganathan P., Reardon M.J., Lawrie G., Peterson L., Morrisett J.D. Distribution of alkaline phosphatase, osteopontin, RANK ligand and osteoprotegerin in calcified human carotid atheroma. *Protein J.* 2015;34(5):315–318. doi: 10.1007/s10930-015-9620-3
15. Steitz S.A., Speer M.Y., McKee M.D., Liaw L., Almeida M., Yang H., Giachelli C.M. Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *Am. J. Pathol.* 2002;161(6):2035–2046. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64482-3
16. Doherty T.M., Fitzpatrick L.A., Inoue D., Qiao J.H., Fishbein M.C., Detrano R.C., Shah P.K., Rajavashisth T.B. Molecular, endocrine, and genetic mechanisms of arterial calcification. *Endocr. Rev.* 2004;25(4):629–672. doi: 10.1210/er.2003-0015
17. Вербовой А.Ф., Цанав И.А., Митрошина Е.В., Шаронова Л.А. Остеопротегерин – новый маркер сердечно-сосудистых заболеваний. *Терапевт. арх.* 2017;89(4):91–94.
- Verbovoy A.F., Tsanova I.A., Mitroshina E.V., Sharonova L.A. Osteoprotegerin is a new marker of cardiovascular diseases. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive.* 2017;89(4):91–94. doi: 10.17116/terarkh201789491-94.
18. Panizo S., Cardus A., Encinas M., Parisi E., Valcheva P., López-Ongil S., Coll B., Fernandez E., Valdivielso J.M. RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway. *Circ. Res.* 2009;104(9):1041–1048. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.189001
19. Ярославцева М.В., Ульянова И.Н., Галстян Г.Р. Система остеопротегерин (OPG) – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL) при диабетической нейроостеоартропатии и облитерирующем атеросклерозе артерий нижних конечностей. *Сак. диабет.* 2007;10(2):24–27. doi:10.14341/2072-0351-5792
- Yaroslavtseva M.V., Ulianova I.N., Galstian G.R. The osteoprotegerin system (OPG) is a ligand of the kappa-B nuclear factor activator receptor (RANKL) in diabetic neuroosteoarthropathy and obliterating atherosclerosis of the arteries of the lower extremities. *Sakharный diabet = Diabetes Mellitus.* 2007;10(2):24–28. [In Russian]. doi: 10.14341/2072-0351-5792
20. Ярославцева М.В., Ульянова И.Н., Галстян Г.Р., Ильин А.В., Никанкина Л.В., Ремизов О.В. Состояние системы остеопротегерин (OPG) – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL) у пациентов с диабетической остеоартропатией и медиакальцинозом артерий нижних конечностей. *Остеопороз и остеопатии.* 2008;11(1):9–13. doi: 10.14341/osteo200819-13
- Yaroslavtseva M.V., Ulyanova I.N., Galstyan G.R., Ilyin A.V., Nikankina L.V., Remizov O.V. The state of the osteoprotegerin (OPG) system is the ligand of the kappa-b nuclear factor activator receptor (RANKL) in patients with diabetic osteoarthropathy and media-calcinosis of the arteries of the lower extremities. *Osteoporoz i osteopatii = Osteoporosis and Bone Diseases.* 2008;11(1):9–13. [In Russian]. doi: 10.14341/osteo200819-13
21. Косматова О.В., Мягкова М.А., Скрипникова И.А. Влияние витамина D и кальция на сердечно-сосудистую систему: вопросы безопасности. *Профилактик. мед.* 2020;23(3):140–148. doi: 10.17116/profmed202023031140
- Kosmatova O.V., Miagkova M.A., Skripnikova I.A. Effects of vitamin D and calcium on the cardiovascular system: safety issues. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health.* 2020;23(3):140–148. [In Russian]. doi: 10.17116/profmed202023031140
22. Кузнецова А.Ф., Слободенюк Т.Ф. Взаимосвязь ожирения и дефицита витамина D. *Забайк. мед. вестн.* 2020;(1):89–103. doi:10.52485/19986173_2020_1_89
- Kuznetsova A.F., Slobodenyuk T.F. The correlation between obesity and vitamin D deficiency. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik = The Transbaikal Medical Bulletin.* 2020;(1):89–103. [In Russian]. doi:10.52485/19986173_2020_1_89
23. Giovannucci E., Liu Y., Hollis B.W., Rimm E.B. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch. Intern. Med.* 2008;168(11):1174–1180. doi:10.1001/archinte.168.11.1174
24. Hill T.R., Aspray T.J. The role of vitamin D in maintaining bone health in older people. *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.* 2017;9(4):89–95. doi: 10.1177/1759720X17692502
25. Verdoia M., Schaffer A., Sartori C., Barbieri L., Cassetti E., Marino P., Galasso G., de Luca G. Vitamin D deficiency is independently associated with the extent of coronary artery disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2014;44(7):634–642. doi: 10.1111/eci.12281
26. Takeda M., Yamashita T., Sasaki N., Nakajima K., Kita T., Shinohara M., Ishida T., Hirata K. Oral administration of an active form of vitamin D3 (calcitriol) decreases atherosclerosis in mice by inducing regulatory T cells and immature dendritic cells with tolerogenic functions. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010;30(12):2495–2503. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.215459
27. Li X., Speer M.Y., Yang H., Bergen J., Giachelli C.M. Vitamin D receptor activators induce an anticalcific paracrine program in macrophages: re-

quirement of osteopontin. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010;30(2):321–326. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.196576

28. Wakasugi M., Noguchi T., Inoue M., Kazama Y., Tawata M., Kanemaru Y., Onaya T. Vitamin D3 stimulates the production of prostacyclin by vascular smooth muscle cells. *Prostaglandins*. 1991;42(2):127–136. doi: 10.1016/0090-6980(91)90072-n

29. Bolland M.J., Avenell A., Baron J.A., Grey A., MacLennan G.S., Gamble G.D., Reid I.R. Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. *BMJ*. 2010;341:c3691. doi: 10.1136/bmj.c3691

30. Joshi F.R., Rajani N.K., Abt M., Woodward M., Bucerius J., Mani V., Tawakol A., Kallend D., Fayad Z.A., Rudd J.H. Does vascular calcification accelerate inflammation? A substudy of the dal-PLAQUE trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016;67(1):69–78. doi: 10.1016/j.jacc.2015.10.050

31. Карагодин В.П., Бобрышев Ю.В., Орехов А.Н. Воспаление, иммунокомпетентные клетки, цитокины – роль в атерогенезе. *Патогенез*. 2014; 12(1):21–35.

Karagodin V.P., Bobryshev Ju.V., Orekhov A.N. Inflammation, immune cells, cytokines – a role in atherogenesis. *Patogenez = Pathogenesis*. 2014;1(12):21–35. [In Russian].

32. Аймагамбетова А.О. Атерогенез и воспаление. *Наука и здравоохранение*. 2016;(1):24–39.

Ajmagambetova A.O. Atherogenesis and inflammation. *Nauka i zdravookhraneniye = Science and Healthcare*. 2016;(1):24–39. [In Russian].

33. Fatkhullina A.R., Peshkova I.O., Koltsova E.K. The role of cytokines in the development of atherosclerosis. *Biochemistry (Mosc)*. 2016;81(11):1358–1370. doi: 10.1134/S0006297916110134

34. Tedgui A., Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol. Rev.* 2006;86(2):515–581. doi: 10.1152/physrev.00024.2005

35. Aikawa E., Nahrendorf M., Figueiredo J.L., Swirski F.K., Shtatland T., Kohler R.H., Jaffer F.A., Aikawa M., Weissleder R. Osteogenesis associates with inflammation in early-stage atherosclerosis evaluated by molecular imaging in vivo. *Circulation*. 2007;116(24):2841–2850. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.732867

36. Wu M., Rementer C., Giachelli C.M. Vascular calcification: an update on mechanisms and challenges in treatment. *Calcif. Tissue Int.* 2013;93(4):365–373. doi: 10.1007/s00223-013-9712-z

37. Criqui M.H., Denenberg J.O., Ix J.H., McClelland R.L., Wassel C.L., Rifkin D.E., Carr J.J., Budoff M.J., Allison M.A. Calcium density of coronary artery plaque and risk of incident cardiovascular events. *JAMA*. 2014;311(3):271–278. doi: 10.1001/jama.2013.282535

38. Aghagolzadeh P., Bachtler M., Bijarnia R., Jackson C., Smith E.R., Odermatt A., Radpour R., Pasch A. Calcification of vascular smooth muscle cells is induced

by secondary calciprotein particles and enhanced by tumor necrosis factor- α . *Atherosclerosis*. 2016;251:404–414. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.05.044

39. Aikawa E., Nahrendorf M., Figueiredo J.L., Swirski F.K., Shtatland T., Kohler R.H., Jaffer F.A., Aikawa M., Weissleder R. Osteogenesis associates with inflammation in early-stage atherosclerosis evaluated by molecular imaging in vivo. *Circulation*. 2007;116(24):2841–2850. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.732867

40. Tintut Y., Patel J., Pahmani F., Demer L.L. Tumor necrosis factor- α promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation*. 2000;102:2636–2642. doi: 10.1161/01.cir.102.21.2636

41. Ikeda K., Souma Y., Akakabe Y., Kitamura Y., Matsuo K., Shimoda Y., Ueyama T., Matoba S., Yamada H., Okigaki M., Matsubara H. Macrophages play a unique role in the plaque calcification by enhancing the osteogenic signals exerted by vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012;425(1):39–44. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.07.045

42. Chai M., Zhang H.T., Zhou Y.J., Ji Q.W., Yang Q., Liu Y.Y., Zhao Y.X., Shi D.M., Liu W., Yang L.X., Zhang L.L., Liang J. Elevated IL-37 levels in the plasma of patients with severe coronary artery calcification. *J. Geriatr. Cardiol.* 2017;14(5):285–291. doi: 10.11909/j.issn.1671-5411.2017.05.013

43. Zheng W., Kang H., Shu C., Tang M.L., Fang P.Z., Xie J., He J., Wang M. Expression and significance of inflammatory factors and bone formation mediators in carotid atherosclerotic plaque. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2008;33(8):746–750. [In Chinese].

44. Hamirani Y.S., Pandey S., Rivera J.J., Ndumele C., Budoff M.J., Blumenthal R.S., Nasir K. Markers of inflammation and coronary artery calcification: a systematic review. *Atherosclerosis*. 2008;201(1):1–7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.04.045

45. Wang N.C., Matthews K.A., Barinas-Mitchell E.J., Chang C.C., El Khoudary S.R. Inflammatory/hemostatic biomarkers and coronary artery calcium progression in women at midlife (from the study of Women's Health Across the Nation, heart study). *Am. J. Cardiol.* 2016;118(3):311–318. doi: 10.1016/j.amjcard.2016.05.009

46. Budoff M.J., Raggi P. Coronary artery disease progression assessed by electronbeam computed tomography. *Am. J. Cardiol.* 2001;88(2A):46–50. doi: 10.1016/s0002-9149(01)01767-2

47. Лутай М.И., Голикова И.П., Ломаковский А.Н., Гавриленко Т.И. Кальциноз артерий сердца при коронарном атеросклерозе. *Укр. кардіол. ж.* 2018;25(4):105–111. doi: 10.31928/1608-635X-2018.4.105111

Lutay M.I., Golikova I.P., Lomakovsky O.M., Gavrilenko T.I. Calcification of the heart arteries in coronary atherosclerosis. *Ukrayin'skyi kardiologichnyy zhurnal = Ukrainian Cardiology Journal*. 2018;25(4):105–111. doi: 10.31928/1608-635X-2018.4.105111

48. Bangalore S., Vlachos H.A., Selzer F., Wilensky R.L., Kip K.E., Williams D.O., Faxon D.P. Percutaneous coronary intervention of moderate to severe calcified coronary lesions: insights from the National Heart, Lung, and Blood Institute Dynamic Registry. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2011;77(1):22–28. doi: 10.1002/ccd.22613
49. Tan K., Sulke N., Taub N., Sowton E. Clinical and lesion morphologic determinants of coronary angioplasty success and complications: current experience. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995;25(4):855–865. doi:10.1016/0735-1097(94)00462-y
50. Fitzgerald P.J., Ports T.A., Yock P.G. Contribution of localized calcium deposits to dissection after angioplasty. An observational study using intravascular ultrasound. *Circulation.* 1992;86(1):64–70. doi:10.1161/01.CIR.86.1.64
51. Mosseri M., Satler L.F., Pichard A.D., Waksman R. Impact of vessel calcification on outcomes after coronary stenting. *Cardiovasc. Revasc. Med.* 2005;6(4):147–153. doi:10.1016/j.carrev.2005.08.008
52. Moussa I., Ellis S.G., Jones M., Kereiakes D.J., McMartin D., Rutherford B., Mehran R., Collins M., Leon M.B., Popma J.J., Russell M.E., Stone G.W. Impact of coronary culprit lesion calcium in patients undergoing paclitaxel-eluting stent implantation (a TAXUS-IV sub study). *Am. J. Cardiol.* 2005;96(9):1242–1247. doi:10.1016/j.amjcard.2005.06.064
53. Onuma Y., Tanimoto S., Ruygrok P., Neuzner J., Piek J.J., Seth A., Schofer J.J., Richardt G., Wiemer M., Carrié D., ... Serruys P.W. Efficacy of everolimus eluting stent implantation in patients with calcified coronary culprit lesions: Two-year angiographic and three-year clinical results from the SPIRIT II study. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2010;76(5):634–642. doi: 10.1002/ccd.22541
54. Kume T., Okura H., Kawamoto T., Akasaka T., Toyota E., Neishi Y., Watanabe N., Sukmawan R., Yamada R., Sadahira Y., Yoshida K. Assessment of the histological characteristics of coronary arterial plaque with severe calcification. *Circ. J.* 2007;71(5):643–647. doi: 10.1253/circj.71.643
55. Castagna M.T., Mintz G.S., Ohlmann P., Kotani J., Maehara A., Gevorkian N., Cheneau E., Stabile E., Ajani A.E., Suddath W.O., ... Weissman N.J. Incidence, location, magnitude, and clinical correlates of saphenous vein graft calcification: an intravascular ultrasound and angiographic study. *Circulation.* 2005;111(9):1148–1152. doi: 10.1161/01.CIR.0000157160.69812.55
56. Ertelt K., G  n  reux P., Mintz G.S., Reiss G.R., Kirtane A.J., Madhavan M.V., Fahy M., Williams M.R., Brener S.J., Mehran R., Stone G.W. Impact of the severity of coronary artery calcification on clinical events in patients undergoing coronary artery bypass grafting (from the Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage Strategy Trial). *Am. J. Cardiol.* 2013;112(11):1730–1737. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.07.038
57. Bourantas C.V., Zhang Y.J., Garg S., Mack M., Dawkins K.D., Kappetein A.P., Mohr F.W., Colombo A., Holmes D.R., St  hle E., ... Serruys P.W. Prognostic Implications of Severe Coronary Calcification in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Surgery: An Analysis of the SYNTAX Study. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2015;85(2):199–206. doi: 10.1002/ccd.25545
58. Акчурина Р.С., Ширяев А.А., Васильев В.П., Галяутдинов Д.М., Власова Э.Е., Федотенков И.С., Курбанов С.К., Майоров Г.Б. Особенности и госпитальные результаты коронарного шунтирования у пациентов с кальцинозом целевых коронарных артерий. *Рос. кардиол. ж.* 2020;25(8):3687. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3687
- Акчурина Р.С., Ширяев А.А., Васильев В.П., Галяутдинов Д.М., Власова Э.Е., Федотенков И.С., Курбанов С.К., Майоров Г.Б. Features and hospital outcomes of coronary artery bypass grafting in patients with calcification of target coronary arteries. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Cardiology.* 2020;25(8):3687. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3687

Сведения об авторах:

Ничипорук Ксения Александровна, ORCID: 0009-0006-5638-9416, e-mail: ksenya.nichiporuk.98@mail.ru
Царенок Светлана Юрьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-7065-5737, e-mail: sveta-tsarenok@yandex.ru
Горбунов Владимир Владимирович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-7352-6618, e-mail: gorbunvvv2008@mail.ru
Ильямакова Наталья Александровна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-3960-631X, e-mail: iljamakovy@yandex.ru
Аксенова Татьяна Александровна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-4957-5908, e-mail: tatianaks@mail.ru

Information about authors:

Ksenia A. Nichiporuk, ORCID: 0009-0006-5638-9416, e-mail: ksenya.nichiporuk.98@mail.ru
Svetlana Yu. Tsarenok, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-7352-6618, e-mail: gorbunvvv2008@mail.ru
Vladimir V. Gorbunov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-7352-6618, e-mail: gorbunvvv2008@mail.ru
Natalya A. Ilyamakova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4957-5908, e-mail: tatianaks@mail.ru
Tatiana A. Aksenova, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-4957-5908, e-mail: tatianaks@mail.ru

Поступила в редакцию 09.05.2023

После доработки 21.06.2023

Принята к публикации 30.07.2023

Received 09.05.2023

Revision received 21.06.2023

Accepted 30.07.2023

Новый аспект метаболических нарушений при ожирении: карбонильный стресс

А.С. Лесная¹, М.А. Даренская¹, Н.В. Семенова¹, Л.И. Колесникова^{1,2}

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека
664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16

² Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1

Резюме

В обзоре литературы рассмотрена проблема ожирения в современном обществе. Показано, что ожирение отягощает сопутствующие заболевания, увеличивает вероятность развития метаболических нарушений и связанных с ними патологий, повышает риск осложнений и смертности. Подробно рассмотрена секреторная функция жировой ткани, ее участие в регуляции биологических процессов. Раскрыто понятие карбонильного стресса и его составляющих, определена роль карбонильных соединений в организме, описаны метаболические пути, приводящие к формированию карбонильных продуктов реакций, а также отмечено участие свободных радикалов в данных путях метаболизма. Рассмотрены механизмы патогенеза, ассоциированные с развитием карбонильного стресса при ожирении; наибольший вклад вносят два типа процессов: реакции перекисного окисления липидов, в результате которых образуются карбонильные продукты липопероксидации, и процессы, активирующиеся при гипергликемии (гликолиз, полиоловый и гексоаминовый пути), приводящие к образованию глиоксаля, метилглиоксаля, активных карбонильных форм глюкозы. Дискутабельным остается вопрос о вкладе конечных продуктов неферментативного гликирования (AGEs) и продуктов окисления белков (AOPP) в развитие карбонильного стресса при ожирении. Предполагается, что уровень AGEs и AOPP зависит от тяжести ожирения и развития метаболического синдрома.

Ключевые слова: ожирение, метаболизм, карбонильный стресс, окислительный стресс, избыточный вес.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ (№ НШ-3382.2022.1.4).

Автор для переписки: Лесная А.С., e-mail: tasi121212@mail.ru

Для цитирования: Лесная А.С., Даренская М.А., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Новый аспект метаболических нарушений при ожирении: карбонильный стресс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):24–33. doi: 10.18699/SSMJ20230603

A new aspect of metabolic disorders in obesity: carbonyl stress

A.S. Lesnaya¹, M.A. Darenskaya¹, N.V. Semenova¹, L.I. Kolesnikova^{1,2}

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems
664003, Irkutsk, Timiryazeva st., 16

² Irkutsk State University
664003, Irkutsk, Karla Marksa st., 1

Abstract

The literature review examines the problem of obesity in modern society. It has been shown that obesity aggravates concomitant diseases, increases the probability of developing metabolic disorders and related pathologies, increases the risk of complications and mortality. The secretory function of adipose tissue, its participation in the regulation of biological processes is considered in detail. The concept of carbonyl stress and its components is revealed, the role of carbonyl compounds in the body is described, the metabolic pathways leading to the formation of carbonyl reaction products are shown, the participation of free radicals in these metabolic pathways is noted. The mechanisms of pathogenesis associated with the development of carbonyl stress in obesity are discussed; the greatest contribution to the development of car-

bonyl pathology in obesity is made by two types of processes: lipid peroxidation reactions resulting in the formation of carbonyl products of lipoperoxidation and the processes activated by hyperglycemia (glycolysis, polyol and hexosamine pathways) leading to the formation of glyoxal, methylglyoxal, and active carbonyl forms of glucose. The question of the contribution of advanced glycation end products (AGEs) and advanced oxidation protein products (AOPP) to the development of carbonyl pathology in obesity remains controversial. It is assumed that AGEs and AOPP levels depend on the severity of obesity and the development of metabolic syndrome.

Key words: obesity, metabolism, carbonyl stress, oxidative stress, overweight.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing: This study was carried out with the financial support of the Council for President Grants of the Russian Federation (NSh-3382.2022.1.4).

Correspondence author: Lesnaya A.S., e-mail: tasi121212@mail.ru

Citation: Lesnaya A.S., Darenskaya M.A., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. A new aspect of metabolic disorders in obesity: carbonyl stress. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):24–33. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230603

Ожирение как причина метаболических нарушений

В последние годы вопросу избыточного веса и ожирения уделяется особое внимание. Растущий интерес к данной проблеме связан в первую очередь с увеличением частоты встречаемости данной патологии у лиц всех возрастов, что приводит к ухудшению качества жизни взрослых и детей. По данным Росстата, на 2018 г. в Российской Федерации избыточную массу тела имели 40,1 % людей, а ожирением страдали 21,6 % населения. За последние годы официальных данных по Российской Федерации нет. Однако с конца 2019 г., начала распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19, проблема ожирения в России встала особенно остро по причине того, что люди с лишним весом намного тяжелее переносят инфекционное заболевание и чаще при заражении COVID-19 имели осложнения или летальный исход [1, 2]. Помимо заболеваний инфекционной природы [3], наличие лишнего веса также приводит к отягощению болезней сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, опорно-двигательного аппарата, ряду онкологических заболеваний [4].

Доказано, что при ожирении увеличивается вероятность развития сахарного диабета 2 типа, заболеваний сердечно-сосудистой системы, обструктивной болезни легких, поражения почек, дизурических расстройств, подагры, ревматоидного артрита, синдрома обструктивного апноэ сна, злокачественных опухолей отдельных локализаций, неалкогольной жировой болезни печени, репродуктивных нарушений, метаболического синдрома [5]. В связи с этим российскими специалистами сформулированы клинические рекомендации по лечению ожирения, согласно которым данная патология является основным фактором риска для развития ряда хронических заболеваний [6].

Высокий риск осложнений и смертности при ожирении и его сочетание с различными патологиями могут быть связаны с полифункциональностью жировой ткани, наиболее значимой для метаболического гомеостаза является ее секреторная функция. Секретция метаболически активных соединений осуществляется клетками жировой ткани – адипоцитами, секретирующими адипокины (лептин, адипонектин, резистин, аспросин, висфатин и др.) – гормоны, обладающие метаболическим, морфогенетическим и корригирующим воздействием практически на все системы организма [7]. Нарушение секреции адипокинов может быть ведущим фактором в альтерации метаболизма липидов и глюкозы, что приводит к развитию гиперлипидемии, дислипидемии, изменению толерантности к глюкозе, гипергликемии, инсулинорезистентности [8].

Резистентность к инсулину, ассоциированная с ожирением, значительно увеличивает риск развития сахарного диабета 2 типа, гипертонии, дислипидемии и неалкогольной жировой болезни печени, известных в совокупности как метаболический синдром. Предполагается, что причиной инсулинорезистентности на фоне гипертрофии и дисфункции адипоцитов могут являться изменение концентрации свободных жирных кислот, стресс эндоплазматического ретикулума, окислительный стресс, дисбаланс цитокинов [9].

Изменение цитокинового профиля при ожирении характеризуется увеличением в организме уровня провоспалительных (TNF- α , IL-1, IL-6) и снижением содержания противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, TGF- β), что позволяет рассматривать ожирение как субклинический хронический воспалительный процесс с развитием локального воспаления в жировой ткани. В свою очередь провоспалительные цитокины способны стимулировать синтез активных форм кислорода (АФК), гиперпродукция которых при-

водит к развитию свободнорадикальных патологий [10, 11]. Нарушения свободнорадикального гомеостаза при ожирении могут возникать и за счет активации метаболических путей, побочным продуктом которых является образование свободных радикалов (АФК, активных форм азота и др.). Также анализ литературных данных показал, что у каждого третьего-пятого мужчины с ожирением присутствует гиперэстрогения, а, как известно, эстрогены могут выступать в качестве про- и антиоксидантов и вносить свой вклад в изменение свободнорадикального гомеостаза [12]. Причиной гиперэстрогении, вероятно, является синтез эстрогенов из андрогенов с участием ароматазы, главным периферическим источником которой является жировая ткань.

Другими продуктами секреции адипоцитов являются компоненты ренин-ангиотензиновой системы, регулирующей объем и давление крови, ферменты системы комплемента, участвующие в реализации иммунного ответа, простагландины и белки сосудистого гемостаза, например ингибитор активатора плазминогена-1 [8, 13]. В дополнение к этому, жировая ткань экспрессирует ряд рецепторов, которые позволяют отвечать на эфферентные сигналы внутренних органов и центральной нервной системы [14].

Таким образом, жировая ткань в организме является важным эндокринным регулятором и вовлечена в координацию многих биологических процессов, включая метаболизм энергии, углеводов, нейроэндокринные, иммунные процессы, а ее избыток может приводить к нарушению различных путей метаболизма.

Карбонильный стресс – неспецифическое звено патогенеза

Первое упоминание о карбонильном стрессе как об отдельно выраженной патологии можно встретить в работе T.J. Lyons et al., которые описывают карбонильный стресс как повышенный уровень химически активных карбонилсодержащих соединений, образующихся при свободно-радикальном окислении углеводов (в основном глюкозы) и липидов [15]. Реакционная способность и метаболическая активность карбонильных соединений достаточно стабильна, что позволяет использовать их в качестве биомаркеров при некоторых патологических процессах [16, 17]. Карбонильные соединения могут исполнять роль сигнальных молекул, принимать участие в усилении таких биологических процессов, как некроз и апоптоз, в реакциях иммунного ответа, антиканцерогенной активности, влиять на жизнеспособность некоторых патогенных микроорганизмов. Однако избыток карбонильных со-

единений негативно отражается на целостности клеточных структур, поскольку они могут выступать в качестве мутагенов и канцерогенов [18].

В организме существует несколько путей образования эндогенных карбониллов, однако наибольшее влияние на формирование карбонильного стресса оказывают процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и гликирования. При липопероксидации карбонильные соединения образуются на конечном этапе окисления полиненасыщенных жирных кислот. К наиболее известным относятся малоновый диальдегид, по уровню которого можно судить о развитии окислительного стресса в организме, кротоновый альдегид, 4-гидроксинonenаль, акролеин [19]. В свою очередь в результате преобразования конечных продуктов липопероксидации (оснований Шиффа) образуется новый ряд карбонильных соединений – глицеральдегид и 3-дезоксиглюкозон [20]. В связи с этим развитие карбонильного стресса прямо зависит от наличия окислительного стресса [21].

Также карбонильные продукты образуются в процессах гликирования, которые запускают восстанавливающие углеводы, такие как глюкоза, лактоза, мальтоза. Они могут взаимодействовать со свободными аминокислотными группами белков, липидов и нуклеиновых кислот без участия ферментов, в результате чего повреждаются все основные виды макромолекул [22]. В первую очередь гликированию подвергаются гемоглобин, коллаген, кристаллин, основные белки плазмы крови, такие как альбумин, а также липопротеины низкой плотности. На начальном этапе продуктом взаимодействия глюкозы с аминокислотными остатками белков является фруктозамин, который преобразуется до конечных продуктов неферментативного гликирования (AGEs); к наиболее распространенным из них относятся карбоксиметиллизин, карбоксиэтиллизин и аргпиримидин [20].

Карбонильные соединения образуются главным образом при метаболизме глюкозы посредством гликолиза, полиолового и гексозаминового путей, активирующихся в условиях гипергликемии [23] и сопровождающихся генерацией свободных радикалов, которые могут служить и побочными продуктами, и инициаторами данных путей. Небольшое количество свободных радикалов образуется в организме постоянно для участия в клеточной сигнализации. Временный рост их синтеза может наблюдаться при активации иммунных реакций в ответ на проникновение в организм патогенных бактерий, некоторых вирусов или токсинов, неконтролируемая гиперпродукция – при развитии патологических процессов и хронических заболеваний [24]. Из этого можно сделать вывод, что в основе развития карбониль-

ного стресса находится нарушение метаболических процессов, ассоциированное со свободнорадикальными патологиями, что следует учитывать при коррекции и профилактике заболеваний, связанных с нарушением нормального метаболизма.

Механизмы патогенеза, ассоциированные с развитием карбонильного стресса при ожирении

Как сказано выше, одним из ведущих патогенетических механизмов формирования карбонильного стресса является активация процессов ПОЛ, в результате которых в организме развивается окислительный стресс и накапливаются карбонильные продукты реакций. К настоящему времени доказано, что у людей с ожирением действительно процессы липидной перекисидации протекают интенсивнее, чем у людей с нормальным весом, на что указывает увеличение содержания ее продуктов, в том числе гидроперекисей липидов [25], малонового диальдегида, 4-гидроксисинонелала (как у взрослых [26, 27], так и у детей [28, 29]). При этом отмечено, что интенсивность процессов липоперекисидации находится в прямой зависимости от степени ожирения [30].

Основанием для активации процессов ПОЛ при ожирении служат несколько причин. Одна из них – это нарушение метаболизма липидов и развитие гиперлипидемии, что приводит к увеличению содержания в крови незатерифицированных жирных кислот, триглицеридов и холестерина, которые являются потенциальными субстратами окисления. Также при ожирении нередко встречается наличие дислипидемии, в результате чего происходит дисбаланс соотношения липидных фракций с увеличением в крови концентрации липопротеинов низкой плотности, карбонильным продуктом окисления которых является акролеин [31].

Другим фактором служит недостаточная активность системы антиоксидантной защиты. Это подтверждает дефицит основных минералов (селена, цинка, марганца, железа), входящих в активный центр ферментов антиоксидантной защиты, и, как следствие, снижение активности самих ферментов (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидазы) у лиц с ожирением [25]. При этом также наблюдается уменьшение содержания неферментативных антиоксидантов (ретинола, аскорбиновой кислоты, токоферолов) [32, 33].

Третьей и не менее важной причиной формирования окислительного стресса при ожирении является гиперпродукция свободных радикалов – инициаторов окисления липидов и остальных биомолекул. Об участии свободных радикалов в патогенезе ожирения свидетельствует

более высокий уровень АФК, оксида азота и пероксинитрита у людей с данной патологией [34, 25]; у людей с ожирением, имеющих в анамнезе метаболический синдром, содержание пероксида водорода больше, чем у страдающих только ожирением [35]. Интересно, что клетки жировой ткани сами могут вырабатывать АФК, продукция которых находится в прямой зависимости от уровня постпрандиальной глюкозы [34]. В связи с этим можно предположить, что увеличение числа адипоцитов при ожирении и частый прием пищи, поддерживающий высокий уровень глюкозы, являются одной из причин развития свободнорадикальной патологии, ассоциированной с ожирением.

Еще один ведущий механизм, приводящий к развитию карбонильного стресса при ожирении, непосредственно связан с наличием гипергликемии. К ее формированию при ожирении приводит избыток углеводов, поступающих с пищей, и нарушение углеводного обмена. Гипергликемия служит пусковым механизмом для активации альтернативных способов утилизации глюкозы, таких как гликолиз, полиоловый и гексааминовый пути, в ходе которых образуется новый ряд карбонильных производных (глиоксаль, метилглиоксаль, активные карбонильные формы глюкозы и др.), вносящих свой вклад в развитие карбонильного стресса. Например, активация гексааминового пути приводит к образованию его конечного продукта – уридинфосфат-N-ацетилглюкозамина, который принимает участие в регуляции инсулиновых рецепторов, нарушении передачи гормонального сигнала в клетку и гликировании белков. В полиоловом пути конечным продуктом последовательного протекания альдозоредуктазной и сорбитолдегидрогеназной реакции является фруктоза, которая сама является карбонильным соединением и обладает большей гликирующей активностью, чем глюкоза. Также вторичные полиоловые продукты могут инициировать образование АФК и соответственно усиливать свободнорадикальное окисление [36]. Поэтому некоторые авторы рассматривают проявление карбонильного стресса именно как результат увеличения содержания карбонильных продуктов, полученных путем окисления углеводов: так, концентрация метилглиоксаля у группы с ожирением на 35 % выше, чем в контрольной группе [37].

Реакции гликирования при ожирении интенсивно протекают также в условиях гипергликемии в связи с недостаточной утилизацией углеводов. Данный тип взаимодействия восстанавливающих углеводов с основными видами макромолекул протекает по типу реакции Майяра, с образовани-

ем AGEs (N-карбоксиметиллизин (CML), гидроимидазолы, пентозидин) [38]. Обнаружено, что у пациентов с ожирением повышен циркулирующий уровень CML и метилглиоксалия, но только у тех, у которых выявлен один или несколько стандартных критериев метаболического синдрома [39]. Другие исследования показали, что ожирение характеризуется более низким содержанием циркулирующего CML, что может быть вызвано его связыванием со специфическими рецепторами в жировой ткани [40]. Также концентрация AGEs в плазме крови у детей с ожирением была меньше, чем у детей с нормальным весом [41]. При этом накопление AGEs отягощает свободнорадикальную патологию за счет активации различных механизмов, в основном запускаемых связыванием AGEs с их рецепторами (RAGE) с образованием свободных радикалов [40].

В свою очередь свободные радикалы могут повреждать не только липиды, но и белковые молекулы, что приводит к накоплению АОРР, которые в преобладающем большинстве включают битирозиновые сшивки отдельных молекул белков, галогенированные аминокислоты белков, продукты нитрования (нитротирозин), карбонильные группы белков, а также ряд других продуктов их окислительной модификации. Стабильной модификации подвергаются в основном долгоживущие белки, такие как коллаген, кристаллин, эластин и т.д. Согласно литературным данным, у пациентов с избыточным весом и ожирением уровень АОРР достоверно выше, чем у людей с нормальным весом, и значительно больше – у пациентов с сопутствующим метаболическим синдромом. Данный показатель положительно коррелирует с выраженностью ожирения и концентрацией в крови триглицеридов, продуктов ПОЛ и инсулина [25, 42, 43]. Измерение содержания карбонильных групп белков у лиц с ожирением выявило более высокий уровень продуктов их окислительной модификации [27, 44]. У детей концентрация АОРР также значительно больше при избыточном весе и ожирении [45]. Однако новые данные, напротив, демонстрируют отсутствие различий по уровню АОРР у девочек-подростков с ожирением и без него [28].

Таким образом, проведенный обзор литературных данных позволяет заключить, что пациенты с ожирением имеют высокий риск развития карбонильного стресса, формирующийся в основном при интенсификации процессов ПОЛ и процессов, активирующихся при гипергликемии (гликолиз, полиоловый и гексааминовый пути). Увеличение содержания карбонильных соединений, образованных в результате активации иных путей метаболизма, пока остается дискуссион-

ным в силу противоречивости представленных в литературе данных. Содержание AGEs и АОРР может увеличиваться, а может оставаться неизменным, что, вероятно, связано с тяжестью ожирения и развитием метаболического синдрома. В связи с этим необходимо проводить дальнейшие исследования в различных клинических группах.

Список литературы

1. Демидова Т.Ю., Волкова Е.И., Грицкевич Е.Ю. Особенности течения и последствия COVID-19 у пациентов с избыточным весом и ожирением. Уроки текущей пандемии. *Ожирение и метаболизм*. 2020;17(4):375–384. doi: 10.14341/omet12663
2. Кравчук Е.Н., Неймарк А.Е., Бабенко А.Ю., Гринева Е.Н. Ожирение и COVID-19. *Артериальная гипертензия*. 2020;26(4):440–446. doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-4-440-446
3. Дворецкий Л.И. Ожирение и инфекция. Еще одна коморбидность? *Ожирение и метаболизм*. 2019;16(2):3–8. doi: 10.14341/omet9745
4. Лескова И.В., Ершова Е.В., Никитина Е.А., Красниковский В.Я., Ершова Ю.А., Адамская Л.В. Ожирение в России: современный взгляд под углом социальных проблем. *Ожирение и метаболизм*. 2019;16(1):20–26. doi: 10.14341/omet9988
5. Драпкина О.М., Лопатин Ю.М., Петров В.И., Ткачева О.Н., Чумакова Г.А., Шляхто Е.В., Недогода С.В., Конради А.О., Арутюнов Г.П. Диагностика, лечение, профилактика ожирения и ассоциированных с ним заболеваний (национальные клинические рекомендации). СПб., 2017. 164 с.
6. Дедов И.И., Шестакова М.В., Мельниченко Г.А., Мазурина Н.В., Андреева Е.Н., Бондаренко И.З., Гусова З.Р., Дзгоева Ф.Х., Елисеев М.С., Ершова Е.В., ... Шереметьева Е.В. Междисциплинарные клинические рекомендации «Лечение ожирения и коморбидных заболеваний». *Ожирение и метаболизм*. 2021;18(1):5–99. doi: 10.14341/omet12714
7. Дзугкоев С.Г., Дзугкоева Ф.С., Можалева И.В., Маргиева О.И. Адипокины, ожирение и метаболические нарушения. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2020;6:201. doi: 10.17513/spno.30321
8. Алферова В.И., Мустафина С.В. Роль адипокинов в формировании кардиометаболических нарушений у человека. *Атеросклероз*. 2023;18(4):388–394. doi: 10.52727/2078-256X-2022-18-4-388-394
9. Лавренова Е.А., Драпкина О.М. Инсулинорезистентность при ожирении: причины и последствия. *Ожирение и метаболизм*. 2020;17(1):48–55. doi: 10.14341/omet9759
10. Рябова Е.А., Рагино Ю.И. Провоспалительные адипокины и цитокины при абдоминальном ожирении как фактор развития атеросклероза и

- патологии почек. *Атеросклероз*. 2021;17(4):101–110. doi: 10.52727/2078-256X-2021-17-4-101-110
11. Рашидова М.А., Даренская М.А., Колесникова Л.И. Роль некоторых цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-22, ФНО-α) в генезе ожирения. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2022;6-2:42. doi: 10.17513/spno.32339
12. Павлова З.Ш., Голодников И.И., Орлова Я.А., Камалов А.А. Распространенность гиперэстрогении и дефицита тестостерона у мужчин с ожирением. *Эндокринолог.: новости, мнения, обуч.* 2021;10(2):41–47. doi: 10.33029/2304-9529-2021-10-2-41-47
13. Аникин Д.А., Соловьева И.А., Демко И.В., Собко Е.А., Крапошина А.Ю., Гордеева Н.В. Свободнорадикальное окисление как патогенетическое звено метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм*. 2022;19(3):306–316. doi: 10.14341/omet12804
14. Осипова А.А. Роль лептина в регуляции энергетического обмена и функционировании организмов живой природы. *Окружающая среда и энергетическое поведение*. 2019;(2):55–82. doi: 10.5281/zenodo.3328788
15. Lyons T.J., Jenkins A.J. Glycation, oxidation, and lipoxidation in the development of the complications of diabetes: a carbonyl stress hypothesis. *Diabetes Rev*. 1997;5(4):365–391.
16. Dham D., Roy B., Gowda A., Pan G., Sridhar A., Zeng X., Thandavarayan R.A., Palaniyandi S.S. 4-Hydroxy-2-nonenal, a lipid peroxidation product, as a biomarker in diabetes and its complications: challenges and opportunities. *Free Radic. Res.* 2021;55(5):547–561. doi: 10.1080/10715762.2020.1866756
17. Савина К.В., Гречун А.А. 4-гидрокси-транс-2-ноненаль – сигнальный биомаркер процессов окислительного стресса при перекисном окислении липидов. *Инновационное развитие и потенциал современной науки: сб. тр. конф., Прага, 14 февраля 2022 г.* Нефтекамск: Мир науки, 2022. С. 19–23.
18. Космачевская О.В., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф. Электрофильная сигнализация: роль активных карбонильных соединений. *Успехи биол. химии*. 2019;84:206–224.
19. Саркисян В.А., Кочеткова А.А., Бессонов В.В., Глазкова И.В. Токсикологическая характеристика основных продуктов окисления липидов. *Вопр. питания*. 2016;85(6):80–85.
20. Емельянов В.В. Гликирование, антигликирование и дегликирование: роль в механизмах старения и геропротекции (обзор литературы). *Успехи геронтол.* 2016;29(3):407–416.
21. Давыдов В.В., Божков А.И. Карбонильный стресс как неспецифический фактор патогенеза (обзор литературы и собственных исследований). *Ж. НАМН Укр.* 2014;20(1):25–34.
22. Недосугова Л.В. Роль эндокринной системы в поддержании гомеостаза глюкозы в норме и при патологии. *РМЖ. Мед. обоз.* 2021;5(9):586–591. doi: 10.32364/2587-6821-2021-5-9-586-591
23. Бричагина А.С., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Возрастная менопауза и карбонильный стресс. *Успехи геронтол.* 2022;35(2):206–213. doi: 10.34922/АЕ.2022.35.2.004
24. Лысенко В.И. Окислительный стресс как неспецифический фактор патогенеза органических повреждений (обзор литературы и собственных исследований). *Мед. неотлож. состояний*. 2020;16(1):24–35. doi: 10.22141/2224-0586.16.1.2020.196926
25. Choromanska B., Mysliwiec P., Dadan J., Maleckas A., Zalewska A., Maciejczyk M. Effects of age and gender on the redox homeostasis of morbidly obese people. *Free Radic. Biol. Med.* 2021;175:108–120. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.009
26. Szewczyk-Golec K., Rajewski P., Gackowski M., Mila-Kierzenkowska C., Wesołowski R., Sutkowi P., Pawłowska M., Woźniak A. Melatonin supplementation lowers oxidative stress and regulates adipokines in obese patients on a calorie-restricted diet. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;2017:8494107. doi: 10.1155/2017/8494107
27. Gutiérrez L., García J.R., Rincón Mde J., Ceballos G.M., Olivares I.M. Effect of a hypocaloric diet in the oxidative stress in obese subjects without prescription of exercise and antioxidants. *Med. Clin. (Barc)*. 2015;145(1):1–6. doi: 10.1016/j.medcli.2013.12.015
28. Klisic A., Malenica M., Kostadinovic J., Kocic G., Ninic A. Malondialdehyde as an independent predictor of body mass index in adolescent girls. *J. Med. Biochem.* 2023;42(2):224–231. doi: 10.5937/jomb0-39044
29. Albuali W.H. Evaluation of oxidant-antioxidant status in overweight and morbidly obese Saudi children. *World J. Clin. Pediatr.* 2014;3(1):6–13. doi: 10.5409/wjcp.v3.i1.6
30. Никишова Т.В., Курникова И.А. Показатели перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной системы в оценке развития метаболических нарушений при алиментарно-конституциональном ожирении. *Казан. мед. ж.* 2021;102(5):765–772. doi: 10.17816/KMJ2021-765
31. Воробьева Е.Н., Симонова Г.И., Воробьев Р.И., Лещенко И.Ж. Свободно-радикальное окисление и атеросклероз. *Атеросклероз*. 2010;6(2):20–27.
32. Даренская М.А., Гаврилова О.А., Гребенкина Л.А., Кравцова О.В., Натяганова Л.В. Состояние процессов липопероксидации у мальчиков-подростков с ожирением. *Acta Biomed. Sci.* 2017;2(5-2):28–32. doi: 10.12737/article_5a3a-0d764250a4.87243362
33. Поварова О.В., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Метаболические маркеры и окислительный стресс в патогенезе ожирения у детей. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии*.

2020;65(1):22–29. doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-22-29

34. Кошельская О.А., Нарыжная Н.В., Кологривова И.В., Суслова Т.Е., Харитонов О.А., Евтушенко В.В., Андреев С.Л., Горбунов А.С., Гудкова А.А. Уровень продукции активных форм кислорода адипоцитами эпикардиальной жировой ткани у пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом взаимосвязан с возрастанием постпрандиальной гликемии. *Сиб. ж. клин. и эксперим. мед.* 2021;36(3):59–67. doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-3-59-67

35. Venturini D., Simao A.N., Sripes N.A., Bahls L.D., Melo P.A., Belinetti F.M., Lozovoy M.A., Dichi I. Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)*. 2012; 20(12): 2361–2366. doi: 10.1038/oby.2012.130

36. Данилова Л.А. Гликированные протеины. *Педиатр.* 2019;10(5):79–86. doi: 10.17816/PED10579-86

37. Masania J., Malczewska-Malec M., Razny U., Goralska J., Zdzenicka A., Kiec-Wilk B., Gruca A., Stancel-Mozwillo J., Dembinska-Kiec A., Rabbani N., Thornalley P.J. Dicarbonyl stress in clinical obesity. *Glycoconj. J.* 2016;33(4):581–589. doi: 10.1007/s10719-016-9692-0

38. Bettiga A., Fiorio F., di Marco F., Trevisani F., Romani A., Porrini E., Salonia A., Montorsi F., Vago R. The modern western diet rich in advanced glycation end-products (AGEs): an overview of its impact on obesity and early progression of renal pathology. *Nutrients*. 2019;11(8):1748. doi: 10.3390/nu11081748

39. Uribarri J., Cai W., Woodward M., Tripp E., Goldberg L., Pyzik R., Yee K., Tansman L., Chen X., Mani V., Fayad Z.A., Vlassara H. Elevated serum advanced glycation endproducts in obese indicate risk for the metabolic syndrome: a link between healthy and unhealthy obesity? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015;100(5):1957–1966. doi: 10.1210/jc.2014-3925

40. Gaens K.H.J., Goossens G.H., Niessen P.M., van Greevenbroek M.M., van der Kallen C.J., Niesen H.W., Rensen S.S., Buurman W.A., Greve J.W.M., Blaak E.E., ... Schalkwijk C.G. Nε-(carboxymethyl) lysine-receptor for advanced glycation end product axis is a key modulator of obesity-induced dysregulation of adipokine expression and insulin resistance. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014;34(6):1199–1208. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302281

41. Sebekova K., Somoza V., Jarcuskova M., Heidland A., Podracka L. Plasma advanced glycation end products are decreased in obese children compared with lean controls. *Int. J. Pediatr. Obes.* 2009;4(2):112–118. doi: 10.1080/17477160802248039

42. Krzystek-Korpacka M., Patryn E., Boehm D., Berdowska I., Zielinski B., Noczynska A. Advanced oxidation protein products (AOPPs) in juvenile overweight and obesity prior to and following weight re-

duction. *Clin. Biochem.* 2008;41(12):943–949. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.04.024

43. Morelli N.R., Scavuzzi B.M., Miglioranza L.H.D.S., Lozovoy M.A.B., Simao A.N.C., Dichi I. Metabolic syndrome components are associated with oxidative stress in overweight and obese patients. *Arch. Endocrinol. Metab.* 2018;62(3):309–318. doi: 10.20945/2359-3997000000036

44. Caimi G., Canino B., Montana M., Urso C., Calandrino V., Presti R.L., Hopps E. Lipid peroxidation, protein oxidation, gelatinases, and their inhibitors in a group of adults with obesity. *Horm. Metab. Res.* 2019;51(6):389–395. doi: 10.1055/a-0887-2770

45. Corica D., Aversa T., Ruggeri R.M., Cristani M., Alibrandi A., Pepe G., de Luca F., Wasniewska M. Could AGE/RAGE-related oxidative homeostasis dysregulation enhance susceptibility to pathogenesis of cardio-metabolic complications in childhood obesity? *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2019;10:426. doi: 10.3389/fendo.2019.00426

References

1. Demidova T.Yu., Volkova E.I., Gritskevich E.Yu. Peculiarities of the COVID-19 course and consequences in overweight and obese patients. Lessons from the current pandemic. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism*. 2020;17(4):375–384. [In Russian]. doi: 10.14341/omet12663

2. Kravchuk E.N., Neimark A.E., Babenko A.Yu., Grineva E.N. Obesity and COVID-19. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2020;26(4):440–446. [In Russian]. doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-4-440-446

3. Dvoretzkii L.I. Obesity and infection. Another comorbidity? *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism*. 2019;16(2):3–8. [In Russian]. doi: 10.14341/omet9745

4. Leskova I.V., Ershova E.V., Nikitina E.A., Krasnikovskii V.Ya., Ershova Yu.A., Adamskaya L.V. Obesity in Russia: modern view in the light of a social problems. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism*. 2019;16(1):20–26. [In Russian]. doi: 10.14341/omet9988

5. Drapkina O.M., Lopatin Yu.M., Petrov V.I., Tkacheva O.N., Chumakova G.A., Shlyakhto E.V., Nedogoda S.V., Konradi A.O., Arutyunov G.P. Diagnosis, treatment, prevention of obesity and associated diseases (national clinical guidelines). Saint Petersburg, 2017. 164 p. [In Russian].

6. Dedov I.I., Shestakova M.V., Mel'nichenko G.A., Mazurina N.V., Andreeva E.N., Bondarenko I.Z., Gusova Z.R., Dzgoeva F.Kh., Eliseev M.S., Ershova E.V., ... Sheremet'eva E.V. Interdisciplinary clinical practice guidelines "Management of obesity and its comorbidities". *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism*. 2021;18(1):5–99. [In Russian]. doi: 10.14341/omet12714

7. Dzugkoev S.G., Dzugkoeva F.S., Mozhaeva I.V., Margieva O.I. Adipokines, obesity and metabolic disorders. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* = *Modern Problems of Science and Education*. 2020;6:201. [In Russian]. doi: 10.17513/spno.30321
8. Alferova V.I., Mustafina S.V. The role of adipokines in the development of cardiometabolic disorders in humans. *Aterosclerоз* = *Atherosclerosis*. 2023;18(4):388–394. [In Russian]. doi: 10.52727/2078-256X-2022-18-4-388-394
9. Lavrenova E.A., Drapkina O.M. Insulin resistance in obesity: pathogenesis and effects. *Ozhireniye i metabolism* = *Obesity and Metabolism*. 2020;17(1):48–55. [In Russian]. doi: 10.14341/omet9759
10. Ryabova E.A., Ragino Yu.I. Proinflammatory adipokines and cytokines in abdominal obesity as a factor in the development of atherosclerosis and renal pathology. *Aterosclerоз* = *Atherosclerosis*. 2021;17(4):101–110. [In Russian]. doi: 10.52727/2078-256X-2021-17-4-101-110
11. Rashidova M.A., Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I. The role of some cytokines (IL-1, IL-6, IL-18, IL-22, TNF- α) in the genesis of obesity. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* = *Modern Problems of Science and Education*. 2022;6-2:42. [In Russian]. doi: 10.17513/spno.32339
12. Pavlova Z.Sh., Golodnikov I.I., Orlova Ya.A., Kamalov A.A. The prevalence of hyperestrogenism and testosterone deficiency in obese men. *Endokrinologiya: novosti, mneniya, obucheniye* = *Endocrinology: News, Opinions, Training*. 2021;10(2):41–47. [In Russian]. doi: 10.33029/2304-9529-2021-10-2-41-47
13. Anikin D.A., Solov'eva I.A., Demko I.V., Sobko E.A., Kraposhina A.Yu., Gordeeva N.V. Free-radical oxidation as a pathogenetic factor of metabolic syndrome. *Ozhireniye i metabolism* = *Obesity and Metabolism*. 2022;19(3):306–316. [In Russian]. doi: 10.14341/omet12804
14. Osipova A.A. The role of leptin in the regulation of energy metabolism and the functioning of living organisms. *Okruzhayushchaya sreda i energovedeniye* = *Journal of Environmental Earth and Energy Study*. 2019;(2):55–82. [In Russian]. doi: 10.5281/zenodo.3328788
15. Lyons T.J., Jenkins A.J. Glycation, oxidation, and lipoxidation in the development of the complications of diabetes: a carbonyl stress hypothesis. *Diabetes Rev*. 1997;5(4):365–391.
16. Dham D., Roy B., Gowda A., Pan G., Sridhar A., Zeng X., Thandavarayan R.A., Palaniyandi S.S. 4-Hydroxy-2-nonenal, a lipid peroxidation product, as a biomarker in diabetes and its complications: challenges and opportunities. *Free Radic. Res*. 2021;55(5):547–561. doi: 10.1080/10715762.2020.1866756
17. Savina K.V., Grechun A.A. 4-hydroxy-trans-2-nonenal is a signaling biomarker of oxidative stress processes in lipid peroxidation. *Innovative development and the potential of modern science: proc. conf.*, February 14, 2022, Prague. Neftekamsk: World of Science, 2022. P. 19–23. [In Russian].
18. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F. Electrophilic signaling: the role of active carbonyl compounds. *Biochemistry (Moscow)*. 2019;84:206–224. doi: 10.1134/S0006297919140128
19. Sarkisyan V.A., Kochetkova A.A., Bessonov V.V., Glazkova I.V. Toxicological characteristics of the main products of lipid oxidation. *Voprosy pitaniya* = *Problems of Nutrition*. 2016;85(6):80–85. [In Russian].
20. Emel'yanov V.V. Glycation, antiglycation and deglycation: Their role in aging mechanisms and geroprotective effects (literature review). *Adv. Gerontol*. 2017;(7):1–9. [In Russian]. doi: 10.1134/S2079057017010064
21. Davydov V.V., Bozhkov A.I. Carbonyl stress as a nonspecific factor of pathogenesis (review of literature and own research). *Zhurnal Natsional'noyi akademii medychnykh nauk Ukrayiny* = *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine*. 2014;20(1):25–34. [In Russian].
22. Nedosugova L.V. Role of the endocrine system in maintaining glucose homeostasis in health and disease. *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Meditsinskoye obozreniye* = *Russian Medical Journal. Medical Review*. 2021;5(9):586–591. [In Russian]. doi: 10.32364/2587-6821-2021-5-9-586-591
23. Brichagina A.S., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. Age-related menopause and carbonyl stress. *Uspekhi gerontologii* = *Advances in Gerontology*. 2022;35(2):206–213. [In Russian]. doi: 10.34922/AE.2022.35.2.004
24. Lysenko V.I. Oxidative stress as a non-specific factor of organ damage pathogenesis (review of literature and own data). *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy* = *Emergency Medicine*. 2020;16(1):24–35. [In Russian]. doi: 10.22141/2224-0586.16.1.2020.196926
25. Choromanska B., Mysliwiec P., Dadan J., Malackas A., Zalewska A., Maciejczyk M. Effects of age and gender on the redox homeostasis of morbidly obese people. *Free Radic. Biol. Med*. 2021;175:108–120. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.009
26. Szewczyk-Golec K., Rajewski P., Gackowski M., Mila-Kierzenkowska C., Wesołowski R., Sutkowsky P., Pawłowska M., Woźniak A. Melatonin supplementation lowers oxidative stress and regulates adipokines in obese patients on a calorie-restricted diet. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2017;2017:8494107. doi: 10.1155/2017/8494107
27. Gutiérrez L., García J.R., Rincón Mde J., Ceballos G.M., Olivares I.M. Effect of a hypocaloric diet in the oxidative stress in obese subjects without prescription of exercise and antioxidants. *Med. Clin. (Barc)*. 2015;145(1):1–6. doi: 10.1016/j.medcli.2013.12.015
28. Klisic A., Malenica M., Kostadinovic J., Kocic G., Ninic A. Malondialdehyde as an independent predictor of body mass index in adolescent girls. *J.*

Med. Biochem. 2023;42(2):224–231. doi: 10.5937/jomb0-39044

29. Albuali W.H. Evaluation of oxidant-antioxidant status in overweight and morbidly obese Saudi children. *World J. Clin. Pediatr.* 2014;3(1):6–13. doi: 10.5409/wjcp.v3.i1.6

30. Nikishova T.V., Kurnikova I.A. Indicators of lipid peroxidation and the activity of antioxidant system enzymes as predictors of the development of metabolic disorders in primary obesity. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal.* 2021;102(5):765–772. [In Russian]. doi: 10.17816/KMJ2021-765

31. Vorob'eva E.N., Simonova G.I., Vorob'ev R.I., Leshchenko I.Zh. Free radical oxidation and atherosclerosis. *Ateroskleroz = Atherosclerosis.* 2010;6(2):20–27. [In Russian].

32. Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Grebenkina L.A., Kravtsova O.V., Natyaganova L.V. The state of lipoperoxidation processes in boys with obesity. *Acta Biomedica Scientifica.* 2017;2(5-2):28–32. [In Russian]. doi: 10.12737/article_5a3a0d764250a4.87243362

33. Povarova O.V., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Medvedev O.S. Metabolic markers and oxidative stress in children's obesity pathogenesis. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2020;65(1):22–29. [In Russian]. doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-22-29

34. Koshel'skaya O.A., Naryzhnaya N.V., Kologrivova I.V., Suslova T.E., Kharitonova O.A., Evtushenko V.V., Andreev S.L., Gorbunov A.S., Gudkova A.A. The level of reactive oxygen species production by adipocytes of epicardial adipose tissue is associated with an increase in postprandial glycemia in patients with severe coronary atherosclerosis. *Sibirskiy zhurnal klinicheskoy i eksperimental'noy meditsiny = Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2021;36(3):59–67. [In Russian]. doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-3-59-67

35. Venturini D., Simao A.N., Sripes N.A., Bahls L.D., Melo P.A., Belinetti F.M., Lozovoy M.A., Dichi I. Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring).* 2012; 20(12): 2361–2366. doi: 10.1038/oby.2012.130

36. Danilova L.A. Glycated proteins. *Pediatr = Pediatrician.* 2019;10(5):79–86. [In Russian]. doi: 10.17816/PED10579-86

37. Masania J., Malczewska-Malec M., Razny U., Goralska J., Zdzienicka A., Kiec-Wilk B., Gruca A., Stancel-Mozwillo J., Dembinska-Kiec A., Rabbani N., Thornalley P.J. Dicarbonyl stress in clinical obesity. *Glycoconj. J.* 2016;33(4):581–589. doi: 10.1007/s10719-016-9692-0

38. Bettiga A., Fiorio F., di Marco F., Trevisani F., Romani A., Porrini E., Salonia A., Montorsi F., Vago R. The modern western diet rich in advanced glycation end-products (AGEs): an overview of its impact on obesity and early progression of renal pathology. *Nutrients.* 2019;11(8):1748. doi: 10.3390/nu11081748

39. Uribarri J., Cai W., Woodward M., Tripp E., Goldberg L., Pyzik R., Yee K., Tansman L., Chen X., Mani V., Fayad Z.A., Vlassara H. Elevated serum advanced glycation endproducts in obese indicate risk for the metabolic syndrome: a link between healthy and unhealthy obesity? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015;100(5):1957–1966. doi: 10.1210/jc.2014-3925

40. Gaens K.H.J., Goossens G.H., Niessen P.M., van Greevenbroek M.M., van der Kallen C.J., Niesen H.W., Rensen S.S., Buurman W.A., Greve J.W.M., Blaak E.E., ... Schalkwijk C.G. Nε-(carboxymethyl) lysine-receptor for advanced glycation end product axis is a key modulator of obesity-induced dysregulation of adipokine expression and insulin resistance. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014;34(6):1199–1208. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302281

41. Sebekova K., Somoza V., Jarcuskova M., Heidland A., Podracka L. Plasma advanced glycation end products are decreased in obese children compared with lean controls. *Int. J. Pediatr. Obes.* 2009;4(2):112–118. doi: 10.1080/17477160802248039

42. Krzystek-Korpacka M., Patryn E., Boehm D., Berdowska I., Zielinski B., Noczynska A. Advanced oxidation protein products (AOPPs) in juvenile overweight and obesity prior to and following weight reduction. *Clin. Biochem.* 2008;41(12):943–949. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.04.024

43. Morelli N.R., Scavuzzi B.M., Miglioranza L.H.D.S., Lozovoy M.A.B., Simao A.N.C., Dichi I. Metabolic syndrome components are associated with oxidative stress in overweight and obese patients. *Arch. Endocrinol. Metab.* 2018;62(3):309–318. doi: 10.20945/2359-3997000000036

44. Caimi G., Canino B., Montana M., Urso C., Calandrino V., Presti R.L., Hopps E. Lipid peroxidation, protein oxidation, gelatinases, and their inhibitors in a group of adults with obesity. *Horm. Metab. Res.* 2019;51(6):389–395. doi: 10.1055/a-0887-2770

45. Corica D., Aversa T., Ruggeri R.M., Cristani M., Alibrandi A., Pepe G., de Luca F., Wasniewska M. Could AGE/RAGE-related oxidative homeostasis dysregulation enhance susceptibility to pathogenesis of cardio-metabolic complications in childhood obesity? *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019;10:426. doi: 10.3389/fendo.2019.00426

Сведения об авторах:

Лесная Анастасия Сергеевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-1055-4608, e-mail: tasi121212@mail.ru
Даренская Марина Александровна, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0003-3255-2013, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru
Семенова Наталья Викторовна, д.б.н., ORCID: 0000-0002-6512-1335, e-mail: natkor_84@mail.ru
Колесникова Любовь Ильинична, д.м.н., академик РАН, ORCID: 0000-0003-3354-2992,
e-mail: kolesnikova20121@mail.ru

Information about the authors:

Anastasiya S. Lesnaya, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-1055-4608, e-mail: tasi121212@mail.ru
Marina A. Darenskaya, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0003-3255-2013,
e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru
Natalya V. Semenova, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0002-6512-1335, e-mail: natkor_84@mail.ru
Lyubov I. Kolesnikova, doctor of medical sciences, academician of the RAS, ORCID: 0000-0003-3354-2992,
e-mail: kolesnikova20121@mail.ru

Поступила в редакцию 12.05.2023
После доработки 13.07.2023
После повторной доработки 04.09.2023
Принята к публикации 05.09.2023

Received 12.05.2023
Revision received 13.07.2023
Second revision received 04.09.2023
Accepted 05.09.2023

Микобактериальные инфекции: особенности микробиологической диагностики

А.В. Луценко^{1,2}, А.Л. Ясенявская¹, М.А. Самотруева¹

¹ Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

² Астраханский государственный технический университет
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16/1

Резюме

На сегодняшний день определено более 200 видов микобактерий, помимо хорошо известных человечеству *Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium tuberculosis*. Среди микроорганизмов, принадлежащих к роду *Mycobacterium*, встречаются облигатно патогенные, условно-патогенные и сапрофитные виды. Неуклонно растет заболеваемость микобактериозами, обусловленными нетуберкулезными микобактериями, способными вызывать оппортунистические инфекции у людей и животных. Нетуберкулезные микобактерии все чаще признаются причиной инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Цель исследования – анализ литературы, посвященной актуальным методам микробиологической диагностики микобактериальных инфекций. **Материал и методы.** Выполнен поиск и анализ научной литературы в базах данных Web of Science, PubMed, eLibrary.ru, Europe PMC с использованием следующих ключевых слов: микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальные инфекции, MALDI-ToF MS, атипичные микобактерии, mycobacterioses, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, atypical micobacteria. **Результаты и их обсуждение.** В обзоре обобщены и представлены классификация, морфологические, культуральные, генетические и экологические особенности различных микобактерий. Проанализированы современные подходы в диагностике микобактериальных заболеваний и идентификации возбудителей, указаны их преимущества и недостатки. **Заключение.** Микобактериальные инфекции нередко рассматриваются как заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи, требующие детальной оценки ситуации с определением критериев микробиологического мониторинга объектов медицинской организации и т.д. Проанализированные литературные данные демонстрируют разнообразие методов лабораторной диагностики микобактериальных инфекций с необходимостью дальнейшего совершенствования методологических подходов.

Ключевые слова: микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальные инфекции, MALDI-ToF MS, атипичные микобактерии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ № 056-00113-21-00 в части проведения НИР по теме «Разработка методов диагностики и лечения лепрозной инфекции на основе принципов персонализированной медицины».

Автор для переписки: Луценко А.В., e-mail: ahrapova@yandex.ru

Для цитирования: Луценко А.В., Ясенявская А.Л., Самотруева М.А. Микобактериальные инфекции: особенности микробиологической диагностики. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):34–44. doi: 10.18699/SSMJ20230604

Mycobacterial infections: features of microbiological diagnosis

A.V. Lutsenko^{1,2}, A.L. Yaseniyavskaya¹, M.A. Samotrueva¹

¹ Astrakhan State Medical University of Minzdrav of Russia
414000, Astrakhan, Bakinskaya st., 121

² Astrakhan State Technical University
414056, Astrakhan, Tatishcheva st., 16/1

Abstract

To date, more than 200 species of mycobacteria have been identified, in addition to the well-known *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium tuberculosis*. Among microorganisms belonging to the genus *Mycobacterium*, there are obligate pathogenic, opportunistic and saprophytic strains. The incidence of non-tuberculous or atypical mycobacteria, which cause opportunistic infections in humans and animals, is steadily increasing. Non-tuberculous mycobacteria are increasingly recognized as a source of healthcare-associated infections. Aim of the study was to analyze the literature on current methods of microbiological diagnosis of mycobacterial infections. **Material and methods.** A search and analysis of scientific literature in the Web of Science, PubMed, eLIBRARY.RU, Europe PMC databases was performed using the following key words: mycobacteriosis, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, MALDI-TOF MS, atypical mycobacteria. **Results and discussion.** The review summarizes and presents the classification, morphological, cultural, genetic and ecological features of mycobacterial strains. Modern approaches in the diagnosis of mycobacterial diseases and identification of pathogens are analyzed; their advantages and disadvantages are indicated. **Conclusions.** Mycobacterial infections are often considered as diseases associated with the provision of medical care, requiring a detailed assessment of the situation with the definition of criteria for microbiological monitoring of objects of a medical organization, etc. The analyzed literature data demonstrate a variety of methods for laboratory diagnosis of mycobacterial infections with the need for further improvement of methodological approaches.

Key words: mycobacterioses, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, MALDI-TOF MS, atypical mycobacteria.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation № 056-00113-21-00 in terms of conducting research on the topic “Development of methods for diagnosing and treating leprosy infection based on the principles of personalized medicine.”

Correspondence author: Lutsenko A.V., e-mail: ahrapova@yandex.ru.

Citation: Lutsenko A.V., Yasyenyavskaya A.L., Samotrueva M.A. Mycobacterial infections: features of microbiological diagnosis. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):34–44. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230604

Введение

Микобактериальные инфекции – группа прогрессирующих заболеваний различной локализации, вызываемых представителями микобактерий туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* и *M. africanum*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. canettii*), микобактериями лепры (*M. leprae*) и «атипичными» условно-патогенными нетуберкулезными микобактериями (НТМБ) (*M. paratuberculosis*, *M. avium*, *M. haemophilum*, *M. marinum* и др.) [1–4].

Большинство случаев заражения человека НТМБ приходится на лиц с ослабленным иммунитетом. Пожилой возраст, наличие хронической обструктивной болезни легких, а также патологий, приводящих к изменению иммунной компетентности (аутоиммунные заболевания, пандемия ВИЧ/СПИД и др.), повышают склонность к инфицированию НТМБ [5–8]. Кроме того, ему подвержены специалисты, чья деятельность связана с сельским хозяйством, добычей полезных ископаемых, озеленительными и подземными работами [8, 9]. Атипичные микобактерии чаще всего вызывают легочные инфекции (медленно растущие *M. avium* complex и *M. kansasii*, а также быстрорастущие микобактерии, в том числе *M. abscessus* complex), особенно у пациентов со структурными заболеваниями дыхательных

путей (например, муковисцидоз и бронхоэктазы). Наряду с этим атипичные представители микобактерий способны вызывать лимфаденит, инфекции кожи и мягких тканей, сердечно-сосудистой системы, костей и суставов, а также диссеминированные заболевания [11–14].

Угроза ежегодного роста числа пациентов с микробиологически подтвержденным диагнозом обуславливает актуальность проблемы микобактериальных заболеваний и внимание к ней исследователей и клиницистов [15, 16], чему способствует совершенствование диагностических методик выделения и идентификации микобактерий – культивирование в автоматизированных системах с использованием жидких питательных сред, молекулярно-генетические методы, использование высокопроизводительной жидкостной хроматографии миколовых кислот, MALDI-ToF масс-спектрометрия [1, 2, 14, 17].

Цель исследования – анализ литературы, посвященной актуальным методам микробиологической диагностики микобактериальных инфекций.

Материал и методы

Выполнен поиск и анализ научной литературы в базах данных Web of Science, PubMed, eLibrary.ru, Europe PMC с использованием сле-

дующих ключевых слов: микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальные инфекции, MALDI-ToF MS, атипичные микобактерии, mycobacterioses, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, atypical mycobacteria.

Результаты и их обсуждение

Таксономия, генетические и экологические аспекты микобактерий

Семейство Mycobacteriaceae порядка Actinomycetales представляет собой уникальную группу грамположительных, неподвижных, аэробных, неспорообразующих, кислотоустойчивых плеоморфных микроорганизмов, отличающихся исключительной адаптацией и способностью к выживанию в экстремально неблагоприятных условиях. Помимо хорошо известных облигатных патогенов человека, *M. tuberculosis* и *M. leprae*, описано более 200 других видов. Большинство из них составляют естественную микрофлору окружающей среды и особенно активно развиваются в водных и почвенных биотопах. Микобактерии принадлежат к экологической группе сапрофитов, однако могут инфицировать людей, вызывая легочные, кожные и костные заболевания, а также млекопитающих, рептилий и рыб [5, 18–20].

Род *Mycobacterium* представляет собой гомогенную таксономическую единицу, представители которой наделены множеством фенотипических и генотипических признаков, отличающих их от других родов [20]. Среди микроорганизмов, принадлежащих к роду *Mycobacterium*, встречаются облигатно патогенные, условно-патогенные и сапрофитные штаммы [21, 22]. Наружная часть их клеточной стенки состоит из гликолипидов и липогликанов, взаимодействующих с миколовыми кислотами, и покрыта рыхлыми белками, липидами и гликанами. Липидные слои придают микобактериальным клеткам кислотоустойчивость [13, 23, 24]. Строение клеточной стенки микобактерий, богатой миколовыми кислотами, придает им сходство с другими грамположительными бактериями, например, представителями родов *Gordonia*, *Nocardia*, *Rhodococcus* и *Tsukamurella*, но отличительной чертой является содержание значительного количества липидов [1, 19, 22].

При культивировании на плотных средах у некоторых видов наблюдается окрашивание колоний в лимонно-желтый или ярко-оранжевый цвет, индуцированное воздействием света (фотохромогенные микобактерии), или же как в присутствии света, так и без него (скотохромогенные микобактерии). Нефотохромогенные штаммы

образуют неокрашенные или бледно-желтые колонии независимо от освещенности [19, 25]. Хорошо изученными пигментами НТМБ являются каротиноиды, которые участвуют в обезвреживании свободных радикалов, защищая микробную клетку от окислительного стресса [26]. Методом тонкослойной хроматографии определены каротиноиды *M. phlei* (ксантофилы), *M. avium*, *M. kansasii* (альфа- и бета-каротин, ликопин), *M. intracellulare*, *M. aurum*, *M. marinum*, *M. goodii* и *M. scrofulaceum* [26].

Одним из самых мультирезистентных и гипервирулентных патогенов в истории человечества признан *M. tuberculosis*, являющийся возбудителем туберкулеза и причиной гибели 1,5 миллионов человек ежегодно. Растущая лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* представляет собой серьезную медицинскую и экономическую проблему мирового масштаба, что значительно усложняет лечение, в частности, для пациентов с ослабленным иммунитетом [27–29].

M. leprae считалась единственным известным этиологическим агентом лепры до момента идентификации с помощью ПЦР другого близкородственного вида – *M. lepromatosis* у пациентов мексиканского происхождения, умерших от диффузной лепроматозной лепры [30]. Согласно имеющимся на сегодняшний момент данным, локализация *M. lepromatosis* определяется в основном в Северной и Центральной Америке [31]. *M. leprae* и *M. lepromatosis* имеют много сопоставимых характеристик, являясь облигатными внутриклеточными паразитами, не культивируются на искусственных питательных средах, вызывают похожие патологические состояния, но, несмотря на консервативность генома, отличаются по видовой принадлежности из-за некоторых различий в нуклеотидных последовательностях ДНК. В ходе секвенирования *de novo M. lepromatosis* учеными выявлены нуклеотидные полиморфизмы, в связи с чем появилась гипотеза расхождения *M. leprae* и *M. lepromatosis* от общего предка более 13 млн лет назад [28, 32, 33].

НТМБ представляют собой группу всех видов микобактерий, кроме облигатных патогенов комплекса *M. tuberculosis* и *M. leprae*. НТМБ являются почвенными и водными сапрофитами, которые могут вызывать оппортунистические инфекции у людей и животных. Выделяют аэрогенный, фекально-оральный и контактный пути заражения НТМБ, в отличие от *M. tuberculosis* прямая передача от человека к человеку встречается редко [11, 34, 35]. Известно, что микобактериозы, вызываемые атипичными микобактериями, поражают дикие и культивируемые виды водных беспозвоночных [36–38]. Учитывая возможность межви-

довой передачи микобактериальных инфекций у дикого и домашнего крупного рогатого скота, при исследовании образцов тканей животных среди преобладающих видов микобактерий зарегистрированы *M. intracellulare*, *M. lentiflavum*, *M. fortuitum* и *M. chelonae* [9, 11].

НТБМ обычно колонизируют торфяные горшечные грунты, гемодиализные установки, аквариумы и системы бытового водоснабжения, а быстрорастущие НТБМ (*M. fortuitum* complex, *M. chelonae*, *M. abscessus* complex) вызывают внутрибольничные вспышки [11]. Проявляя адгезивные свойства относительно биоматериалов, НТБМ способствуют развитию биопленок в медицинских устройствах (например, катетерах), что в свою очередь способствует развитию патологических состояний, трудно поддающихся диагностике и лечению [13, 39]. Доказано наличие НТБМ в биопленках кухонных раковин, а также в кранах бытовых холодильников и домашних льдогенераторов [9, 40]. Несмотря на то что НТБМ характеризуются умеренной патогенностью, во всем мире растет число заболеваний, вызываемых данной группой микроорганизмов [41].

Микроскопический метод в диагностике микобактерий

Для предварительного количественного обнаружения и выявления морфологических и типичных особенностей этиологически значимых микобактерий, а также сложно поддающихся культивированию микобактерий биоматериал подвергается микроскопическому исследованию. Несмотря на интенсивное развитие современных диагностических методик, микроскопический метод не утратил актуальности в микробиологической диагностике [42]. Использование микроскопии позволяет ускорить получение результата и является наименее затратным [19]. В связи с присутствием пептидогликана в составе клеточной стенки микобактерии относятся к грамположительным бактериям, однако их сложно обнаружить с помощью традиционных методов [43]. В основном микобактерии также не окрашиваются анилиновыми красителями, что значительно усложняет диагностику заболеваний. Большое содержание миколовых кислот в клеточной стенке придает им устойчивость к обесцвечиванию спиртом, что позволяет отличить микобактерии от представителей других таксономических групп на основе методов окрашивания [19].

Изначально немецкий врач и ученый Р. Кох модифицировал методы окраски К. Вейгерта при микроскопии *M. tuberculosis*. После открытия Коха другие исследователи (П. Эрлих, Ф. Циля, Г.Э. фон Риндфлейш, Ф. Нильсен) применили в

его методе карболовую кислоту (фенол) в качестве протравы [44]. Специальная окраска по методу Циля – Нильсена, а также окраска с выбором флуорохромных красителей (аурамин и родамин) широко используются для выявления микобактерий в клиническом материале, но не применимы для проведения дифференциальной диагностики НТБМ с микобактериями туберкулезного комплекса [1, 42].

Микроскопия служит предварительным методом для выявления «открытых форм» туберкулеза, при этом готовят мазки не менее чем из двух образцов диагностического материала (чаще всего мокроты). Установлено, что уже в первом образце кислотоустойчивые микобактерии обнаруживаются у 85,8 % пациентов, второй образец является положительным еще у 11,9 % пациентов [19]. Однако в ряде случаев возможно получение отрицательных результатов, например, если количество выделяемых микобактерий туберкулеза ниже предела чувствительности метода или же бактериовыделение отсутствует, а также микроскопическое обнаружение кислотоустойчивых микобактерий туберкулеза не позволяет отдифференцировать их от НТБМ [45, 46].

Применение методов оптической и сканирующей микроскопии позволили детально изучить особенности структуры, этапы формирования и «кластерную» архитектуру биопленок микобактерий на примере паспортизированных штаммов *M. avium*, *Mycobacterium* B5 № 12 [47]. Подтверждена адаптационная изменчивость в виде гетероморфизма клеток с трансформацией в L-формы, что обеспечивает выживаемость микобактерий в экстремальных условиях [47, 48].

Во многих исследованиях показаны преимущества флуоресцентной микроскопии, ранее не получившей широкого распространения по причине дороговизны и частого перегорания ртутных ламп, а также необходимости условий постоянного электроснабжения. С появлением светодиодной флуоресцентной микроскопии метод стал более экономически выгодным и в настоящее время является ценной альтернативой стандартной окраске по Цилю – Нильсену. Модификации различных техник окрашивания с применением современного оборудования позволяют еще эффективнее применять этот старейший диагностический метод [44, 49]. Предприняты попытки обнаружения микобактерий туберкулеза модификацией метода иммунофлуоресценции с использованием легированного наночастицами диоксида кремния для создания усиленного флуоресцентного сигнала [50].

Культуральный метод для выявления микобактериальных возбудителей в диагностическом материале

Следующим этапом диагностического алгоритма является подбор питательных сред с оптимальным составом полезных веществ для выращивания культивируемых микобактериальных возбудителей, обнаруженных в мазке. Важным преимуществом культурального метода является возможность идентификации микобактериального штамма и детального исследования его лекарственной чувствительности, вирулентности и других биологических свойств [51].

Для выявления и изучения микобактериальных инфекций проводят посев отделяемого ран, образцов биопсии тканей легких, печени, почек и биологических жидкостей (моча, перитонеальная, плевральная, синовиальная, перикардальная, цереброспинальная жидкости, бронхоальвеолярный лаваж), предварительно осуществляя процедуру обеззараживания образца для исключения обсемененности другими бактериями и грибами [19, 52, 53].

Неотъемлемыми критериями лабораторной диагностики микобактериозов являются соответствующие условия для сбора, хранения и обработки образцов, поскольку эти микроорганизмы присутствуют в окружающей среде и могут быть занесены извне. Ложноположительные результаты могут привести к некорректному лечению. Чем длительнее временной промежуток между сбором, транспортировкой и обработкой образцов, тем выше вероятность роста контаминирующей сапрофитной микрофлоры в питательных средах. Образцы должны транспортироваться в герметичной таре, запечатанной и сертифицированной. Если транспортировка в лабораторию задерживается более чем на 1 ч с момента сбора образцов, их следует хранить при температуре от +2 до +8 °C [19, 53].

Применение антибиотиков с микобактерицидным действием, таких как макролиды и хинолоны, может привести к отрицательным результатам, в связи с чем антибиотикотерапия должна быть прекращена как минимум за 15 дней до забора материала [53]. Нередко положительный результат обусловлен связью высеванных микобактерий с патологическим процессом или же бессимптомной колонизацией органов и систем больного. Таким образом, необходимы строгий противоэпидемический режим в бактериологических лабораториях и организация регулярного микробиологического мониторинга объектов среды в самой лаборатории [2, 53, 54]. Важно подчеркнуть, что водопроводная или даже фильт-

рованная вода может привести к загрязнению анализируемого материала [53].

Диагностика микобактериозов очень часто осложняется неоднородностью группы НТМБ. Микобактерии отличаются по скорости роста – быстрорастущим видам требуется менее 3 сут инкубирования в жидких питательных средах, для формирования колоний – на плотных питательных средах, из-за чего они могут быть ошибочно идентифицированы как контаминирующая микрофлора. Напротив, для культивирования медленно растущих микобактерий могут потребоваться недели или даже месяцы [1, 18].

Сложности культивирования микобактерий *in vitro* связаны с их физиологическими особенностями, поэтому питательные среды должны соответствовать необходимым требованиям: используются многокомпонентные среды, богатые неорганическими веществами, альбумином, каталазой, глицерином и декстрозой в качестве источников углерода, с добавлением Tween 80 и яичных белков [52, 54].

Культивирование на плотных средах позволяет изучить морфологию и скорость роста колоний, дифференцировать микобактерии по способности к пигментообразованию, получить чистую культуру возбудителя для дальнейшей видовой идентификации, определить чувствительность к лекарственным препаратам [14, 49]. На сегодняшний момент разработаны кровяные (среды Тарши, Дюбо, агары Миддлбрук 7Н10 и 7Н11) и яичные плотные питательные среды (среды Финн-П, Левенштейна – Йенсена) [49, 55]. К яичным также относится среда Дорсета, которую чаще всего используют для транспортировки микобактерий [49]. С.Л. Preese et al. сообщают, что *M. abscessus* и его подвиды, а также другие быстрорастущие микобактерии могут быть выделены с применением селективного агара (BCSA), который обычно используется для выращивания *Burkholderia cepacia* [56].

Известно, что жидкие среды обеспечивают более быстрый рост и обнаружение микобактерий туберкулезного комплекса, однако подвержены контаминации сопутствующей микрофлорой [14, 19, 34, 56, 57]. В них создаются оптимальные условия для накопления биомассы микобактериальных клеток. Например, в состав сред Сотона, Моделя, Школьниковой включены все необходимые элементы (магний, натрий, железо, фосфор и др.) для жизнедеятельности *M. tuberculosis* [58]. Культивирование микобактерий на жидких средах с использованием автоматического микробиологического анализатора BACTEC MGIT 960 характеризуется высокой чувствительностью и возможностью детального изучения и идентифи-

кации полученных культур, что позволяет выявлять в диагностируемом образце микобактерий туберкулеза и НТМБ. Совершенно очевидно, что к неоспоримым преимуществам данного метода относятся высокая эффективность стандартизованных на уровне сертифицированных по ISO 9001 производств реагентов и сред, а также использование заданных протоколов исследований [50, 59].

Молекулярно-генетический метод диагностики микобактериальных инфекций

В комплексе с микроскопическим и культуральным методами исследования используют молекулярно-генетический метод. В любой нозологии точная идентификация этиологического агента имеет решающее значение для диагностики, лечения и предупреждения вспышек инфекционных заболеваний [41, 60]. Однако несмотря на совершенствование известных методов и появление новых подходов, идентификация микобактерий по-прежнему проблематична по причине фенотипической пластичности возбудителей, их лекарственной устойчивости, полиморфизма и вирулентных свойств [57]. С другой стороны, комплексные молекулярные исследования филогенетически значимых фрагментов генома микобактерий позволили установить высокую идентичность нуклеотидных последовательностей гена *16S* рРНК (94,3 %), что демонстрирует единую эволюционную ветвь и доказывает происхождение медленно растущих микобактерий от быстро растущих штаммов [19, 41, 61–63].

По причине длительного культивирования микобактерий, особенно медленно растущих видов, молекулярно-генетический анализ является наиболее часто используемым подходом для идентификации микобактериальных возбудителей [41, 63]. К преимуществам современных молекулярно-генетических методов относятся значительное сокращение продолжительности исследований и возможность выявления микобактерий в различном биоматериале. Долгое время приоритетным методом идентификации микобактерий считался анализ биохимических свойств и культуральных признаков, но впоследствии он был признан трудновоспроизводимым и длительным [18, 38]. Минимизация ручного труда, имеющая место при использовании как автоматизированных бактериологических анализаторов, так и современных молекулярно-генетических методов, снижает вероятность ошибок оператора при выполнении исследований указанными методами [38].

Также широко используются ПЦР, связанная с анализом рестрикционных ферментов (PRA), мультиплексная и вложенная [64]. Наиболее

эффективными признаны молекулярно-генетические методы, основанные на гибридизации с ДНК-зондами (Line Probe Assay, LPA), в частности, GenoType® Mycobacterium CM/AS, GenoType® MTBC, INNO-LiPA MYCOBACTERIA [61]. При анализе линейных зондов (LPA) образец ДНК амплифицируют с помощью ПЦР с биотинилированными праймерами. Затем продукты пропускают по полоске нитроцеллюлозной бумаги, содержащей ДНК-зонды, которые при связывании с ДНК-мишенью активируют колориметрический индикатор [62, 64].

Система GenoType MTBDRsl имеет дополнительные зонды для мутаций в генах *gyrA*, *rrs* и *embB*, соответственно кодирующих ДНК-гиразу, рибосомную субъединицу 16S, часть арабинозилтрансферазы и являющихся мишенями для фторхинолонов, аминогликозидов и капреомицина, этамбутола [62, 64]. LPA обладает высокой чувствительностью (≥ 97 %) и специфичностью (≥ 99 %) для выявления устойчивости к рифампицину и изониазиду (чувствительность ≥ 90 %, специфичность ≥ 99 %) у изолятов *M. tuberculosis* и в положительных мазках образцов мокроты [65].

Диагностические лаборатории противотуберкулезных учреждений активно применяют высокочувствительный и специфичный тест GeneXpert MTB/RIF, выявляющий в диагностируемом биоматериале наличие генетических маркеров *M. tuberculosis* и мутаций, связанных с множественной лекарственной устойчивостью [45]. Картриджи GeneXpert предварительно запрограммированы всеми необходимыми реагентами для обработки образцов, выделения ДНК, амплификации и обнаружения амплифицированного гена-мишени *rpo B*. Основное преимущество теста Xpert MTB/RIF заключается в том, что его можно точно провести с минимальными техническими затратами [65].

Следует отметить, что при выявленной монорезистентности к рифампицину примерно у 5 % устойчивых к рифампицину штаммов обнаружена одновременная резистентность к изониазиду (~95 %). Таким образом, резистентность к рифампицину можно использовать в качестве высокоточного маркера туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью [62, 66].

Хроматографические методы в идентификации микобактерий

Для диагностики заболеваний, вызываемых некультивируемыми или же долгорастущими микробными возбудителями, целесообразно применение хроматографических методов. Нестандартность архитектуры клеточной стенки с разнообразием миколовых кислот и липидов

позволяет идентифицировать НТМБ с помощью ВЭЖХ, признанной наиболее перспективным и распространенным методом во многих областях исследований: фармакокинетика, фармацевтика, клинические анализы, контроль загрязнений пищевых продуктов и окружающей среды, нефтехимия и др. [41, 60]. В основе идентификации с применением ВЭЖХ лежит сравнение хроматографических профилей анализируемого штамма с эталонными образцами, решающее значение имеет время элюирования и высота одиночных пиков [41].

Внедрение лазерной десорбционной-ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии с использованием матрицы MALDI-ToF MS произвело революцию в диагностике инфекционных заболеваний [67]. MALDI-ToF MS — это аналитический метод, при котором частицы ионизируются, разделяются в соответствии с отношением их массы к заряду и измеряются путем определения времени, необходимого ионам для перемещения к детектору. Полученный спектр белков, полученных из изолятов или приготовленных экстрактов бактериальных клеток, сравнивается с базой данных спектров известных организмов, обеспечивая надежную идентификацию микроорганизма в течение нескольких минут [68]. Эта технология позволяет идентифицировать грамположительные, грамотрицательные, аэробные и анаэробные бактерии, а также микобактерии, дрожжи и плесневые грибы, как правило, на уровне видов, с более высокой точностью, чем традиционные методы. Из-за небольшого количества требуемой биомассы тестирование часто можно проводить из первичной культуры, если доступна одна хорошо изолированная колония. Неотъемлемое сходство между организмами и ограниченное количество спектров в базе данных могут привести к ошибочному определению видов, а также к ошибочной идентификации. Эти ошибки возникают относительно редко и обычно могут быть устранены с помощью дополнительного тестирования [69–71].

Другие хроматографические методы (тонкослойная и газожидкостная хроматография), несомненно, являются мощным ресурсом для проведения исследований, однако финансово затратны и, к сожалению, имеют ограниченное применение в диагностических лабораториях [2, 41].

Заключение

Микобактериальные заболевания широко распространены, и инфицирование организма человека может осуществляться различными путями. Отмечается рост заболеваемости НТМБ или атипичными микобактериями, вызывающими оппор-

тунистические инфекции у людей и животных, что определяет своевременность диагностики и оптимизацию алгоритмов выделения и идентификации. Микобактериальные инфекции нередко рассматриваются как заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи, требуя детальной оценки ситуации с определением критериев микробиологического мониторинга объектов медицинской организации и т.д. Представленные в проанализированных литературных источниках данные демонстрируют разнообразие методов лабораторной диагностики микобактериальных инфекций с необходимостью дальнейшего совершенствования методологических подходов.

Список литературы/References

1. Лямин А.В., Жестков А.В., Исмагуллин Д.Д., Ковалев А.М. Лабораторная диагностика микобактериозов. *Вестн. соврем. клин. мед.* 2017;10(1):29–35. doi: 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35
Lyamin A.V., Zhestkov A.V., Ismatullin D.D., Kovalev A.M. Laboratory diagnostics of mycobacterioses. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny = Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2017;10(1):29–35. [In Russian]. doi: 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35
2. Фазылов В.Х., Петров И.В., Петрова Л.В., Петрова Ф.С., Амирова Т.Х. Проблемы лабораторной диагностики и идентификации видов микобактерий. *Инфекц. болезни: новости, мнения, обуч.* 2021;10(3-38):118–126. doi: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-118-126
Fazylov V.Kh., Petrov I.V., Petrova L.V., Petrova F.S., Amirova T.Kh. Problems of laboratory diagnostics and identification of mycobacterium species: literature review. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2021;10(3-38):118–126. [In Russian]. doi: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-118-126
3. Соломай Т.В. Эпидемиологические особенности микобактериозов, вызванных нетуберкулезными микобактериями. *Санитар. врач.* 2015;(3):30–36.
Solomay T.V. Epidemiological features of mycobacterioses caused by nontuberculous mycobacteria. *Sanitarnyy vrach = Sanitary Doctor*. 2015;(3):30–36. [In Russian].
4. Riojas M.A., McGough K.J., Rider-Riojas C.J., Rastogi N., Hazbón M.H. Phylogenomic analysis of the species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex demonstrates that *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium pinnipedii* are later heterotypic synonyms of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018;68(1):324–332. doi: 10.1099/ijsem.0.002507

5. Pavlik I., Ulmann I., Hubelova D., Weston R.T. Nontuberculous mycobacteria as saproscites: A review. *Microorganisms*. 2022;10(7):1345. doi: 10.3390/microorganisms10071345
6. Shah J.A., Lindestam Arlehamn C.S., Horne D.J., Sette A., Hawn T.R. Nontuberculous mycobacteria and heterologous immunity to tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 2019;220(7):1091–1098. doi: 10.1093/infdis/jiz285
7. Munjal S., Munjal S., Gao J., Venketaraman V. Exploring potential COPD immunosuppression pathways causing increased susceptibility for MAC infections among COPD patients. *Clin. Pract.* 2021;11(3):619–630. doi: 10.3390/clinpract11030077
8. Mortaz E., Moloudizargari M., Varahram M., Movassaghi M., Garssen J., Kazempour Dizagie M., Mirsaedi M., Adcock I.M. What immunological defects predispose to non-tuberculosis mycobacterial infections? *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2018;17(2):100–109.
9. Honda J.R., Viridi R., Chan E.D. Global environmental nontuberculous mycobacteria and their contemporaneous man-made and natural niches. *Front. Microbiol.* 2018;9:2029. doi: 10.3389/fmicb.2018.02029
10. Hamada S., Ito Y., Hirai T., Murase K., Tsuji T., Fujita K., Mio T., Maekawa K., Fujii F., Ono S., ... Mishima M. Impact of industrial structure and soil exposure on the regional variations in pulmonary nontuberculous mycobacterial disease prevalence. *Int. J. Mycobacteriol.* 2016;5(2):170–176. doi: 10.1016/j.ijmyco.2016.02.006
11. Johnson T.M., Byrd T.F., Drummond W.K., Childs-Kean L.M., Mahoney M.V., Pearson J.C., Rivera C.G. Contemporary pharmacotherapies for nontuberculosis mycobacterial infections: a narrative review. *Infect. Dis. Ther.* 2023;12(2):343–365. doi: 10.1007/s40121-022-00750-5
12. Wi Y.M. Treatment of extrapulmonary nontuberculous mycobacterial diseases. *Infect. Chemother.* 2019;51(3):245–255. doi: 10.3947/ic.2019.51.3.245
13. Bento C.M., Gomes M.S., Silva T. Looking beyond typical treatments for atypical mycobacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(1):18. doi: 10.3390/antibiotics9010018
14. Koh W.J. Nontuberculous mycobacteria – overview. *Microbiol. Spectr.* 2017;5(1). doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0024-2016
15. Зими́на В.Н., Дегтярева С.Ю., Белобородова Е.Н., Кулабухова Е.И., Русакова Л.И., Фесенко О.В. Микобактериозы: современное состояние проблемы. *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия*. 2017;19(4):276–282.
Zimina V.N., Degtyareva S.Yu., Beloborodova E.N., Kulabukhova E.I., Rusakova L.I., Fesenko O.V. A current state of mycobacterioses. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2017;19 (4):276–282. [In Russian].
16. Prevots D.R., Loddenkemper R., Sotgiu G., Migliori G.B. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an increasing burden with substantial costs. *Eur. Respir. J.* 2017;49(4):1700374. doi: 10.1183/13993003.00374-2017
17. Петров И.В., Амирова Т.Х., Петрова Л.В., Петрова Ф.С., Севастьянова Э.В., Валиев Р.И. Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов. *Эпидемиол. и вакцинопрофилактика*. 2020;19(3):89–94. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94
Petrov I.V., Amirova T.Kh., Petrova L.V., Petrova F.S., Sevastyanova E.V., Valiev R.I. Microbiological and epidemiological features of mycobacteriosis. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):89–94. [In Russian]. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94
18. Delghandi M.R., El-Matbouli M., Menanteau-Ledouble S. Mycobacteriosis and infections with non-tuberculous mycobacteria in aquatic organisms: A review. *Microorganisms*. 2020;8(9):368. doi: 10.3390/microorganisms8091368
19. Forbes B.A., Hall G.S., Miller M.B., Novak S.M., Rowlinson M.C., Salfinger M., Somoskövi A., Warshauer D.M., Wilson M.L. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018;31(2):e00038-17. doi: 10.1128/CMR.00038-17
20. Fedrizzi T., Meehan C.J., Grottole A., Giacobazzi E., Serpini G.F., Tagliazucchi S., Fabio A., Bettua C., Bertorelli R., de Sanctis V., ... Segata N. Genomic characterization of nontuberculous mycobacteria. *Sci. Rep.* 2017;7:45258. doi: 10.1038/srep45258
21. Forbes B.A. Mycobacterial taxonomy. *J. Clin. Microbiol.* 2017;55(2):380–383. doi: 10.1128/JCM.01287-16
22. Pfyffer G.E. Mycobacterium: general characteristics, laboratory detection, and staining procedures. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 11th Ed. ASM Press, 2015. P. 536–569. doi: 10.1128/9781555817381.ch30
23. Daffe M. The cell envelope of tubercle bacilli. *Tuberculosis (Edinb)*. 2015;95(S1):S155–S158. doi: 10.1016/j.tube.2015.02.024
24. Vilcheze C., Kremer L. Acid-fast positive and acid-fast negative Mycobacterium tuberculosis: The Koch paradox. *Microbiol. Spectr.* 2017;5(2). doi: 10.1128/microbiolspec.tb2-0003-2015
25. Смолянинов Ю.И., Волков Д.В., Ионина С.В., Брем А.К. Распространение и фенотипические свойства атипичных микобактерий, изолированных от свиней и объектов внешней среды. *Инновации и прод. безопас.* 2022;35(1):90–100. doi: 10.31677/2311-0651-2022-35-1-90-100
Smolyaninov Yu.I., Volkov D.V., Ionina S.V., Brem A.K. Distribution and phenotypic properties of atypical mycobacteria isolated from pigs and environmental medium objects. *Innovatsii i prodovol'st-*

vennaya bezopasnost' = Innovation and Food Safety. 2022;35(1):90–100. [In Russian]. doi: 10.31677/2311-0651-2022-35-1-90-100

26. Tran T., Dawrset S.N., Norton G.J., Virdi R., Honda J.R. Brought to you courtesy of the red, white, and blue—pigments of nontuberculous mycobacteria. *AIMS Microbiol.* 2020;6(4):434. doi: 10.3934/microbiol.2020026

27. de Martino M., Lodi L., Galli L., Chiappini E. Immune response to *Mycobacterium tuberculosis*: a narrative review. *Front. Pediatr.* 2019;(7):350. doi: 10.3389/fped.2019.00350

28. Jagielski T., Minias A., Ingen J., van Rastogi N., Brzostek A., Zaczek A., Dziadek J. Methodological and clinical aspects of the molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* and other mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016;29(2):239–290. doi: 10.1128/CMR.00055-15

29. World Health Organization. 2014. Global tuberculosis report 2014 (WHO/HTM/TB/2014.08). Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/137094/9789241564809_eng.pdf

30. Sharma R., Singh P., McCoy R.C., Lenz S.M., Donovan K., Ochoa M.T., Estrada-Garcia I., Silva-Miranda M., Jurado-Santa Cruz F., Balagon M.F., ... Adams L.B. Isolation of *Mycobacterium lepromatosis* and development of molecular diagnostic assays to distinguish *Mycobacterium leprae* and *M. lepromatosis*. *Clin. Inf. Dis.* 2020;71(8):e262–e269. doi: 10.1093/cid/ciz1121

31. Sotiriou M.C., Stryjewska B.M., Hill C. Case report: two cases of leprosy in siblings caused by *Mycobacterium lepromatosis* and review of the literature. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016;95(3):522. doi: 10.4269/ajtmh.16-0076

32. Scollard D.M. Infection with *Mycobacterium lepromatosis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016;95(3):500–501. doi: 10.4269/ajtmh.16-0473

33. Gurung P., Gomes C.M., Vernal S., Leeflang M.M.G. Diagnostic accuracy of tests for leprosy: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019;25(11):1315–1327. doi: 10.1016/j.cmi.2019.05.020

34. van Ingen J. Diagnosis of nontuberculous mycobacterial infections. Seminars in respiratory and critical care medicine. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2013;34(1):103–109. doi: 10.1055/s-0033-1333569

35. Turenne C.Y. Nontuberculous mycobacteria: insights on taxonomy and evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2019;72:159–168. doi: 10.1016/j.meegid.2019.01.017

36. Davidovich N., Morick D., Carella F. Mycobacteriosis in aquatic invertebrates: A review of its emergence. *Microorganisms.* 2020;8(8):1249. doi: 10.3390/microorganisms8081249

37. Carella F., Aceto S., Pollaro F., Miccio A., Iaria C., Carrasco P.P., Prado P., de Vico G. A mycobacterial disease is associated with the silent mass mortality of the pen shell *Pinna nobilis* along the Tyrrhenian coast-

line of Italy. *Sci. Rep.* 2019;9(1):2725. doi: 10.1038/s41598-018-37217-y

38. Davidovich N., Pretto T., Blum S.E., Baidar Z., Grossman R., Kaidar-Shwartz H., Dveyrin Z., Rorman E. *Mycobacterium gordonae* infecting redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Dis. Aquat. Organ.* 2019;135(2):169–174. doi: 10.3354/dao03392

39. Esteban J., Garcia-Coca M. *Mycobacterium* Biofilms. *Front. Microbiol.* 2018;(8):2651. doi: 10.3389/fmicb.2017.02651

40. Ichijo T., Izumi Y., Nakamoto S., Yamaguchi N., Nasu M. Distribution and respiratory activity of mycobacteria in household water system of healthy volunteers in Japan. *PLoS One.* 2014;9(10):e110554. doi: 10.1371/journal.pone.0110554

41. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014;27(4):727–752. doi: 10.1128/CMR.00035-14

42. Севастьянова Э.В., Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю. Выявление микобактерий методом микроскопии препаратов, окрашенных по Цилю-Нильсену. *Вестн. ЦНИИТ.* 2019;(1):100–108. doi: 10.7868/S2587667819010114

Sevastyanova E.V., Larionova E.E., Andrievskaya I.Yu. Microscopic detection of mycobacteria by Ziehl-Neelsen staining technique. *Vestnik Tsentral'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza = CTRI Bulletin.* 2019;(1):100–108. [In Russian]. doi: 10.7868/S2587667819010114

43. Caulfield A.J., Wengenack N.L. Diagnosis of active tuberculosis disease: From microscopy to molecular techniques. *J. Clin. Tuberc. Other Mycobact. Dis.* 2016;(4):33–43. doi: 10.1016/j.jctube.2016.05.005

44. Singhal R., Myneedu V.P. Microscopy as a diagnostic tool in pulmonary tuberculosis. *Int. J. Mycobacteriol.* 2015;4(1):1–6. doi: 10.1016/j.ijmyco.2014.12.006

45. Ковальчук А.В., Еременко Е.П., Кузнецова А.Н., Рогожкин П.В., Инькова Е.П. Методы диагностики лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза. *Мед. сестра.* 2019;21(8):7–9. doi: 10.29296/25879979-2019-08-02

Kovalchuk A.V., Eremenko E.P., Kuznetsova A.N., Rogozhkin P.V., Inkova E.P. Methods for diagnosing of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Meditinskaya sestra = The Nurse.* 2019;21(8):7–9. [In Russian]. doi: 10.29296/25879979-2019-08-02

46. Родионова Ю.Д., Гусякова О.А., Лямин А.В., Бородулина Е.А., Козлов А.В. Оценка влияния условий хранения мокроты на витальные свойства микобактерий туберкулеза. *Туберкулез и болезни легких.* 2017;95(1):42–46. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-1-42-46

Rodionova Yu.D., Gusyakov O.A., Lyamin A.V., Borodulina E.A., Kozlov A.V. Evaluation of the influence of sputum storage conditions on the vital properties of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberkulez i*

- bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases. 2017;95(1):42–46. [In Russian]. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-1-42-46
47. Павлова И.Б., Ленченко Е.М., Антонова А.Н. Изучение морфологии популяции микобактерий методами оптической и электронной микроскопии. *Рос. ж. «Пробл. вет. сан., гигиены и экол.»*. 2017;(4):76–82.
- Pavlova I.B., Lenchenko E.M., Antonova A.N. Study of morphology of microbacterial population by methods of optical and electronic microscopy. *Rossiyskiy zhurnal «Problemy veterinarnoi sanitarii, gigienny i ekologii» = Russian Journal «Problems on Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology»*. 2017;(4):76–82. [In Russian].
48. Нуратинов Р.А. Экологические условия существования популяций микобактерий. *Юг Рос.: экол., развитие*. 2014;9(2):18–30.
- Nuratinov R.A. Ecological conditions for the existence mycobacteria populations. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye = South of Russia: Ecology, Development*. 2014;9(2):18–30. [In Russian].
49. Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Севастьянова Э.В. Культуральный метод исследования микобактерий. Плотные питательные среды. *Вестн. ЦНИИТ*. 2020;(3):75–86. doi: 10.7868/S2587667820030103
- Larionova E.E., Andrievskaya I.Yu., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Sevastyanova E.V. The culture method for mycobacteria studies. Solid growth media. *Vestnik Tsentral'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza = CTRI Bulletin*. 2020;(3):75–86. [In Russian]. doi: 10.7868/S2587667820030103
50. Chang E.W., Page A.L., Bonnet M. Light-emitting diode fluorescence microscopy for tuberculosis diagnosis: a meta-analysis. *Eur. Resp. J.* 2016;47(3):929–937. doi: 10.1183/13993003.00978-2015
51. Usmonov I., Shukurov U. Features of the clinical course, the state of diagnosis and treatment of hiv-associated pulmonary tuberculosis in modern conditions literature review. *An. of the Roman. Soc. for Cell Biol.* 2021;25(4):1809–1828.
52. Rageade F., Picot N., Blanc-Michaud A., Chatellier S., Mirande C., Fortin E., van Belkum A. Performance of solid and liquid culture media for the detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical materials: Meta-analysis of recent studies. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2014;33(6):867–870. doi: 10.1007/s10096-014-2105-z
53. Nogueira L.B., Garcia C.N., Costa M.S.C.D., Moraes M.B., Kurizky P.S., Gomes C.M. Non-tuberculous cutaneous mycobacterioses. *An. Bras. Dermatol.* 2021;96(5):527–538. doi: 10.1016/j.abd.2021.04.005
54. Петров И.В., Амирова Т.Х., Петрова Л.В., Петрова Ф.С. Микобактериоз как инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи (обзор эпидемиологических исследований). *Здоровье населения и среда обитания*. 2020;(7):37–41. doi: 10.35627/2219-5238/2020-328-7-37-41
- Petrov I.V., Amirova T.Kh., Petrova L.V., Petrova F.S. Mycobacteriosis as a healthcare-associated infection: a review of epidemiological studies. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*. 2020;(7):37–41. [In Russian]. doi: 10.35627/2219-5238/2020-328-7-37-41
55. Atlas R.M., Snyder J.W. Handbook of media for clinical and public health microbiology. Boca Raton: CRC Press, 2013; 561 p. doi: 10.1201/b15973
56. Preece C.L., Wichelhaus T.A., Perry A., Jones A.L., Cummings S.P., Perry J.D., Hogardt M. Evaluation of various culture media for detection of rapidly growing mycobacteria from patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.* 2016;54(7):1797–1803. doi: 10.1128/JCM.00471-16
57. Somoskovi A., Salfinger M. Nontuberculous mycobacteria in respiratory infections: advances in diagnosis and identification. *Clin. Lab. Med.* 2014;34(2):271–295. doi: 10.1016/j.cll.2014.03.001
58. Свириденко Н.А., Боганец Н.С., Аппельганц Л.Т. Возможности повышения эффективности культурального метода для выделения микобактерий туберкулеза. *Достиж. науки и техн. АПК*. 2015;29(4):51–52.
- Sviridenko N.A., Boganets N.S., Appelgants L.T. Possibilities to improve the efficiency of cultural methods for isolation of Mycobacterium tuberculosis. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2015;29(4):51–52. [In Russian].
59. Севастьянова Э.В., Ларионова Е.Е., Смирнова Т.Г., Андриевская И.Ю., Андреевская С.Н., Черноусова Л.Н. Оценка результатов выявления микобактерий, полученных различными методами исследования. *Мед. альянс*. 2018;(3):25–30.
- Sevastyanova E.V., Larionova E.E., Smirnova T.G., Andrievskaya I.Yu., Andreevskaya S.N., Chernousova L.N. Evaluation of the results of mycobacterium detection, obtained by different studies methods. *Meditsinskiy al'yans = Medical Alliance*. 2018;(3):25–30. [In Russian].
60. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Высокоскоростная ВЭЖХ (краткий обзор). *Сорбц. и хроматогр. процессы*. 2022;22(1):6–11. doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/9015
- Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. High-speed HPLC (brief review). *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy = Sorption and Chromatographic Processes*. 2022;22(1):6–11. [In Russian]. doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/9015
61. Tortoli E. Phylogeny of the genus Mycobacterium: many doubts, few certainties. *Infect. Genet. Evol.* 2012;12(4):827–831. doi: 10.1016/j.meegid.2011.05.025
62. Ryu Y.J. Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms. *Tuberc.*

Respir. Dis. (Seoul). 2015;78(2):64–71. doi: 10.4046/trd.2015.78.2.64

63. Добин В.Л. Представления об эволюции туберкулезных микобактерий. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(8):59–65. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

Dobin V.L. Understanding of *Mycobacterium tuberculosis* evolution. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018;96(8):59–65. [In Russian]. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

64. Bolaños C.A.D., Paula C.L., Guerra S.T., Franco M.M.J., Ribeiro M.G. Diagnosis of mycobacteria in bovine milk: an overview. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2017;(59):e40. doi: 10.1590/S1678-9946201759040

65. Cudahy P., Shenoi S.V. Diagnostics for pulmonary tuberculosis. *Postgrad. Med. J.* 2016;92(1086):187–193. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133278

66. Weyer K., Mirzayev F., Migliori G.B., van Gemert W., D'Ambrosio L., Zignol M., Floyd K., Centis R., Cirillo D.M., ... Raviglione M. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policymaking and global implementation of Xpert MTB/RIF. *Eur. Respir. J.* 2013;42(1):252–271. doi: 10.1183/09031936.00157212

67. Carbonnelle E., Mesquita C., Bille E., Day N., Dauphin B., Beretti J.L., Ferroni A., Gutmann L., Nassif X. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory.

Clin. Biochem. 2011;44(1):104–109. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.06.017

68. Neuschlova M., Vladarova M., Kompanikova J., Sadlonova V., Novakova E. Identification of *Mycobacterium* species by MALDI-TOF mass spectrometry. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;10(1):37–42. doi: 10.1007/5584_2017_26

69. Rychert J. Benefits and limitations of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of microorganisms. *J. Inf. Epidem.* 2019;2(4):1–5. doi: 10.29245/2689-9981/2019/4.1142

70. Tan K.E., Ellis B.C., Lee R., Stamper P.D., Zhang S.X., Carroll K.C. Prospective evaluation of a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system in a hospital clinical microbiology laboratory for identification of bacteria and yeasts: A bench-by-bench study for assessing the impact on time to identification and cost-effectiveness. *J. Clin. Microbiol.* 2012;50(10):3301–3308. doi: 10.1128/JCM.01405-12

71. Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д. Микобактериозы: особенности эпидемиологии и лабораторной диагностики. *Асп. вестн. Поволжья*. 2016; (5-6):204–208.

Lyamin A.V., Ismatullin D.D. Mycobacterioses: features of epidemiology and laboratory diagnostics. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya = Postgraduate Bulletin of the Volga Region*. 2016;(5-6):204–208. [In Russian].

Сведения об авторах

Луценко Анна Викторовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-8423-3351, e-mail: ahrapova@yandex.ru

Ясенявская Анна Леонидовна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen_9@mail.ru

Самотруева Марина Александровна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-5336-4455, e-mail: ms1506@mail.ru

Information about the authors:

Anna V. Lutsenko, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-8423-3351, e-mail: ahrapova@yandex.ru

Anna L. Yasyenyavskaya, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen_9@mail.ru

Marina A. Samotrueva, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-5336-4455, e-mail: ms1506@mail.ru

Поступила в редакцию 14.06.2023

После доработки 19.07.2023

Принята к публикации 02.08.2023

Received 14.06.2023

Revision received 19.07.2023

Accepted 02.08.2023

Бронхолегочная система в рамках синдрома пост-COVID-19: обзор литературы

А.М. Нестерец, А.Д. Худякова, А.Б. Куртукова, И.И. Логвиненко

*НИИ терапии и профилактической медицины –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

Резюме

Целью данного обзора является описание имеющихся научных данных о синдроме пост-COVID-19, формирование основных подходов к классификации, определение потенциальных механизмов его патогенеза, а также определение механизмов развития патологии бронхолегочной системы в рамках синдрома пост-COVID-19. Известно, что длительное сохранение симптомов COVID-19 значительно снижает качество жизни пациентов посредством прямого или косвенного влияния вируса SARS-CoV-2 на ряд органов и систем. В обзоре подробно рассмотрены возможные патогенетические механизмы синдрома пост-COVID-19, описаны наиболее распространенные последствия острого COVID-19 с учетом тяжести заболевания, включая заболевания дыхательной системы, в частности интерстициальные и бронхообструктивные заболевания. Особое внимания уделено вышеуказанным проблемам с целью описания и структурирования имеющихся научных данных о заболеваниях легких в рамках синдрома пост-COVID-19. При этом стоит отметить, что исследований, посвященных изменениям со стороны бронхолегочной системы в постковидный период, крайне мало. Основная их масса затрагивает лишь отдельные проявления заболеваний дыхательной системы, в частности кашель и одышку, и не направлена на определение причинно-следственных связей и отношения этих симптомов к конкретной нозологии. Учитывая сохраняющуюся высокую заболеваемость COVID-19, не остается сомнений в необходимости проведения дополнительных исследований бронхолегочных проявлений постковидного синдрома. В качестве литературных источников использовались сведения из баз данных PubMed, eLibrary, Scopus, Jstor, HighWire Press, Medscape.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, COVID-19, синдром пост-COVID-19, SARS-CoV-2, легочный фиброз, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, заболевания бронхолегочной системы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Литературный обзор выполнен в рамках бюджетной темы «Формирование когорт детского, подросткового, молодого населения для изучения механизмов и особенностей жизненного цикла человека в российской популяции», рег. № 122031700115-7.

Автор для переписки: Нестерец А.М., e-mail: alinvaleeva1994@gmail.com

Для цитирования: Нестерец А.М., Худякова А.Д., Куртукова А.Б., Логвиненко И.И. Бронхолегочная система в рамках синдрома пост-COVID-19: обзор литературы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):45–54. doi: 10.18699/SSMJ20230605

Bronchopulmonary system within the confines of post-COVID-19 syndrome: literature review

A.M. Nesterets, A.D. Khudiakova, A.B. Kurtukova, I.I. Logvinenko

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine –
Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS
630089, Novosibirsk, Borisa Bogatkova st., 175/1*

Abstract

The purpose of this review is to describe the available scientific data on the post-COVID-19 syndrome, formulate the main approaches to classification, determine the potential mechanisms of its pathogenesis, as well as determine the mechanisms of the occurrence of bronchopulmonary system pathology within the framework of the post-COVID-19

syndrome. It is known that long-term persistence of COVID-19 symptoms significantly reduces the quality of life of patients through the direct or indirect effect of the SARS-CoV-2 virus on a number of organs and systems. The review examines in detail the possible pathogenetic mechanisms of the post-COVID-19 syndrome, describes and studies the most common consequences of acute COVID-19, taking into account the severity of the disease, including diseases of the respiratory system, in particular interstitial and broncho-obstructive diseases. Particular attention is paid to the above problems in order to describe and structure the available scientific data on lung diseases within the framework of the post-COVID-19 syndrome. It should be noted, however, that there are very few studies on pathogenesis of changes in the bronchopulmonary system in the post-COVID-19 period. The bulk of them affect only individual manifestations of diseases of the respiratory system, in particular cough and shortness of breath, and are not aimed at determining cause-and-effect relationships and the relationship of these symptoms to a specific nosology. Taking into consideration the continued high incidence of COVID-19, there is no doubt that additional studies of bronchopulmonary manifestations of post-COVID-19 syndrome should be conducted. Information from the databases PubMed, eLibrary, Scopus, Jstor was used as literary sources.

Key words: novel coronavirus infection, COVID-19, post-COVID-19 syndrome, SARS-CoV-2, pulmonary fibrosis, bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease, diseases of the bronchopulmonary system.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing: The literature review was supported by State Budget theme no. 122031700115-7 "Formation of cohorts of children, adolescents, young people to study the mechanisms and features of the human life cycle in the Russian population".

Correspondence author: Nesterets A.M., e-mail: alinvaleeva1994@gmail.com

Citation: Nesterets A.M., Khudiakova A.D., Kurtukova A.B., Logvinenko I.I. Bronchopulmonary system within the confines of post-COVID-19 syndrome: literature review. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):45–54. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230605

Введение

Новая коронавирусная инфекция COVID-19 – мультисистемное инфекционное заболевание, возникшее в результате заражения новым коронавирусом (SARS-CoV-2). Первоначально ВОЗ сообщила о вспышке нового заболевания 31.12.2019 в Ухане, Китай. 12.01.2020 Китай представил странам генетическую последовательность нового коронавируса (2019-nCoV) для использования в разработке диагностических наборов. 11.02.2020 ВОЗ официально присвоила название заболеванию «coronavirus disease 2019» (COVID-19), а уже 11.03.2020 ВОЗ объявила вспышку COVID-19 глобальной пандемией ввиду дальнейшего роста числа инфицированных за пределами Китая [1–3]. Высокая контагиозность вируса является одной из наиболее серьезных проблем, связанных с COVID-19. По данным отчета Китайского центра по контролю и профилактике заболеваний от 24.02.2020, из 44672 подтвержденных случаев заболевания COVID-19 87 % заболевших – пациенты от 30 до 79 лет, 8 % – от 20 до 29 лет, 3 % – 80 лет и старше, 1 % – от 10 до 19 лет, 1 % – менее 10 лет; 81 % случаев были классифицированы как COVID-19 легкой и средней степени тяжести [4]. По состоянию на 07.06.2023 (<https://covid19.who.int/>) по всему миру более 767 млн человек были инфицированы SARS-CoV-2, из них около 7 млн – с летальным исходом.

COVID-19 следует рассматривать как системное заболевание ввиду неконтролируемого вос-

палительного ответа, возникающего в результате высвобождения большого количества провоспалительных цитокинов и хемокинов иммунными эффекторными клетками, так называемый «цитокиновый шторм» [5].

Помимо острых проявлений вирусной инфекции, COVID-19 может стать причиной развития и обострения хронических заболеваний. В Великобритании у каждого пятого человека симптомы COVID-19 регистрируются более 5 недель, а каждый десятый сообщает, что симптомы сохраняются в течение 12 недель и более [6]. По результатам проспективного когортного исследования, проведенного в г. Берген (Норвегия), более 60 % пациентов имели персистирующие симптомы и через 5 месяцев после перенесенной инфекции COVID-19, независимо от исходной тяжести заболевания [7]. Данное явление в настоящее время широко известно как синдром пост-COVID-19, или «long COVID», которое характеризует долгосрочные последствия заболевания, развивающиеся во время или после инфицирования SARS-CoV-2. Синдром пост-COVID-19 включает в себя широкий спектр симптомов, включая одышку, боль в груди, усталость, головную боль, бессоницу, мышечную слабость, нарушение когнитивных функций, беспокойство и депрессию [8]. В ВОЗ синдром пост-COVID-19 регистрируется как «состояние пост-COVID-19» / «post COVID-19 condition», которое определяется как стойкие симптомы, обычно возникающие через 3 месяца от начала заболевания у лиц с подтверж-

денной или вероятной инфекцией SARS-CoV-2 в прошлом и сохраняющиеся в течение не менее 2 месяцев, которые не могут быть объяснены альтернативным диагнозом [9]. Стоит заметить, что распространенность вышеуказанных симптомов, в частности тревоги, усталости и когнитивных нарушений, увеличивается и у людей с хроническими заболеваниями дыхательных путей. Однако необходимо разобраться, являются ли эти симптомы более распространенными или более серьезными в данной группе после перенесенного COVID-19, а также определить возможные механизмы развития хронических последствий COVID-19 [10].

На сегодняшний день известен ряд крупномасштабных исследований, изучающих основные симптомы синдрома пост-COVID-19, в том числе их распространенность, в зависимости от формы тяжести острого COVID-19, описываются органоспецифические последствия перенесенной острой инфекции с учетом возможных этиопатогенетических механизмов [11]. Так, с целью стандартизации современного понимания синдрома пост-COVID-19, предложено поделить его проявления на следующие категории: остаточные симптомы, сохраняющиеся после выздоровления от острой инфекции; нарушения функции органов, сохранившиеся после выздоровления; новые симптомы или синдромы, которые развиваются после первоначально бессимптомной или легкой инфекции [12].

Целью данного обзора является описание имеющихся научных данных о синдроме пост-COVID-19, формирование основных подходов к классификации, определение потенциальных механизмов его патогенеза, а также определение механизмов развития патологии бронхолегочной системы в рамках синдрома пост-COVID-19.

В качестве литературных источников использовались сведения из баз данных PubMed, eLibrary, Scopus, Jstor, HighWire Press, Medscape.

Потенциальные механизмы развития синдрома пост-COVID-19

Учитывая широкий спектр острых клинических проявлений COVID-19, патогенез пост-COVID-19 включает множество факторов. Один из предложенных механизмов устойчивых последствий инфицирования SARS-CoV и SARS-CoV-2 хорошо описан, это индуцированный вирусами «цитокиновый шторм» и дисрегуляция иммунного ответа [13]. Важно отметить, что репликативно-компетентный вирус редко выделяется через 20 дней после появления первых симптомов, свидетельствуя о том, что стойкие симптомы обусловлены в основном иммунным

ответом. В исследовании С. Phetsouphanh et al. показано, что с пост-COVID-19 и тяжелым течением острого COVID-19 связано увеличение содержания цитокинов IFN β , PTX3, IFN γ , IFN λ 2/3 и IL-6, способствующих поддержанию воспалительного компонента у лиц с сохраняющимися симптомами и в дальнейшем – развитию необратимого фиброза легких [14]. Более того, важным этиопатогенетическим фактором развития фиброза легких является уменьшение количества альвеолярных макрофагов вследствие повреждающего влияния SARS-CoV-2 на ключевую мишень, альвеолярные клетки типа II [11]. Дисрегуляция иммунного ответа также включает в себя увеличение количества эффекторных Т- и В-клеток, изменение иммунометаболических путей (окислительное фосфорилирование, образование активных форм кислорода, метаболизм гема), наличие афукозилированных антител к вирусу SARS-CoV-2 (изменение Fc-зависимой передачи сигнала), индукцию аутоиммунного ответа [11]. S. Gebremeskel et al. представили доказательства активного участия тучных клеток у пациентов с SARS-CoV-2 в гиперовоспалительном ответе и цитокиновом шторме, исследуя уровень и экспрессию специфических протеаз, которые значительно коррелировали с содержанием воспалительных цитокинов, связанных с тяжестью заболевания COVID-19, включая CCL4, CCL2 и IP-10 [13]. Другим возможным объяснением может быть длительное персистирование и репликация вируса в тканях.

При патолого-анатомическом исследовании гистологических образцов легочной ткани обнаружены тяжелые поражения эндотелия наряду с диффузным тромбозом и микроангиопатией [11, 12]. Повреждение эндотелия и активация тромбоцитов, прямо или косвенно вызванные активацией иммунных клеток, также играют определенную роль в длительной симптоматике и нарушении функции органов. Как правило, стойкие нервно-психические последствия при COVID-19 в первую очередь ассоциируют со способностью вируса к прямой нейроинвазии [10].

Следующим фактором, способствующим развитию пост-COVID-19, является не менее известный синдром, возникающий у пациентов, находившихся в отделениях интенсивной терапии, который включает симптомы стойкой когнитивной дисфункции, хроническую слабость, усталость, одышку и навязчивые воспоминания после выписки из больницы [15]. Назначение высоких доз глюкокортикостероидов во время острой фазы COVID-19 сопровождается органическими галлюцинациями и маниакальными симптомами, когнитивными нарушениями, инсомнией, дели-

рием, депрессией и психозом, которые обычно носят острый характер и исчезают после прекращения лечения. Кроме того, для лечения тяжелой формы COVID-19 предложены такие иммуномодулирующие методы лечения, как внутривенное введение иммуноглобулина, препаратов, блокирующих цитокины, и ингибиторов янус-киназ (JAK), обладающих рядом побочных эффектов [10].

Таким образом, широкий спектр симптомов постковидного синдрома подчеркивает необходимость тщательного описания клинической симптоматики до его возникновения и в различные периоды пост-COVID с оценкой органной дисфункции, объективного профилирования иммунной системы пациентов, что поможет более подробно раскрыть уже известные и потенциально новые патофизиологические звенья синдрома и оценить их относительный вклад.

Категории проявления синдрома пост-COVID-19

Устойчивые симптомы после тяжелой формы COVID-19

На сегодняшний день усталость является одним из наиболее частых симптомов, которые пациенты испытывают после восстановления вследствие перенесенной острой инфекции SARS-CoV-2. A. Carfi et al. сообщают об устойчивых симптомах у 143 пациентов с COVID-19, опрошенных после выписки из стационара. Все больные в этом исследовании имели отрицательный результат теста ПЦР на SARS-CoV-2 в период наблюдения. Авторы отмечают, что 87 % пациентов имели по крайней мере один остаточный симптом в среднем через 60 дней после появления признаков заболевания, при этом наиболее распространенными были усталость (53,1 %), одышка (43,4 %) и артралгии (27,3 %). Ухудшение качества жизни наблюдалось у 44,1 % больных. Большинство из тех, у кого регистрировались постоянные симптомы (55 %), имели их в количестве 3 или более, что свидетельствует о высоком бремени нежелательных остаточных симптомов для пациентов [16].

В Великобритании и Франции проводились исследования, в ходе которых выполнен телефонный опрос пациентов с COVID-19 и выписанных из стационара через 48 дней. В результате опроса были получены следующие данные: из 100 обследованных в Великобритании 32 нуждались в пребывании в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), их средний возраст составил 58,5 года, в то время как средний возраст находившихся в общетерапевтических палатах (ОТП) –

70,5 года. Выраженная утомляемость, связанная с заболеванием, отмечалась соответственно у 72,0 и 60,3 % пациентов, одышка – у 66 и 43 %. Почти 50 % находившихся в ОРИТ пациентов сообщали о симптомах посттравматического стрессового расстройства, о новых проблемах с концентрацией внимания или ухудшении имеющихся – 34 % пациентов ОРИТ (среди лиц ОТП – 16 %). У 120 выписанных пациентов во Франции (96 из отделения ОТП, 24 из ОРИТ) через $110,9 \pm 11,1$ дня после госпитализации наиболее частыми симптомами были усталость (55 %), одышка (42 %), потеря памяти (34 %), проблемы с концентрацией внимания (28 %) и расстройства сна (30,8 %). Достоверно значимых различий в симптомах между пациентами, которые попадали в ОРИТ и в ОТП, выявить не удалось [17, 18].

В своем обзоре O.L. Aiyegbusi et al. определили основные детерминанты возникновения стойких симптомов COVID-19, к которым отнесли пожилой возраст, женский пол, госпитализацию на этапе появления симптомов, раннее появление одышки, боль в груди, отклонения от нормы при аускультации (шумы сердца, легких), совокупность нескольких симптомов во время острой фазы и наличие сопутствующих заболеваний, в первую очередь, бронхиальную астму (БА). Необходимость в кислородной поддержке, наличие артериальной гипертензии и хронические заболевания легких выделены в качестве основных факторов, определяющих долгосрочность симптомов [19].

Устойчивые симптомы после легкой формы COVID-19

Согласно отчету Центра контроля и профилактики заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention), стойкие симптомы отмечены и у амбулаторных пациентов с преимущественно легкой формой COVID-19, включая лиц молодого возраста. Исследование включало 274 человека, проходивших тестирование на SARS-CoV-2. Опрос осуществлялся по телефону через 14–21 день после даты тестирования. Средний возраст респондентов составил 42,5 года, 52 % составляли женщины. У 270 респондентов, завершивших опрос, наиболее часто регистрировались такие устойчивые симптомы, как кашель (43 %), усталость (35 %) и одышка (29 %). 35 % пациентов с симптомами сообщили, что не смогли вернуться к привычному состоянию здоровья, что могло быть ассоциировано с наличием сопутствующих хронических заболеваний. Показано, что наличие ожирения и психических заболеваний связаны с более чем двукратным риском невозврата к базовому уровню здоровья [20].

Нарушения функции органов и систем после COVID-19

На сегодняшний день известен широкий диапазон клинических проявлений острого COVID-19, обусловленных прямым или опосредованным влиянием вируса на различные органы и системы. Длительная персистенция вируса, массивный выброс цитокинов и другие патогенетические факторы приводят к более затяжному течению заболевания, синдрому пост-COVID-19. Изучение ассоциации тяжести острого заболевания COVID-19 с сохраняющимися симптомами пост-COVID-19 позволило определить наличие стойких симптомов у лиц с различной степенью тяжести острого COVID-19, включая анализ распространенности среди пациентов в возрасте от 16 до 30 лет [11, 21]. К ним относятся:

1) системные (утомляемость, ограничение повседневной деятельности, хроническое недомогание, астения);

2) респираторные (кашель, одышка, обострение БА, уменьшение диффузионной способности легких по монооксиду углерода (DLCO), снижение силы дыхательных мышц, плеврит, фибротические изменения в легких);

3) желудочно-кишечные (потеря аппетита, анорексия, боли в животе, тошнота, дисфагия, диарея, синдром раздраженного кишечника);

4) сердечно-сосудистые (флебит и тромбоз, боль в грудной клетке, тахикардия, нарушение ритма и проводимости, ортостатическая гипотензия, вазовагальный обморок, синдром постуральной ортостатической тахикардии);

5) нервно-психические (инсомния, нейрокогнитивные расстройства, нарушения концентрации внимания и памяти, «мозговой туман» / спутанность сознания, симптомы периферической нейропатии (чувство покалывания и онемение), хроническая головная боль, головокружение, депрессия, тревожный синдром, психоз, галлюцинации, постуральный тремор, нейродегенеративные расстройства, посттравматическое стрессовое расстройство, судорожный синдром и другие состояния как возможное следствие нарушений микроструктурной и функциональной целостности мозга);

6) дерматологические (кожная сыпь, телогеновая алопеция, изменение состояния ногтей);

7) проявления со стороны ЛОР-органов (потеря слуха, звон и шум в ушах, боли в горле, афония, гипосмия или anosmia и дисгевзия);

8) эндокринные (стойкие гликемические нарушения, подострый тиреотоксикоз, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса);

10) другие проявления (артрит, миалгии, изменение лабораторных показателей – нейтрофилез, тромбоцитоз, анемия, электролитные нарушения, дислипидемия, снижение функции почек, повышение содержания D-димеров, гликированного гемоглобина, гипоальбуминемия и т.д.) [11, 19].

Несмотря на то что существует ряд систематических обзоров и метаанализов, посвященных описанию и изучению длительных симптомов COVID-19, в том числе анализу их влияния на качество жизни, в этих обзорах не оценивается относительный риск возникновения данных симптомов у лиц, инфицированных SARS-CoV-2, по сравнению с неинфицированными людьми, что требует дальнейшего изучения [21].

Заболевания бронхолегочной системы в рамках синдрома пост-COVID-19

На третьем году пандемии SARS-CoV-2 многое стало известно об отдаленных легочных последствиях пневмонии, вызванной COVID-19. Примерно у 1/3 пациентов с пневмонией средней и тяжелой степени, особенно у тех, кто нуждался в интенсивной терапии или искусственной вентиляции легких, через 1 год после обращения наблюдаются остаточные изменения по результатам компьютерной томографии (КТ) грудной клетки. Как правило, регистрируют изменения от паренхиматозных тяжей до расширения бронхов и выраженного фиброза. Кроме того, отмечено, что у небольшой группы пациентов после перенесенной инфекции устойчиво сохранялся повышенный риск венозных тромбоэмболических осложнений [22]. Следовательно, учитывая быстрый рост числа лиц, перенесших один и более эпизодов COVID-19, доля населения с отдаленными последствиями SARS-CoV-2 и хроническими заболеваниями легких с каждым последующим годом будет увеличиваться.

В нашем литературном обзоре больше внимания уделено указанному разделу с целью описания и структурирования имеющихся научных данных о заболеваниях легких в рамках синдрома пост-COVID-19.

Фиброз легких

Термин «фиброз легких» определяется как патологическое состояние, которое характеризуется избыточным и дезорганизованным накоплением компонентов внеклеточного матрикса, в частности коллагена, в межальвеолярном пространстве, что приводит к нарушению транспорта молекул кислорода и углекислого газа через альвеолярный эпителий. Поскольку эти патологические процессы преобладают в интерстициальной тка-

ни легких, их относят к интерстициальным заболеваниям легких [23].

В условиях глобальной вспышки COVID-19 легочный фиброз как одно из осложнений у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, заслуживает большего внимания. Развитие фиброза легких сопряжено с рядом факторов, таких как тяжесть заболевания, возраст, наличие острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), длительное пребывание в стационаре, потребность в кислородотерапии/искусственной вентиляции легких, обширное поражение легочной ткани по результатам исходной КТ легких [24]. В ходе исследования X. Nan et al. фиксировали первоначальные и последующие результаты КТ, которые были получены через 17 ± 11 и 175 ± 20 дней после появления симптомов. В исследовании приняли участие 114 пациентов в возрасте 54 ± 12 лет, 80 (70 %) из которых составили мужчины. Спустя 6 месяцев фиброзные изменения в легких были обнаружены более чем у 1/3 перенесших тяжелую пневмонию, вызванную COVID-19 [25]. Следует отметить, что у части пациентов легочные изменения после ОРДС полностью регрессируют, в то время как у некоторых могут наблюдаться стойкие симптомы снижения функции легких. Определяющую роль в разрешении легочных изменений играют фиброгенные механизмы, связанные с вирусной инфекцией: вирусная активация профибротических путей, прямое клеточное повреждение, цитокин-индуцированное повреждение, механическая травма.

Y. Li et al. создали эффективную модель прогнозирования легочного фиброза у больных COVID-19. В когортном исследовании приняли участие 462 человека с подтвержденным диагнозом COVID-19. Всего 457 пациентов прошли КТ грудной клетки во время госпитализации или после выписки из стационара, около 287 находились под наблюдением в период от 90 до 150 дней после начала заболевания, через 3 месяца после начала заболевания выполнены функциональные тесты. Паренхиматозные тяжи, неровные границы раздела, ретикулярные изменения и тракционные бронхоэктазы были наиболее распространенными КТ-признаками у всех пациентов с COVID-19. В периоды 0–30, 31–60, 61–90, 91–120 и > 120 дней после начала заболевания соответственно у 86,87, 74,40, 79,56, 68,12 и 62,03 % пациентов развился фиброз легких, а у 4,53, 19,61, 18,02, 38,30 и 48,98 % больных удалось его разрешить. Отмечено, что легочный фиброз чаще развивался у лиц старшего возраста, с более высоким индексом массы тела, тяжелым/критическим состоянием, лихорадкой, более продолжительным временем персистенции вируса, с

наличием сопутствующих заболеваний и поздней госпитализацией. У пациентов установлены нарушение вентиляции легких по обструктивному и рестриктивному типу, снижение максимального экспираторного потока при 25 % от форсированной жизненной емкости легких, нарушение их диффузионной способности [26]. В другом проспективном когортном исследовании (Швейцария), которое включало пациентов в тяжелом и критическом состоянии, нуждающихся в искусственной вентиляции легких (66 из 113 больных), доля лиц с рентгенологическими данными, указывающими на фиброзные изменения, а также с функциональными нарушениями спустя 4 месяца после появления симптомов COVID-19, была значительно больше при увеличении тяжести заболевания, достигая 50–66 %, что подтверждает корреляцию рентгенологических изменений с тяжестью заболевания [27].

Как сказано выше, фиброз является общепризнанным осложнением ОРДС. Выделяют три фазы ОРДС, каждая из которых в той или иной степени способствует развитию фиброза легких: экссудативная (массивное высвобождение провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , TNF и IL-6); фибропролиферативная (увеличение содержания в альвеолярном компартменте фиброцитов, фибробластов, миофибробластов, что приводит к избыточному накоплению компонентов матрикса, включая фибронектин, коллаген I и III типа); фиброзная, которая остается и по сей день малоизученной [28, 29].

Общее понимание основ фиброза легких стремительно растет, особенно в контексте прогрессирующих фиброзирующих заболеваний, таких как идиопатический фиброз легких (ИФЛ) [29]. Несомненно, отмечены общие признаки легочного фиброза при COVID-19 и ИФЛ, однако остается неясным, приведет ли ОРДС, связанный с COVID-19, к прогрессирующему и необратимому фиброзу легких, подобному наблюдаемому при ИФЛ, при котором выздоровление невозможно. Стабилизация и дальнейший регресс рентгенологических изменений у пациентов с ОРДС в остром периоде COVID-19 в течение первого года со дня госпитализации ставят под сомнение прогрессирующее течение легочного фиброза в случае COVID-19. В то же время некоторые аутопсийные исследования выявили в легких пациентов классические признаки прогрессирующего фиброзного заболевания (тракционные бронхоэктазы, интерстициальный фиброз, бронхиальную метаплазию, содовые структуры), а также резкое увеличение количества фибробластов и отложение коллагена в летальных случаях COVID-19 [29]. Наличие описанных ранее необратимых фи-

бронзных изменений легких (терминальная стадия легочного фиброза) у пациентов с тяжелой формой COVID-19, как правило, требует немедленного выполнения трансплантации легких [30].

Бронхообструктивные заболевания и синдром пост-COVID-19

Одним из основных проявлений постковидного синдрома является кашель, который может сохраняться в течение месяцев после выздоровления. Предполагаемая распространенность кашля при оценке 14 исследований (период наблюдения от 6 недель до 4 месяцев после выздоровления от COVID-19) составила 18 % [31]. У детей также часто встречается кашель в постковидный период: так, в Саудовской Аравии о нем сообщалось у 69,8 % детей, перенесших COVID-19, с последовавшими кашлем и свистящим дыханием у 12,3 %. Кашель был описан как сухой и ночной, его продолжительность в среднем составляла около двух месяцев [32]. Это наталкивает на мысль о том, что характеристики постковидного кашля и у больных БА очень похожи.

В крупном метаанализе, проведенном в Коре, у значительного числа пациентов, перенесших COVID-19, выявлены легочные осложнения в рамках постковидного синдрома (в основном за счет снижения диффузионной способности легких). За исключением рестриктивных нарушений, распространенность этих последствий не снижалась в течение одного года после острого COVID-19 [33]. В Испании ретроспективно проанализировали 740 820 историй болезни, разделив период исследования на два: предпандемический (до 14.03.2020) и пандемический период новых диагнозов хронических заболеваний (сахарный диабет 2 типа, БА, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), ишемическая болезнь сердца, сердечная недостаточность, гипертония и гиперхолестеринемия). Ежедневные показатели возникновения хронических заболеваний были резко снижены в марте 2020 г., в последующие месяцы наблюдалась общая тенденция к росту. Сокращение в 2020 г. составило около 30 % по всем состояниям, за исключением ХОБЛ (снижение регистрации новых случаев более чем на 50 %) и сердечная недостаточность (уменьшение на 14 %). При последующем наблюдении большинство показателей заболеваемости вернулось к уровню допандемической диагностики, за исключением БА, ХОБЛ и ишемической болезни сердца, заболеваемость которыми остается ниже допандемического периода [34]. Это может свидетельствовать о недостаточной диагностике бронхообструктивных заболеваний и снижении настороженности врачей относительно

этих состояний. По данным международного регистра «АКТИВ SARS-CoV-2», при опросе 9364 пациентов через 3 месяца после выздоровления от COVID-19 установлено, что 38,7 % обследованных предъявляли жалобы на одышку. БА была зарегистрирована в 4,5 % случаев через 6 месяцев наблюдения, при этом впервые выявленных случаев ХОБЛ не отмечено. Интересно, что за 6-месячный период наблюдения реконвалесцентов обращения за медицинской помощью по поводу основного заболевания были зарегистрированы только для ХОБЛ (2,5 %) [35].

В исследовании, включавшем 151 пациента, поступившего в отделение респираторных заболеваний амбулаторно с жалобами на кашель и/или одышку, которые сохранялись не менее восьми недель после перенесенного COVID-19, установлено, что у 9,3 % больных причиной кашля и одышки была обратимая, у 9,3 % – необратимая бронхообструкция [36]. Несмотря на то что COVID-19 может служить пусковым механизмом дебюта заболеваний, сопровождающихся бронхообструкцией, течение уже имеющихся бронхолегочных заболеваний не утяжеляется в постковидный период. Согласно данным исследования, включавшего 173 пациента с БА, перенесших COVID-19 и требующих стационарного лечения, через 12 месяцев одышка присутствовала у 30 % больных, боль в груди и кашель – у 12 %, объем форсированного выдоха за первую секунду маневра форсированного выдоха через 12 месяцев после COVID-19 составил $83,15 \pm 21,23$ %. При этом, по данным регрессионного анализа, одышка, кашель и потребность в кортикостероидах через 12 месяцев не были выраженными, однако боль в груди была менее распространенной при T2-эндотипе БА. У пациентов с T2-БА также была более низкая потребность в м-холинолитиках [37].

По данным, представленным в США, при тяжелом течении COVID-19 частота развития впервые выявленного бронхообструктивного синдрома значительно выше, чем при легком течении. Более того, бронхообструкция сохраняется у 47,1 % респондентов в течение 4–24 недель после перенесенного COVID-19 [38]. Диффузионная функция легких у большинства пациентов, выздоровевших после тяжелой формы COVID-19 в Китае, оказалась значительно снижена через 12 месяцев наблюдения по сравнению с исходной. При этом показатели одышки и физической работоспособности улучшились [39]. Схожие данные были получены в Германии. Ограничение легочной деятельности и снижение способности к диффузии монооксида углерода были связаны с тяжестью перенесенной инфекции COVID-19.

При этом показатели вентиляционной функции легких улучшались в течение шести месяцев наблюдения. К 12-му месяцу наблюдения не было статистически значимых отличий по форсированной жизненной емкости легких и способности к диффузии монооксида углерода по сравнению с наблюдаемыми через шесть месяцев [40].

Преобладающее большинство исследований, посвященных бронхообструктивному синдрому, проведены в острый период COVID-19 и оценивают связь бронхообструкции с тяжестью и исходами заболевания. Анализ данных немногочисленных исследований бронхообструкции в постковидном периоде позволяет предположить, что перенесенный COVID-19 может стать триггером для возникновения впервые выявленной БА. При этом у лиц с уже имеющейся БА вирус, очевидно, не вызывает утяжеления течения основного заболевания, однако способен утяжелить течение ХОБЛ за счет увеличения количества обострений.

Заключение

Настоящий обзор демонстрирует современное понимание синдрома пост-COVID-19 – относительно нового и малоизученного состояния, которое может повлиять на перенесших COVID-19, независимо от начальной тяжести заболевания или возраста. В рамках обзора обсуждались симптомы, эпидемиология, патофизиология и факторы риска с учетом анализа взаимосвязи течения заболеваний бронхолегочной системы в рамках постковидного синдрома. При этом следует отметить, что исследований, посвященных изменениям со стороны бронхолегочной системы в постковидный период, крайне мало. Основная их масса затрагивает лишь отдельные проявления заболеваний дыхательной системы, в частности кашель и одышку, и не направлена на определение причинно-следственных связей и отношения этих симптомов к конкретной нозологии. Учитывая сохраняющуюся высокую заболеваемость COVID-19, не остается сомнений в необходимости проведения дополнительных исследований бронхолегочных проявлений постковидного синдрома. Лучшее понимание патогенеза этих состояний позволит разработать эффективные мероприятия по первичной профилактике.

Список литературы / References

1. World Health Organization (2020). Novel coronavirus (2019-nCoV): situation report, 1. Geneva: World Health Organization; 2020. 5 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330760>
2. World Health Organization (2020). Novel coronavirus (2019-nCoV): situation report, 22. Geneva: World Health Organization; 2020. 7 p. Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2
3. Cucinotta D., Vanelli M. WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Biomed.* 2020;91(1):157–160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397
4. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020;323(13):1239–1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648
5. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., ... Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
6. The prevalence of long COVID symptoms and COVID-19 complications [exhibit on the Internet]. Office for National Statistics. 2020. Available at: <https://www.ons.gov.uk/news/statementsandletters/the-prevalence-of-long-covid-symptoms-and-covid-19-complications>
7. Blomberg B., Mohn K.G., Brokstad K.A., Zhou F., Linchausen D.W., Hansen B.A., Lartey S., Onyango T.B., Kuwelker K., Sævik M., ... Langeland N. Long COVID in a prospective cohort of home-isolated patients. *Nat. Med.* 2021;27(9):1607–1613. doi: 10.1038/s41591-021-01433-3
8. Huang C., Huang L., Wang Y., Li X., Ren L., Gu X., Kang L., Guo L., Liu M., Zhou X., ... Cao B. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet.* 2021;397(10270):220–232. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8
9. Ceban F., Ling S., Lui L.M.W., Lee Y., Gill H., Teopiz K.M., Rodrigues N.B., Subramaniapillai M., di Vincenzo J.D., Cao B., ... McIntyre R.S. Fatigue and cognitive impairment in Post-COVID-19 Syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav. Immun.* 2022;101:93–135. doi: 10.1016/j.bbi.2021.12.020
10. Troyer E.A., Kohn J.N., Hong S. Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms. *Brain Behav. Immun.* 2020;87:34–39. doi: 10.1016/j.bbi.2020.04.027
11. Mehandru S., Merad M. Pathological sequelae of long-haul COVID. *Nat. Immunol.* 2022;23(2):194–202. doi: 10.1038/s41590-021-01104-y
12. Jimeno-Almazán A., Pallarés J.G., Buendía-Romero Á., Martínez-Cava A., Franco-López F., Sánchez-Alcaraz Martínez B.J., Bernal-Morel E., Courel-Ibáñez J. Post-COVID-19 syndrome and the potential benefits of exercise. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(10):5329. doi: 10.3390/ijerph18105329
13. Gebremeskel S., Schanin J., Coyle K.M., Butuci M., Luu T., Brock E.C., Xu A., Wong A., Leung J., Korver W., ... Youngblood B.A. Mast cell and eosinophil

- activation are associated with COVID-19 and TLR-mediated viral inflammation: implications for an anti-siglec-8 antibody. *Front. Immunol.* 2021;12:650331. doi: 10.3389/fimmu.2021.650331
14. Phetsouphanh C., Darley D.R., Wilson D.B., Howe A., Munier C.M.L., Patel S.K., Juno J.A., Burrell L.M., Kent S.J., Dore G.J., Kelleher A.D., Matthews G.V. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat. Immunol.* 2022;23(2):210–216. doi: 10.1038/s41590-021-01113-x
15. Needham D.M., Davidson J., Cohen H., Hopkins R.O., Weinert C., Wunsch H., Zawistowski C., Bemis-Dougherty A., Berney S.C., Bienvenu O.J., ... Harvey M.A. Improving long-term outcomes after discharge from intensive care unit: report from a stakeholders' conference. *Crit. Care Med.* 2012;40(2):502–509. doi: 10.1097/CCM.0b013e318232da75
16. Carfi A., Bernabei R., Landi F.; Gemelli Against COVID-19 PostAcute Care Study Group. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *JAMA.* 2020;324(6):603–605. doi: 10.1001/jama.2020.12603
17. Halpin S.J., McIvor C., Whyatt G., Adams A., Harvey O., McLean L., Walshaw C., Kemp S., Corrado J., Singh R., ... Sivan M. Postdischarge symptoms and rehabilitation needs in survivors of COVID-19 infection: A cross-sectional evaluation. *J. Med. Virol.* 2021;93(2):1013–1022. doi: 10.1002/jmv.26368
18. Garrigues E., Janvier P., Kherabi Y., Le Bot A., Hamon A., Gouze H., Doucet L., Berkani S., Olios E., Mallart E., ... Nguyen Y. Post-discharge persistent symptoms and health-related quality of life after hospitalization for COVID-19. *J. Infect.* 2020;81(6):4–6. doi: 10.1016/j.jinf.2020.08.029
19. Aiyegbusi O.L., Hughes S.E., Turner G., Rivera S.C., McMullan C., Chandan J.S., Haroon S., Price G., Davies E.H., Nirantharakumar K., ... TLC Study Group. Symptoms, complications and management of long COVID: a review. *J. R. Soc. Med.* 2021;114(9):428–442. doi: 10.1177/01410768211032850
20. Tenforde M.W., Kim S.S., Lindsell C.J., Billig Rose E., Shapiro N.I., Files D.C., Gibbs K.W., Erickson H.L., Steingrub J.S., Smithline H.A., ... IVY Network Investigators. Symptom duration and risk factors for delayed return to usual health among outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network – United States, March–June 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2020;69(30):993–998. doi: 10.15585/mmwr.mm6930e1
21. Marjenberg Z., Leng S., Tascini C., Garg M., Misso K., Seblain C.E.G., Shaikh N. Risk of long COVID main symptoms after SARS-CoV-2 infection: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 2023;13(1):15332. doi: 10.1038/s41598-023-42321-9
22. Kanne J.P., Little B.P., Schulte J.J., Haramati A., Haramati L.B. Long-term lung abnormalities associated with COVID-19 pneumonia. *Radiology.* 2023;306(2):e221806. doi: 10.1148/radiol.221806
23. Drazen J.M., Wijsenbeek M., Cottin V. Spectrum of fibrotic lung diseases. *N. Engl. J. Med.* 2020;383(10):958–968. doi: 10.1056/NEJMra2005230
24. Huang W.J., Tang X.X. Virus infection induced pulmonary fibrosis. *J. Transl. Med.* 2021;19(1):496. doi: 10.1186/s12967-021-03159-9
25. Han X., Fan Y., Alwalid O., Li N., Jia X., Yuan M., Li Y., Cao Y., Gu J., Wu H., Shi H. Six-month follow-up chest CT findings after severe COVID-19 pneumonia. *Radiology.* 2021;299(1):E177–E186. doi: 10.1148/radiol.2021203153
26. Li X., Shen C., Wang L., Majumder S., Zhang D., Deen M.J., Li Y., Qing L., Zhang Y., Chen C., ... Liu Y. Pulmonary fibrosis and its related factors in discharged patients with new corona virus pneumonia: a cohort study. *Respir. Res.* 2021;22(1):203. doi: 10.1186/s12931-021-01798-6
27. Guler S.A., Ebner L., Aubry-Beigelman C., Bridevaux P.O., Brutsche M., Clarenbach C., Garzoni C., Geiser T.K., Lenoir A., Mancinetti M., ... Funke-Chambour M. Pulmonary function and radiological features 4 months after COVID-19: first results from the national prospective observational Swiss COVID-19 lung study. *Eur. Respir. J.* 2021;57(4):2003690. doi: 10.1183/13993003.03690-2020
28. Oronsky B., Larson C., Hammond T.C., Oronsky A., Kesari S., Lybeck M., Reid T.R. A review of persistent post-COVID syndrome (PPCS). *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2023;64(1):66–74. doi: 10.1007/s12016-021-08848-3
29. Michalski J.E., Kurche J.S., Schwartz D.A. From ARDS to pulmonary fibrosis: the next phase of the COVID-19 pandemic? *Transl. Res.* 2022;241:13–24. doi: 10.1016/j.trsl.2021.09.001
30. Bharat A., Querrey M., Markov N.S., Kim S., Kurihara C., Garza-Castillon R., Manerikar A., Shilatfard A., Tomic R., Politanska Y., ... Budinger G.R.S. Lung transplantation for patients with severe COVID-19. *Sci. Transl. Med.* 2020;12(574):eabe4282. doi: 10.1126/scitranslmed.abe4282
31. Song W.J., Hui C.K.M., Hull J.H., Birring S.S., McGarvey L., Mazzone S.B., Chung K.F. Confronting COVID-19-associated cough and the post-COVID syndrome: role of viral neurotropism, neuroinflammation, and neuroimmune responses. *Lancet Respir. Med.* 2021;9(5):533–544. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00125-9
32. Al-Shamrani A., Al-Shamrani K., Al-Otaibi M., Alenazi A., Aldosaimani H., Aldhalaan Z., Alalkami H., Yousef A.A., Kobeisy S., Alharbi S. Residual cough and asthma-like symptoms post-COVID-19 in children. *Children (Basel).* 2023;10(6):1031. doi: 10.3390/children10061031
33. Lee J.H., Yim J.J., Park J. Pulmonary function and chest computed tomography abnormalities 6–12 months after recovery from COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Respir. Res.* 2022;23(1):233. doi: 10.1186/s12931-022-02163-x

34. Mora N., Fina F., Méndez-Boo L., Cantenys R., Benítez M., Moreno N., Balló E., Hermosilla E., Fàbregas M., Guiriguet C., ... Medina M. "Decline and uneven recovery from 7 common long-term conditions managed in the Catalan primary care after two pandemic years: an observational retrospective population-based study using primary care electronic health records". *BMC Prim. Care.* 2023;24(1):9. doi: 10.1186/s12875-022-01935-0
35. Арутюнов Г.П., Тарловская Е.И., Арутюнов А.Г., Беленков Ю.Н., Конради А.О., Лопатин Ю.М., Ребров А.П., Терещенко С.Н., Чесникова А.И., Айрапетян Г.Г., ..., Яушева Е.Ю. Клинические особенности постковидного периода. Результаты международного регистра «Анализ динамики коморбидных заболеваний у пациентов, перенесших инфицирование SARS-CoV-2 (АКТИВ SARS-CoV-2)». Предварительные данные (6 месяцев наблюдения). *Рос. кардиол. ж.* 2021;26(10):4708. doi: 10.15829/1560-4071-2021-4708
- Arutyunov G.P., Tarlovskaya E.I., Arutyunov A.G., Belenkov Yu.N., Konradi A.O., Lopatin Yu.M., Rebrov A.P., Tereshchenko S.N., Chesnikova A.I., Hayrapetyan H.G., ..., Yausheva E.Yu. Clinical features of post-COVID-19 period. Results of the international register "Dynamic analysis of comorbidities in SARS-CoV-2 survivors (AKTIV SARS-CoV-2)". Data from 6-month follow-up. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Cardiology.* 2021;26(10):4708. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2021-4708
36. Gencer A., Caliskaner Ozturk B., Borekci S., Gemiciglu B. Bronchodilator reversibility testing in long-term cough and dyspnea after COVID-19 viral infection: a trigger for asthma? *J. Asthma.* 2023;60(6):1221–1226. doi: 10.1080/02770903.2022.2139719
37. Laorden D., Domínguez-Ortega J., Carpio C., Barranco P., Villamañán E., Romero D., Quirce S., Álvarez-Sala R.; ASMA@COVIDHULP group. Long COVID outcomes in an asthmatic cohort and its implications for asthma control. *Respir. Med.* 2023;207:107092. doi: 10.1016/j.rmed.2022.107092
38. Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford J.M., McGinn T., Davidson K.W.; the Northwell COVID-19 Research Consortium; Barnaby D.P., Becker L.B., Chelico J.D., ... Zanos T.P. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. *JAMA.* 2020;323(20):2052–2059. doi: 10.1001/jama.2020.6775
39. Wu X., Liu X., Zhou Y., Yu H., Li R., Zhan Q., Ni F., Fang S., Lu Y., Ding X., ... Wang Y. 3-month, 6-month, 9-month, and 12-month respiratory outcomes in patients following COVID-19-related hospitalisation: a prospective study. *Lancet Respir. Med.* 2021;9(7):747–754. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00174-0
40. Steinbeis F., Thibeault C., Doellinger F., Ring R.M., Mittermaier M., Ruwwe-Glösenkamp C., Alius F., Knappe P., Meyer H.J., Lippert L.J., ... Zoller T. Severity of respiratory failure and computed chest tomography in acute COVID-19 correlates with pulmonary function and respiratory symptoms after infection with SARS-CoV-2: An observational longitudinal study over 12 months. *Respir. Med.* 2022;191:106709. doi: 10.1016/j.rmed.2021.106709

Сведения об авторах:

Нестеретц Алина Михайловна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-1432-0473, e-mail: alinvaleeva1994@gmail.com
Худякова Алена Дмитриевна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-7875-1566, e-mail: alene.elene@gmail.com
Куртукова Анастасия Борисовна, e-mail: stasya.buka@mail.ru
Логвиненко Ирина Ивановна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-1348-0253, e-mail: 111157@mail.ru

Information about the authors:

Alina M. Nesterets, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1432-0473, e-mail: alinvaleeva1994@gmail.com
Alena D. Khudyakova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-7875-1566, e-mail: alene.elene@gmail.com
Anastasia B. Kurtukova, e-mail: stasya.buka@mail.ru
Irina I. Logvinenko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-1348-0253, e-mail: 111157@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023
 Принята к публикации 03.11.2023

Received 11.10.2023
 Accepted 03.11.2023

Взаимосвязь между уровнем психоэмоционального напряжения и содержанием биогенных аминов, половых и тиреоидных гормонов у мужского населения г. Архангельска

И.Н. Молодовская, Е.В. Типисова, В.А. Аликина, А.Э. Елфимова, В.Н. Зябишева

ФИЦ комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН
163020, г. Архангельск, Никольский пр., 20

Резюме

В статье представлены результаты, раскрывающие взаимосвязи между уровнем психоэмоционального напряжения и содержанием биогенных аминов, половых и тиреоидных гормонов у здоровых мужчин г. Архангельска с учетом смены сезонов года. **Материал и методы.** В исследовании участвовали 20 мужчин в возрасте 25–44 лет. Содержание гормонов, биогенных аминов в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. Для оценки уровня психоэмоционального напряжения проведено анкетирование с использованием опросника «Ваше самочувствие», разработанного О.С. Копиной, Е.А. Сусловой, Е.В. Заикиным, а также опросник депрессии А. Бэка. **Результаты и их обсуждение.** Выявлено большее число взаимосвязей между исследуемыми параметрами в переходные периоды года (март и сентябрь), что позволяет рассматривать весенний и осенний периоды в качестве провоцирующих факторов развития психосоциального напряжения. У здоровых людей с большей периферической конверсией йодтиронинов выше удовлетворенность жизненными потребностями осенью. Субъективная оценка здоровья испытуемых характеризуется исключительно положительными связями с тиреоидными (весна и осень) и половыми (лето, зима) гормонами. Показатели личностной удовлетворенности во все сезоны года отрицательно коррелируют с уровнем половых гормонов и глобулина, связывающего половые гормоны, а показатели стресса и депрессии негативно связаны с уровнем гипофизарных гормонов (лютеинизирующего, тиреотропного). Концентрация таких моноаминов, как дофамин (зимой) и ацетилхолин (осенью), положительно коррелирует с чувством личностной удовлетворенности, в то время как содержание серотонина демонстрирует отрицательную взаимосвязь с уровнем удовлетворенности осенью.

Ключевые слова: дофамин, серотонин, ацетилхолин, половые гормоны, тиреоидные гормоны, психоэмоциональное напряжение, сезоны года.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-10027, с использованием оборудования ЦКП КТ РФ-Арктика (ФИЦКИА УрО РАН).

Автор для переписки: Молодовская И.Н., e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Для цитирования: Молодовская И.Н., Типисова Е.В., Аликина В.А., Елфимова А.Э., Зябишева В.Н. Взаимосвязь между уровнем психоэмоционального напряжения и содержанием биогенных аминов, половых и тиреоидных гормонов у мужского населения г. Архангельска. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):55–62. doi: 10.18699/SSMJ20230606

Relationships between the level of psycho-emotional stress and the content of biogenic amines, sex and thyroid hormones in male population of Arkhangelsk

I.N. Molodovskaya, E.V. Tipisova, V.A. Alikina, A.E. Elfimova, V.N. Zyabisheva

N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of UrB RAS
163020, Arkhangelsk, Nikolsky ave., 20

Abstract

The article presents the relationship between the level of psycho-emotional stress and the content of biogenic amines, sex and thyroid hormones in healthy men in the city of Arkhangelsk, taking into account the change of seasons. **Material and methods.** The study involved 20 men aged 25–44 years. The content of hormones, biogenic amines in serum

was determined by enzyme immunoassay. To assess the level of psycho-emotional stress, a survey was conducted using the questionnaire "Your well-being", developed by O.S. Kopina, E.A. Suslova, E.V. Zaikin, as well as A. Beck's depression questionnaire. **Results and discussion.** A greater number of relationships between the studied parameters was revealed in the transitional periods of the year (March and September), which allows us to consider the spring and autumn as provoking factors in psychosocial stress development. In healthy people, the higher peripheral conversion of iodothyronines associates with the higher satisfaction with vital needs in the fall. The subjective assessment of the health is characterized by exclusively positive relationships with thyroid (spring and autumn) and sex (summer, winter) hormones. Indicators of personal satisfaction in all seasons of the year negatively correlate with the level of sex hormones and sex hormone-binding globulin, and indicators of stress and depression negatively correlate with content of pituitary hormones (luteinizing, thyroid stimulating). Concentration of such monoamines as dopamine (in winter) and acetylcholine (in autumn) positively correlates with feelings of personal satisfaction, while serotonin content shows a negative relationship with the level of satisfaction in autumn.

Key words: dopamine, serotonin, acetylcholine, sex hormones, thyroid hormones, psycho-emotional stress, seasons.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out at the expense of the Russian Science Foundation grant No. 23-25-10027, using the equipment of the Shared Use Center CT RF-Arctic (FITSCIA Ural Branch of the Russian Academy of Sciences).

Correspondence author: Molodovskaya I.N., e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Citation: Molodovskaya I.N., Tipisova E.V., Alikina V.A., Elfimova A.E., Zyabisheva V.N. Relationships between the levels of psycho-emotional stress and the content of biogenic amines, sex and thyroid hormones in male population of Arkhangelsk. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):55–62. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230606

Введение

Данные официальной статистики свидетельствуют о ежегодно возрастающем влиянии на здоровье населения комплекса социальных, экологических и профессиональных факторов. В Российской Федерации значительному влиянию социальных факторов и факторов образа жизни подвержены соответственно 58 и 55,3 % населения [1]. Широко распространены такие психические состояния, как тревога, неудовлетворенность жизнью, неуверенность в завтрашнем дне, страх за будущее детей, раздражительность, агрессивность, депрессия и др. Неблагоприятные эмоциональные состояния через изменение нейрогуморальной регуляции могут воздействовать на физиологические процессы в организме человека и способствовать развитию многих хронических заболеваний [2].

Показано, что дофамин- и серотонинергические системы играют важную роль в контроле уровня гормонов, в формировании репродуктивного поведения. Являясь молекулярной основой регуляции эмоционального статуса организма, они приобретают роль связующего звена между этим фоном и гормональным спектром организма [3].

Цель исследования состоит в выявлении зависимости между уровнем психоэмоционального напряжения, депрессии и самооценкой здоровья, с одной стороны, и содержанием биогенных аминов, половых и тиреоидных гормонов в крови здоровых мужчин города Архангельска, с другой стороны, с учетом смены сезонов года.

Материал и методы

В аналитическом проспективном неконтролируемом исследовании на условиях добровольного информированного согласия участвовали 20 мужчин (средний возраст $33,3 \pm 5,3$ года), постоянно проживающих в г. Архангельске. Критериями включения в исследование являлись возраст от 25 до 44 лет, прохождение регулярного (не реже одного раза в год) профилактического осмотра или диспансеризации, отсутствие кардиоваскулярных жалоб и системных заболеваний, эндокринной патологии. Кровь для исследования забирали натощак в утренние часы. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа на автоматическом планшетном анализаторе ELISYS Uno (Human GmbH, Германия) определяли уровень глобулина, связывающего половые гормоны (СССГ) (с использованием тест-систем ООО «Компания АлкорБио», Россия), серотонина (наборами фирмы IBL International, Германия), ацетилхолина (наборами фирмы Cloud-Clone Corporation, США).

Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБУН ФИЦ комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН (протокол № 2 от 04.11.2016) и выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., ред. 2013 г.).

С целью оценки уровня психоэмоционального напряжения выполнено анкетирование с использованием опросника «Ваше самочувствие», разработанного О.С. Копиной, Е.А. Сусловой,

Е.В. Заикиным и включающего в себя батарею тестов экспресс-диагностики [2]: 1) самооценка здоровья, 2) шкала психосоциального стресса Л. Ридера, 3) шкала удовлетворенности жизнью в целом О.С. Копиной, 4) шкала удовлетворенности условиями жизни О.С. Копиной, 5) шкала удовлетворенности основных жизненных потребностей О.С. Копиной. Также в работе использовали шкалу депрессии А. Бэка – тест, отражающий основные клинические проявления депрессии [4].

Для проверки нормальности распределения данных использовали тест Шапиро – Уилка, по результатам которого применяли непараметрические методы анализа, переменные представлены в виде медианы, 10-го и 90-го процентилей (Me [Q10, Q90]). Был проведен непараметрический дисперсионный анализ повторных измерений Фридмана с последующим попарным сравнением с помощью критерия Вилкоксона с поправкой Бонферрони на эффект множественных сравнений, значения $p < 0,05$ считались значимыми. Корреляцию между значениями выборок определяли с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена (ρ).

Результаты

Ранее нами опубликованы данные сезонной динамики уровня тиреоидных [5] и половых гормонов [6]. Сезонная динамика содержания серотонина, ацетилхолина и СССГ у 20 здоровых мужчин г. Архангельска представлена в табл. 1. Непараметрический дисперсионный анализ повторных измерений Фридмана показал отсутствие статистически значимой сезонной динамики показателей субъективной оценки наличия депрессивных состояний и психоэмоционального напряжения (см. табл. 1).

Методика диагностики депрессивных состояний, разработанная американским психотерапевтом А. Бэком, позволила установить в исследуемой выборке мужчин г. Архангельска наличие или отсутствие симптомов депрессии. У подавляющего большинства лиц (75 % обследованных) психоэмоциональное состояние в норме и не вызывает никаких опасений, данный показатель постоянен в течение всех рассмотренных фотопериодов года. Оставшиеся 25 % мужчин обладают признаками легкой депрессии (субдепрессии).

Таблица 1. Количественные данные показателей депрессивных состояний, психоэмоционального напряжения и уровень биогенных аминов у мужчин г. Архангельска в зависимости от фотопериода года

Table 1. Quantitative data of indicators of depression, psycho-emotional stress and the level of biogenic amines in men in Arkhangelsk depending on the photoperiod of the year

Показатель	Март [1]	Июнь [2]	Сентябрь [3]	Декабрь [4]	p
Шкала депрессии А. Бэка, баллы	5,0 [0,0; 12,5]	3,5 [0,5; 11,5]	3,0 [0,05; 10,5]	3,0 [0,0; 13,0]	$p > 0,05$
Самооценка здоровья, баллы	4,0 [3,0; 4,0]	4,0 [3,0; 4,0]	4,0 [3,0; 4,5]	4,0 [3,0; 5,0]	$p > 0,05$
Шкала психосоциального стресса Л. Ридера, баллы	0,93 [0,15; 1,93]	0,86 [0,07; 1,64]	0,79 [0,0; 1,64]	0,86 [0,0; 1,86]	$p > 0,05$
Шкала удовлетворенности жизнью в целом О.С. Копиной, баллы	8,5 [0,5; 14,0]	7,0 [0,5; 14,5]	8,0 [-1,0; 13,5]	8,0 [-1,0; 13,0]	$p > 0,05$
Шкала удовлетворенности условиями жизни О.С. Копиной, баллы	49,0 [42,5; 53,5]	48,0 [41,0; 53,0]	47,0 [39,5; 55,0]	47,0 [42,0; 54,0]	$p > 0,05$
Шкала удовлетворенности основных жизненных потребностей О.С. Копиной, баллы	44,0 [34,5; 51,5]	44,0 [36,0; 51,0]	44,0 [32,5; 51,0]	43,0 [35,0; 51,0]	$p > 0,05$
Содержание серотонина, нмоль/л (норма 107,1–1134 нмоль/л)	507,4 [305,4; 1039,9]	870 [363,5; 1125,7]	704 [371,2; 1128,6]	767,9 [333,6; 1137,2]	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,012$ $p_{1-4} = 0,006$
Содержание ацетилхолина, пг/мл (норма 12,35–1000 пг/мл)	32,6 [22,2; 55,8]	34,7 [29,1; 51,6]	30,2 [22,2; 40,6]	32,2 [21,2; 37,0]	$p_{2-3} = 0,015$ $p_{2-4} = 0,02$
Содержание СССГ, нмоль/л (норма 12,4–78,4 нмоль/л)	32,58 [17,66; 47,54]	35,03 [16,23; 44,72]	30,37 [16,75; 49,58]	29,47 [14,53; 39,22]	$p_{1-4} = 0,007$ $p_{2-4} = 0,005$ $p_{3-4} = 0,022$

Субъективная оценка здоровья испытуемых по тесту О.С. Копиной показала хорошее и очень хорошее состояние здоровья весной у 75 % мужчин, летом – у 85 %, осенью – у 75 %, зимой – у 70 %, а удовлетворительное и плохое состояние здоровья отметили 25, 15, 25 и 30 % испытуемых весной, летом, осенью и зимой соответственно. Низкая самооценка здоровья может быть связана с повышенным уровнем стресса, плохими показателями удовлетворенности жизнью. При обработке данных, полученных с помощью шкалы психосоциального стресса Л. Ридера, высокий уровень психосоциального стресса установлен у 10, 5, 5, и 5 % мужчин весной, летом, осенью и зимой соответственно, а средний уровень – у 40, 35, 30 и 35 % обследованных.

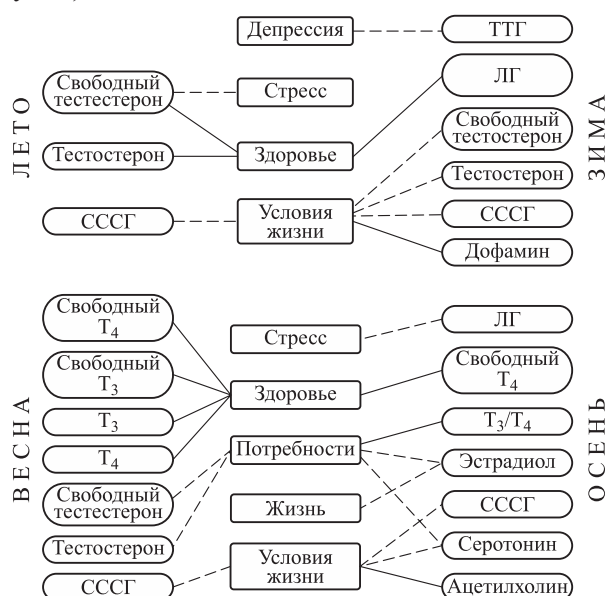
Шкала удовлетворенности жизнью в целом оценивает субъективное состояние удовлетворенности или неудовлетворенности. Высокий уровень удовлетворенности жизнью отмечают у себя 80, 85, 75 и 70 % лиц весной, летом, осенью и зимой соответственно, что свидетельствует об их психологическом благополучии и оптимистическом мироощущении. Шкала удовлетворенности условиями жизни позволила установить ее высокий уровень у 65, 55, 55 и 53 % лиц весной, летом, осенью и зимой соответственно, средний – у 35, 45, 45 и 47 %. При этом такие стороны жизни, как политическая ситуация в регионе проживания и социальная и правовая защищенность, рассматривались как источник стресса у 20–25 % испытуемых в течение года. Шкала удовлетворенности основных жизненных потребностей свидетельствует о высоком уровне удовлетворенности потребностей, о психологическом благополучии у 60, 70, 70 и 70 % лиц весной, летом, осенью и зимой соответственно, и лишь осенью и зимой у 5 % (1 человек) – о низком, что говорит о стрессе и потребности в получении психологической помощи.

С помощью корреляционного анализа установлена зависимость между исследуемыми эндокринными показателями и субъективной оценкой наличия депрессивных состояний и психоэмоционального напряжения, определяемой с помощью шкалы депрессии А. Бэка и теста О.С. Копиной (табл. 2).

Обсуждение

Анализ корреляционных взаимосвязей между психосоциальными факторами и уровнями гормонов выявил большее число взаимосвязей в переходные периоды года (март и сентябрь), что позволяет рассматривать весенний и осенний периоды в качестве провоцирующих факторов развития психосоциального напряжения, о

чем также свидетельствует естественное снижение сывороточного уровня серотонина в марте и ацетилхолина в сентябре. Известно, что большее число корреляционных связей свидетельствует о большей нестабильности системы, а также о происходящих в организме функциональных перестройках, что следует объяснить развитием стрессового синдрома [7]. Корреляционная плеяда лета и зимы состоит из меньшего количества структурных элементов, находящихся как в положительной, так и в отрицательной зависимости, а значит, характеризуется относительной стабильностью и отсутствием напряжения в системе (рисунки).



Статистически значимые корреляционные связи между эндокринными показателями и субъективной оценкой наличия депрессивных состояний и психоэмоционального напряжения. Депрессия – шкала депрессии А. Бэка; Стресс – шкала психосоциального стресса Л. Ридера; Здоровье – самооценка здоровья; Условия жизни – шкала удовлетворенности условиями жизни О.С. Копиной; Потребности – шкала удовлетворенности основных жизненных потребностей О.С. Копиной; Жизнь – шкала удовлетворенности жизнью в целом О.С. Копиной. Сплошной линией обозначены положительные взаимосвязи, штриховой – отрицательные, уровень значимости для всех представленных взаимосвязей $p < 0,05$

Statistically significant correlations between endocrine parameters and subjective assessment of the presence of depressive states and psycho-emotional stress. Депрессия – A. Beck depression scale; Стресс – scale of psychosocial stress L. Ryder; Здоровье – self-assessment of health; Условия жизни – scale of satisfaction with living conditions by O.S. Kopina; Потребности – a scale of satisfaction with basic life needs by O.S. Kopina; Жизнь – a scale of satisfaction with life in general by O.S. Kopina. The solid line indicates positive relationships, the dotted line indicates negative relationships

Таблица 2. Корреляционные связи между эндокринными показателями и субъективной оценкой наличия депрессивных состояний и психоэмоционального напряжения у мужчин в зависимости от фотопериода года**Table 2.** Correlation relationships between endocrine parameters and subjective assessment of the presence of depressive states and psycho-emotional stress in men depending on the photoperiod of the year

Показатель	Март		Июнь		Сентябрь		Декабрь	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p	ρ	p
Шкала депрессии А. Бэка								
Содержание ТТГ	–	–	–	–	–	–	–0,64	0,004
Самооценка здоровья								
Содержание T_4	0,76	0,0001	–	–	–	–	–	–
Содержание T_3	0,58	0,007	–	–	–	–	–	–
Содержание св. T_4	0,65	0,002	–	–	0,45	0,046	–	–
Содержание св. T_3	0,48	0,034	–	–	–	–	–	–
Содержание тестостерона	–	–	0,58	0,007	–	–	–	–
Содержание свободного тестостерона	–	–	0,67	0,001	–	–	–	–
Содержание ЛГ	–	–	–	–	–	–	0,50	0,042
Шкала психосоциального стресса Л. Ридера								
Содержание свободного тестостерона	–	–	–0,53	0,016	–	–	–	–
Содержание ЛГ	–	–	–	–	–0,45	0,047	–	–
Шкала удовлетворенности жизнью в целом О.С. Копиной								
Содержание эстрадиола	–	–	–	–	–0,55	0,013	–	–
Шкала удовлетворенности условиями жизни О.С. Копиной								
Содержание СССГ	–0,60	0,005	–0,55	0,013	–0,59	0,007	–0,59	0,012
Содержание тестостерона	–	–	–	–	–	–	–0,55	0,022
Содержание свободного тестостерона	–	–	–	–	–	–	–0,53	0,028
Содержание серотонина	–	–	–	–	–0,51	0,021	–	–
Содержание дофамина	–	–	–	–	–	–	0,49	0,047
Содержание ацетилхолина	–	–	–	–	0,51	0,026	–	–
Шкала удовлетворенности основных жизненных потребностей О.С. Копиной								
T_3/T_4	–	–	–	–	0,52	0,018	–	–
Содержание тестостерона	–0,56	0,010	–	–	–	–	–	–
Содержание свободного тестостерона	–0,56	0,010	–	–	–	–	–	–
Содержание эстрадиола	–	–	–	–	–0,60	0,006	–	–
Содержание серотонина	–	–	–	–	–0,64	0,002	–	–

Примечание: ТТГ – тиреотропный гормон; T_3 – общий трийодтиронин; T_4 – общий тироксин; св. T_3 – свободный трийодтиронин; св. T_4 – свободный тироксин; ЛГ – лютеинизирующий гормон.

Особого внимания заслуживает величина коэффициента корреляции. Так, весной между переменными T_4 и оценкой здоровья установлена тесная связь ($\rho = 0,76$, $p = 0,0001$), остальные корреляционные связи характеризуются средней силой (см. табл. 2). Такой структурный элемент зависимостей, как оценка здоровья, характеризуется только положительными связями с тиреоидными (весна и осень) и половыми (лето, зима) гормонами. Успешная модификация расстройств настроения с помощью гормонов щитовидной железы подчеркивает связь между эндокринной и церебральной системами при этих нарушениях. Гормоны щитовидной железы оказывают

глубокое влияние на поведение и, по-видимому, способны модулировать фенотипическое выражение основных расстройств настроения. Есть доказательства того, что трийодтиронин может усиливать ответ на антидепрессанты, а лечение супрафизиологическими дозами левотироксина показало эффективность в открытых и плацебо-контролируемых исследованиях биполярного расстройства [8]. Содержание гормонов щитовидной железы положительно коррелирует с оценкой здоровья именно в переходные периоды года, что особенно выражено весной, когда активность гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы увеличивается [5], возможно, в это вре-

мя активность щитовидной железы положительно влияет на психическое состояние, эмоции и чувство удовлетворенности. Кроме психологического компонента, тиреоидные гормоны оказывают существенное воздействие на метаболизм и функционирование всех органов и систем организма [9]. Ввиду этого, поддержание оптимального баланса тиреоидных гормонов в организме в переходные периоды года является превентивной мерой, направленной на укрепление здоровья северян. В контрастные сезоны выявлена связь самооценки уровня здоровья с содержанием половых гормонов, что особенно выражено летом, когда концентрация свободного тестостерона максимальна [6]. Зимой при ее снижении уровень здоровья связан с гипоталамическим регулятором системы гипоталам-гипофиз-гипофиз (ЛГ), компенсаторно увеличивающимся при стабилизации работы системы.

При этом неожиданно выглядит отрицательная корреляционная связь уровня половых гормонов и СССГ с различными показателями личностной удовлетворенности во все сезоны года. По-видимому, у мужчин усиливающееся беспокойство и недовольство условиями жизни обусловлены повышением секреции мужских половых гормонов. Это может быть связано с защитными, активационными эффектами тестостерона, приводящими организм в «боевую готовность», что повышает настороженность к окружающей действительности. Так, испанскими учеными установлена положительная корреляция между базальным уровнем тестостерона и антисоциальными чертами личности у обоих полов [10].

Интересно отметить, что с показателями стресса и депрессии отрицательно коррелирует содержание гипоталамических гормонов ЛГ и ТТГ. В исследовании немецких ученых наблюдалась тенденция к снижению частоты импульсов ЛГ у пациентов с депрессией [11]. Существует гипотеза о снижении дейодирования T_4 в T_3 у пациентов с депрессией и отсутствием других заболеваний, что впоследствии описывают как «синдром низкого T_3 » [12]. Наши результаты не противоречат этой гипотезе, хотя и рассматривают данную проблему с противоположной стороны: у здоровых людей чем выше удовлетворенность жизненными потребностями, тем выше периферическая конверсия йодтиронинов осенью.

Крупный метаанализ роли серотонина в этиологии депрессии показал, что основные области исследований не дают последовательных доказательств связи между содержанием серотонина и депрессией, а также не подтверждают гипотезу о том, что депрессия вызвана снижением его активности или концентрации [13]. В нашем ис-

следовании уровень серотонина не коррелировал с оценками депрессии и стресса, но осенью имел отрицательную взаимосвязь с оценками удовлетворенности условиями жизни и основных жизненных потребностей, в то время как содержание дофамина зимой, а ацетилхолина осенью положительно коррелирует с оценкой удовлетворенности условиями жизни. Известно, что нехватка дофамина вызывает стресс и депрессию, а при нормальном его содержании организм легко справляется со стрессовыми ситуациями, и количество секретируемого дофамина зависит от чувства удовлетворенности [14]. Наряду с дофамином ацетилхолин действует как часть системы вознаграждения мозга, при этом ацетилхолин потенцирует поведение, которое является адаптивным к раздражителям окружающей среды, и снижает реакцию на текущие раздражители, не требующие немедленных действий [15]. Наше исследование подтверждает данные F. Wang et al. о том, что дофамин, серотонин и ацетилхолин лежат в основе главных эмоциональных чувств: дофамин – удовольствие, серотонин – неудовольствие, ацетилхолин – расслабление/спокойствие [16].

Заключение

Несмотря на отсутствие сезонной динамики суммарных баллов по шкалам удовлетворенности из опросника «Ваше самочувствие» и шкалы депрессии А. Бэка, установлена сезонная изменчивость в числе и качестве корреляционных связей данных оценок с уровнем основных показателей эндокринного статуса северян, с определением большего числа взаимосвязей в переходные периоды года, которые могут выступать в качестве факторов психосоциального напряжения. Осенью и зимой отмечено меньшее число лиц с высокими показателями личностной удовлетворенности. У здоровых людей с большей периферической конверсией йодтиронинов выше удовлетворенность жизненными потребностями осенью. Субъективная оценка здоровья испытуемых характеризуется исключительно положительными связями с содержанием тиреоидных (весна и осень) и половых (лето, зима) гормонов. Показатели личностной удовлетворенности во все сезоны года отрицательно коррелируют с уровнем половых гормонов и СССГ, в то время как показатели стресса и депрессии отрицательно коррелируют с гипоталамическими гормонами (ЛГ, ТТГ). Концентрация таких моноаминов, как дофамин (зимой) и ацетилхолин (осенью) положительно коррелирует с чувством личностной удовлетворенности, в то время как содержание серотонина демонстрирует отрицательную взаимосвязь с уровнем удовлетворенности осенью.

Список литературы / References

1. Балабанова Л.А., Имамов А.А., Камаев С.К. О влиянии некоторых социально-бытовых факторов на формирование репродуктивного здоровья мужчин. *Современные аспекты формирования здорового образа жизни*: сб. тр. конф., Новосибирск; 24 марта 2017 г. Новосибирск: НГМУ, 2017. 27–30.
2. Balabanova L.A., Imamov A.A., Kamaev S.K. On the influence of some social factors on the formation of reproductive health of men. *Modern aspects of the formation of a healthy lifestyle*: proc. conf., Novosibirsk; March 24; 2017. Novosibirsk: NSMU; 2017. 27–30. [In Russian].
3. Копина О.С., Суслова Е.А., Заикин Е.В. Экспресс-диагностика уровня психоэмоционального напряжения и его источников. *Вопр. психол.* 1995;(3):119–132.
4. Kopina O.S., Suslova E.A., Zaikin E.V. Express diagnostics of the level of psycho-emotional stress and its sources. *Voprosy psikhologii = Problems of Psychology*. 1995;(3):119–132. [In Russian].
5. Гутикова Л.В., Бубешко Д.А. Роль биогенных аминов в реализации репродуктивной функции организма. *Ж. Гродненск. гос. мед. ун-та*. 2014;(2): 5–9.
6. Gutikova L.V., Bubeshko D.A. Role of biogenic amines in realization of reproductive function of organism. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2014;(2):5–9. [In Russian].
7. Beck A.T., Ward C.H., Mendelson M., Mock J., Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch. Gen. Psychiatry*. 1961;4(6):561–571. doi: 10.1001/archpsyc.1961.01710120031004
8. Молодовская И.Н., Типисова Е.В., Попкова В.А., Елфимова А.Э., Потуткин Д.С. Фотопериодическая вариация гормонов щитовидной железы и аутоантител у мужчин Европейского Севера. *Якут. мед. ж.* 2020;(2):77–80. doi: 10.25789/YMJ.2020.70.23
9. Molodovskaya I.N., Tipisova E.V., Popkova V.A., Elfimova A.E., Potutkin D.S. Photoperiodic variation of thyroid hormones and autoantibodies in males of the European North. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*. 2020;(2):77–80. [In Russian]. doi: 10.25789/YMJ.2020.70.23
10. Типисова Е.В., Елфимова А.Э., Аликина В.А., Молодовская И.Н., Зябишева В.Н. Активность системы гипоталамус-гипофиз-гонады у мужчин Европейского Севера в разные фотопериоды. *Пробл. репродукции*. 2023;29(2):101–109. doi: 10.17116/repro202329021101
11. Tipisova E.V., Elfimova A.E., Alikina V.A., Molodovskaya I.N., Zyabisheva V.N. Activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal system in men of the European North under different photoperiods. *Problemy reproduksii = Russian Journal of Human Reproduction*. 2023;29(2):101–109. [In Russian]. doi: 10.17116/repro202329021101
12. Бурмистрова А.Л., Филиппова Ю.Ю., Тимофеева А.В. Сетевое взаимодействие нейротоксической системы в контексте социальной адаптации детей с расстройствами аутистического спектра. *Рос. иммунол. ж.* 2018;12(3):227–232. doi: 10.31857/S102872210002386-9
13. Burmistrova A.L., Filippova Yu.Yu., Timofeeva A.V. The network interaction of the neurocytotoxic system in the context of social adaptation of children with autism spectrum disorders. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*. 2018;12(3):227–232. [In Russian]. doi: 10.31857/S102872210002386-9
14. Bauer M., Whybrow P.C. Role of thyroid hormone therapy in depressive disorders. *J. Endocrinol. Invest.* 2021;44(11):2341–2347. doi: 10.1007/s40618-021-01600-w
15. Молодовская И.Н. Функция щитовидной железы и репродуктивное здоровье мужчин. *Якут. мед. ж.* 2022;(1):104–108. doi: 10.25789/YMJ.2022.77.26
16. Molodovskaya I.N. Thyroid gland function and male reproductive health. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*. 2022;(1):104–108. [In Russian]. doi: 10.25789/YMJ.2022.77.26
17. Tajima-Pozo K., Bayón C., Díaz-Marsá M., Carrasco J.L. Correlation between personality traits and testosterone concentrations in healthy population. *Indian J. Psychol. Med.* 2015;37(3):317–321. doi: 10.4103/0253-7176.162956
18. Schweiger U., Deuschle M., Weber B., Körner A., Lammers C.H., Schmider J., Gotthardt U., Heuser I. Testosterone, gonadotropin, and cortisol secretion in male patients with major depression. *Psychosom. Med.* 1999;61(3):292–296. doi: 10.1097/00006842-199905000-00007
19. Hage M.P., Azar S.T. The link between thyroid function and depression. *J. Thyroid. Res.* 2012;2012:590648. doi: 10.1155/2012/590648
20. Moncrieff J., Cooper R.E., Stockmann T., Amendola S., Hengartner M.P., Horowitz M.A. The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Mol. Psychiatry*. 2022. doi: 10.1038/s41380-022-01661-0
21. Aleksidze N.G. The quantitative distribution of the hormones of love and neurotransmitters at psycho emotional stresses. *Psychol. Psychology Res. Int. J.* 2018;3(5):1–8.
22. Picciotto M.R., Higley M.J., Mineur Y.S. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*. 2012;76(1):116–129. doi: 10.1016/j.neuron.2012.08.036
23. Wang F., Pereira A. Neuromodulation, emotional feelings and affective disorders. *Mens Sana Monogr.* 2016;14(1):5–29. doi: 10.4103/0973-1229.154533

Сведения об авторах:

Молодовская Ирина Николаевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3097-9427, e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Типисова Елена Васильевна, д.б.н., ORCID: 0000-0003-2097-3806, e-mail: tipisova@rambler.ru

Аликина Виктория Анатольевна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-0818-7274, e-mail: victoria-popcova@yandex.ru

Елфимова Александра Эдуардовна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-2519-1600, e-mail: a.elfimova86@mail.ru

Зябишева Валентина Николаевна, ORCID: 0000-0001-6133-8249, e-mail: razvalush@yandex.ru

Information about the authors:

Irina N. Molodovskaya, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3097-9427, e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Elena V. Tipisova, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0003-2097-3806, e-mail: tipisova@rambler.ru

Viktoriya A. Alikina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-0818-7274, e-mail: victoria-popcova@yandex.ru

Aleksandra E. Elfimova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-2519-1600, e-mail: a.elfimova86@mail.ru

Valentina N. Zyabisheva, ORCID: 0000-0001-6133-8249, e-mail: razvalush@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.06.2023

После доработки 08.08.2023

Принята к публикации 24.09.2023

Received 09.06.2023

Revision received 08.08.2023

Accepted 24.09.2023

Типологические изменения уровня дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов у мужчин г. Архангельска в динамике фотопериодов года

В.Н. Зябишева, Е.В. Типисова, А.Э. Елфимова, И.Н. Молодовская, В.А. Аликина

ФИЦ комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН
163020, г. Архангельск, Никольский пр., 20

Резюме

Цель работы – рассмотреть типологические изменения уровней дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов у мужчин г. Архангельска. **Материал и методы.** Исследуемая выборка включала в себя 20 молодых эутиреоидных мужчин в возрасте 25–44 лет, постоянно проживающих в г. Архангельске. Для изучения влияния фотопериодического фактора на функционирование эндокринной системы выбраны четыре месяца, отличающиеся наиболее четкой контрастностью показателей продолжительности светового дня: март (повышение продолжительности светового дня), июнь (максимальная продолжительность светового дня), сентябрь (снижение продолжительности светового дня) и декабрь (минимальная продолжительность светового дня). В плазме крови определялась концентрация дофамина, в сыворотке исследовались показатели тиреоидного профиля и уровень кортизола. **Результаты.** Анализ полученных данных выявил два типа реакций со стороны дофаминергической системы и содержания кортизола в период минимальной продолжительности светового дня. Параллельно сезонной динамике дофамина наблюдается изменение активности кортизола и гипоталамо-тиреоидной системы. **Заключение.** У мужчин, чей уровень дофамина возрастает от сентября к декабрю, также увеличиваются концентрации кортизола и тиреоидных гормонов, т.е. параллельно активируются несколько стресс-систем – мозговое и корковое вещество надпочечников, щитовидная железа. Таким образом, наблюдается более выраженная реакция на появление сезонных стрессовых факторов, что, возможно, связано с достаточно успешной адаптацией респондентов к окружающей среде и может свидетельствовать о том, что у респондентов с понижающимся или не изменяющимся от сентября к декабрю уровнем дофамина либо снижены резервные возможности организма, либо гормоны более активно расходуются на метаболические процессы.

Ключевые слова: дофамин, кортизол, тиреоидные гормоны, фотопериод, продолжительность светового дня, Европейский Север, мужчины, индивидуальные реакции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гос. задания 122011800392-3.

Автор для переписки: Зябишева В.Н., e-mail: razvalush@yandex.ru

Для цитирования: Зябишева В.Н., Типисова Е.В., Елфимова А.Э., Молодовская И.Н., Аликина В.А. Типологические изменения уровней дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов у мужчин г. Архангельска в динамике фотопериодов года. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):63–69. doi: 10.18699/SSMJ20230607

Typological changes in the level of dopamine, cortisol and thyroid hormones in males of Arkhangelsk in the dynamics of year photoperiods

V.N. Zyabisheva, E.V. Tipisova, A.E. Elfimova, I.N. Molodovskaya, V.A. Alikina

N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of UrB RAS
163020, Arkhangelsk, Nikolskiy ave., 20

Abstract

The aim of the study was to consider typological photoperiodic changes in the levels of dopamine, cortisol and thyroid hormones in males of Arkhangelsk. **Material and methods.** The study sample included 20 young euthyroid males aged 25–44 years, permanently residing in Arkhangelsk. To study the influence of the photoperiodic factor on the functioning

of the endocrine system, four months were selected, which are distinguished by the clearest contrast of daylight hours: March (increased daylight hours), June (maximum daylight hours), September (reduced daylight hours) and December (minimum daylight hours). The concentration of dopamine was determined in the blood plasma, and the indicators of the thyroid profile and cortisol level were studied in the serum. **Results.** Analysis of the data obtained revealed two types of reactions from the dopaminergic system and cortisol content during the period of minimal daylight hours. Along with the seasonal dynamics of dopamine, there is a change in the activity of the pituitary-thyroid system. **Conclusions.** In males, whose dopamine levels increase from September to December, the concentrations of cortisol and thyroid hormones also increase, that is, several stress systems are simultaneously activated – the adrenal medulla and cortex, the thyroid gland. Thus, there is a more pronounced reaction to the appearance of seasonal stress factors, which may be due to the rather successful adaptation of the respondents to the environment and may indicate that respondents with dopamine levels decreasing or not changing from September to December either have reduced reserve capacity of the body, or hormones are more actively spent on metabolic processes.

Key words: dopamine, cortisol, thyroid hormones, photoperiod, daylight hours, European North, males, individual reactions.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was supported by State Assignment 122011800392-3.

Correspondence author: Zyabisheva V.N., e-mail: razvalush@yandex.ru

Citation: Zyabisheva V.N., Tipisova E.V., Elfimova A.E., Molodovskaya I.N., Alikina V.A. Typological changes in the level of dopamine, cortisol and thyroid hormones in males of Arkhangelsk in the dynamics of year photoperiods. *Sibirskiy nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):63–69. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230607

Введение

Известно, что жители северных территорий испытывают на себе влияние таких климато-географических факторов, как нестабильность климата, повышенная геомагнитная активность и контрастность сезонов года. Большое влияние на физиологические функции организма, в том числе эндокринной системы, играющей одну из ведущих ролей в регуляции его адаптационных перестроек, в условиях Европейского Севера оказывает фотопериодизм [1]. Следует отметить, что наиболее острое воздействие фотопериодических колебаний северяне испытывают в зимние месяцы, отличающиеся значительным уменьшением длины светового дня, минимальные значения которого регистрируются в декабре [2]. Преобладающую роль светового фактора по сравнению с температурным доказывают ранние исследования фотопериодических изменений уровня тиреоидных гормонов и кортизола у взрослых жителей Европейского Севера [3, 4]. В современных работах установлена положительная корреляция между концентрацией тироксина и длиной светового дня [5].

Совокупность присущих северным территориям климатогеографических факторов также может провоцировать стрессовые состояния не только функциональных систем организма, но и психоэмоциональной сферы человека, повышая ее напряжение, что в свою очередь может сопровождаться изменением синтеза и секреции дофамина, играющего важную роль в процессахощерения и адаптации организма к меняющимся

условиям среды [6]. В связи с этим представляет большой интерес исследование сезонной активности дофаминергической системы. Цель работы – рассмотреть типологические изменения уровня дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов у мужчин г. Архангельска.

Материал и методы

В аналитическом неконтролируемом проспективном исследовании приняли участие 20 молодых эутиреоидных мужчин в возрасте от 25 до 44 лет, постоянно проживающих в г. Архангельске (64°32' с.ш.). Критериями включения являлись прохождение диспансеризации или регулярного профилактического медицинского осмотра, отсутствие системных заболеваний, эндокринной патологии и кардиоваскулярных жалоб. Обследование выборки проводилось с условием добровольного информированного письменного согласия при соблюдении всех норм и принципов Хельсинкской декларации по правам человека Всемирной медицинской ассоциации (2013) и Директив Европейского Сообщества (8/609ЕС) и было одобрено Этическим комитетом ФГБУН ФИЦ комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова УрО РАН (протокол № 1 от 15.03.2018).

Обследование одной и той же выборки проводилось в течение 2018 г. в период с марта по декабрь. Для исследования влияния фотопериодического фактора на функционирование эндокринной системы выбраны четыре месяца, отличающиеся явными изменениями и наиболее четкой контрастностью показателей продол-

жительности светового дня: март (повышение продолжительности светового дня), июнь (максимальная продолжительность светового дня), сентябрь (снижение продолжительности светового дня) и декабрь (минимальная продолжительность светового дня).

Забор крови производился в утренние часы после 12–14-часового голодания путем пункции из локтевой вены. Показатели гормонального профиля исследуемой выборки оценивались при помощи иммуноферментного анализа на автоматическом планшетном анализаторе ELISYS Uno (Human GmbH, Германия) с использованием тест-систем ООО «Компания АлкорБио» (Россия), IBL International GmbH (Германия), Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG (Германия). В плазме крови определялась концентрация дофамина, в сыворотке – тиреотропина (ТТГ), общих и свободных фракций трийодтиронина (T_3 , T_3 св.) и тироксина (T_4 , T_4 св.), кортизола. Помимо основных показателей тиреоидного профиля рассчитаны индексы, также иллюстрирующие функциональное состояние щитовидной железы: индекс периферической конверсии ($ИПК = T_4/T_3$) и прогрессирующей периферической конверсии ($ИпПК = T_4 \text{ св.} / T_3 \text{ св.}$). ИПК представляет собой показатель тканевого превращения общего T_4 в его биологически более активный метаболит – общий T_3 . ИпПК, соответственно, рассматривает данный механизм для свободных фракций тироксина и трийодтиронина.

Проверка нормальности распределения выборки осуществлялась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Исходя из полученных результатов, переменные представлены в виде медианы и межквартильных интервалов ($Me [Q1; Q3]$), для оценки достоверности различий между двумя связанными выборками использовался непараметрический дисперсионный анализ повторных измерений Фридмана с последующим применением критерия Вилкоксона для попарного сравнения. Для изучения взаимосвязей между количественными показателями использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Все обнаруженные эффекты считались статистически значимыми при величине вероятности ошибочного принятия нулевой гипотезы $p < 0,05$.

Результаты

На основании анализа индивидуальных реакций респондентов выборка была разделена на две равные группы по десять человек – с повышающейся и снижающейся концентрацией дофамина в период минимальной продолжительности светового дня относительно результатов, полученных в предыдущем фотосезоне. Выбор осно-

вывался на расчете изменения уровня дофамина от периода уменьшения светового дня к периоду минимального светового дня в пределах годового значения $Me \times CV$, где CV – коэффициент вариации показателя в пределах постановки, который, согласно инструкциям производителя, составляет 29,8 % (0,1 нмоль/л).

Для группы с повышающимся содержанием дофамина в период минимальной продолжительности светового дня в декабре (табл. 1) относительно предыдущего фотосезона наиболее высокие показатели приходятся на июнь и декабрь, самые низкие концентрации отмечены при снижении длины светового дня в сентябре. Максимальная концентрация дофамина соответствуют наибольшему уровню кортизола.

Установлено, что повышение уровня дофамина от сентября к декабрю сочетается с увеличением активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы со стороны как гипофизарного (ТТГ), так и периферического звена, включающего повышение содержания более активных фракций общего трийодтиронина при снижении концентрации тироксина на фоне усиления периферической конверсии йодтиронинов. Также для данной группы характерна динамика свободных фракций йодтиронинов, особенно это можно отметить у T_3 св., концентрация которого при минимальной продолжительности светового дня превышает его уровень относительно периода ее увеличения.

У респондентов группы со снижающимся или не изменяющимся содержанием дофамина (табл. 2) выявлен значимо более высокий его уровень в период максимальной длины светового дня по сравнению с периодами ее снижения и минимальной продолжительности, отличающихся наиболее низкими показателями. При этом наибольшая концентрация кортизола отмечена в марте и декабре, однако статистически значимых различий между сезонами не выявлено.

В данной группе регистрируется наиболее низкий уровень общих фракций йодтиронинов при максимальном содержании ТТГ в декабре. Однако периферическая конверсия, независимо от группы обследованных респондентов, сохраняется более высокой в минимальный световой день по сравнению с периодом его уменьшения. По сравнению с группой с повышающимся уровнем дофамина в декабре, в группе со снижающимся показателем отмечено уменьшение концентрации T_3 св. в период минимального светового дня относительно периода его максимальной продолжительности.

Таблица 1. Содержание дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов в крови у лиц с повышающимся уровнем дофамина в период минимальной освещенности

Table 1. Dopamine, cortisol and thyroid hormone blood level in people with increasing dopamine content during the minimum light period

Содержание гормона (норма)	Март (1)	Июнь (2)	Сентябрь (3)	Декабрь (4)	<i>p</i>
ТТГ, мМЕ/л (0,23–3,4 мМЕ/л)	2,40 [0,84; 3,17]	2,02 [0,52; 3,94]	1,73 [0,67; 2,78]	2,62 [0,52; 4,20]	$p_{1-3} = 0,047$
Т ₃ , нмоль/л (1,0–2,8 нмоль/л)	1,11 [0,62; 1,45]	1,12 [0,85; 1,69]	0,98 [0,67; 1,30]	1,05 [0,82; 1,50]	$p_{2-3} = 0,009$ $p_{2-4} = 0,008$ $p_{3-4} = 0,037$
Т ₄ , нмоль/л (53–158 нмоль/л)	108,69 [89,99; 166,86]	118,20 [104,09; 131,61]	113,76 [84,93; 129,98]	107,54 [90,19; 130,02]	$p_{2-4} = 0,009$
Т ₃ св., пмоль/л (2,5–7,5 пмоль/л)	5,24 [4,37; 5,77]	5,20 [4,76; 6,97]	5,54 [4,74; 5,91]	5,64 [4,96; 6,82]	$p_{1-4} = 0,028$
Т ₄ св., пмоль/л (10,0–23,2 пмоль/л)	12,20 [11,12; 15,53]	13,05 [12,15; 15,22]	12,95 [10,72; 16,16]	13,20 [12,02; 16,15]	$p > 0,05$
ИпПК (1,37–4,43)	2,44 [2,12; 3,00]	2,43 [1,99; 2,92]	2,38 [1,94; 2,90]	2,47 [1,93; 2,96]	$p > 0,05$
ИПК	100,23 [85,81; 171,70]	100,90 [77,82; 144,16]	116,67 [94,96; 142,36]	96,93 [74,83; 129,41]	$p_{2-3} = 0,009$ $p_{3-4} = 0,009$
Дофамин, нмоль/л ($< 0,653$ нмоль/л)	0,402 [0,265; 0,554]	0,507 [0,337; 0,690]	0,232 [0,011; 0,366]	0,480 [0,302; 0,702]	$p_{1-3} = 0,005$ $p_{2-3} = 0,005$ $p_{3-4} = 0,005$
Кортизол, нмоль/л (150–660 нмоль/л)	545,35 [422,24; 594,43]	586,04 [478,80; 799,56]	535,51 [348,86; 782,25]	574,22 [489,04; 737,70]	$p_{1-2} = 0,093$ $p_{1-4} = 0,037$

Таблица 2. Содержание дофамина, кортизола и тиреоидных гормонов в крови у лиц со снижающимся или не изменяющимся уровнем дофамина в период минимальной освещенности

Table 2. Dopamine, cortisol and thyroid hormone blood level in people with decreasing or unchanged dopamine level during the minimum light period

Содержание гормона (норма)	Март (1)	Июнь (2)	Сентябрь (3)	Декабрь (4)	<i>p</i>
ТТГ, мМЕ/л (0,23–3,4 мМЕ/л)	2,56 [1,59; 4,70]	2,37 [1,37; 6,10]	2,13 [0,96; 5,31]	2,82 [1,24; 5,29]	$p > 0,05$
Т ₃ , нмоль/л (1,0–2,8 нмоль/л)	1,02 [0,88; 1,34]	0,96 [0,76; 1,20]	0,89 [0,71; 1,11]	0,88 [0,63; 1,10]	$p_{1-3} = 0,022$ $p_{1-4} = 0,028$
Т ₄ , нмоль/л (53–158 нмоль/л)	114,60 [98,69; 133,01]	110,69 [95,91; 125,93]	111,07 [80,57; 126,97]	96,88 [62,16; 109,47]	$p_{1-2} = 0,047$ $p_{1-3} = 0,017$ $p_{1-4} = 0,005$ $p_{2-4} = 0,007$ $p_{3-4} = 0,028$
Т ₃ св., пмоль/л (2,5–7,5 пмоль/л)	4,95 [3,84; 5,62]	5,23 [4,65; 6,58]	5,00 [3,06; 7,77]	4,64 [3,61; 5,33]	$p_{2-4} = 0,028$
Т ₄ св., пмоль/л (10,0–23,2 пмоль/л)	13,10 [11,06; 14,83]	13,10 [11,34; 15,06]	12,90 [9,31; 14,56]	12,50 [10,62; 14,47]	$p > 0,05$
ИпПК (1,37–4,43)	2,69 [2,25; 3,50]	2,45 [2,10; 2,88]	2,52 [1,64; 3,33]	2,76 [2,20; 3,55]	$p_{1-2} = 0,047$
ИПК	104,46 [91,29; 134,83]	109,13 [95,08; 146,81]	119,78 [93,23; 143,13]	106,05 [95,08; 132,85]	$p_{3-4} = 0,047$
Дофамин, нмоль/л ($< 0,653$ нмоль/л)	0,306 [0,190; 0,710]	0,482 [0,317; 0,961]	0,246 [0,089; 0,531]	0,232 [0,010; 0,406]	$p_{2-3} = 0,022$ $p_{2-4} = 0,009$
Кортизол, нмоль/л (150–660 нмоль/л)	544,69 [268,27; 626,98]	498,76 [234,15; 560,97]	461,35 [65,57; 618,98]	502,69 [311,06; 576,19]	$p > 0,05$

Обсуждение

Несмотря на то, что воздействие неблагоприятных факторов и нагрузка на все системы организма в большей степени отмечаются в период минимальной продолжительности светового дня, в обеих группах мы можем наблюдать статистически значимое повышение уровня дофамина в крови в условиях максимальной длины светового дня и его снижение осенью при сокращении суточного режима естественной освещенности. Мы предполагаем, что высокое в пределах нормы содержание дофамина в плазме крови северян в летний период может быть связано с увеличением синтеза витамина D. На данный момент результаты экспериментальных работ, проведенных на здоровых мышах, выявили его участие в модулировании гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [7, 8].

Последующее снижение концентрации дофамина при уменьшении и минимальной продолжительности светового дня, возможно, является признаком формирования сезонного аффективного расстройства, возникающего в результате недостатка солнечного света в осенне-зимний период [8].

Разнонаправленность реакций дофаминергической системы молодых северян в период минимальной продолжительности светового дня может быть связана с действием индивидуальных физиологических и психосоциальных факторов. Это согласуется с результатами сезонных исследований, проведенных с участием как человека [9, 10], так и животных [11]. Несмотря на то что в данных работах изучались изменения содержания дофамина и его метаболитов в ЦНС, мы предполагаем некоторую возможность экстраполяции этих результатов на его показатели в плазме крови, поскольку по литературным данным активность мозгового и периферического дофамина может иметь общую регуляцию [12].

Помимо разнонаправленности реакций дофаминергической системы в период минимальной продолжительности светового дня мы можем наблюдать и параллельное им изменение активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы у жителей Европейского Севера. Для группы с повышающимся уровнем дофамина в декабре характерно возрастание концентрации некоторых тиреоидных гормонов, в особенности общих и свободных фракций трийодтиронина (см. табл. 1). У группы со снижающимися или неизменяющимися показателями дофамина наблюдается противоположная картина (см. табл. 2).

Несмотря на то что во многих исследованиях авторы говорят об ингибирующем влиянии дофамина на активность тиреоидной системы [13, 14],

в нескольких экспериментальных работах, проведенных на животных *in vivo* и *in vitro* [15] и исследованиях с участием человека [16] представлены данные о его положительном воздействии на активность многих процессов щитовидной железы.

В группе с повышающимися концентрациями дофамина в декабре мы можем наблюдать возрастающий по сравнению с мартом уровень кортизола, у второй группы также наблюдается усиление его выработки, однако статистически достоверных различий с остальными сезонами при этом не выявлено (см. табл. 1, 2). Поскольку кортизол является одним из основных стресс-гормонов, влияющих на многие аспекты обмена веществ [17], мы можем предполагать, что увеличение его синтеза связано с необходимостью активации компенсаторно-приспособительных механизмов.

У мужчин, чей уровень дофамина возрастает от сентября к декабрю, также увеличивается концентрация кортизола и тиреоидных гормонов, т.е. параллельно активируются несколько стресс-систем – мозговое и корковое вещество надпочечников, щитовидная железа. Мы предполагаем, что дофамин у респондентов из данной группы сравнения выступает в качестве адаптивного фактора, благодаря чему наблюдается более выраженная реакция на появление сезонных стрессовых факторов.

Известно, что периферический дофамин оказывает влияние на многие системы организма – эндокринную, иммунную, сердечно-сосудистую, пищеварительную, а также на функцию почек [12]. Гормоны щитовидной железы, в свою очередь, регулируют метаболические реакции организма. Таким образом, параллельное снижение активности дофамина и щитовидной железы может приводить к замедлению обменных процессов в период минимальной продолжительности светового дня, а следовательно – к нарастанию массы тела и развитию ожирения и сахарного диабета. Также это может свидетельствовать о том, что у респондентов данной группы снижены резервные возможности организма. Примечательно, что периферическая конверсия и содержание тиреотропного гормона в разной степени повышаются в обеих группах, свидетельствуя о наибольшей стабильности этих показателей гипофизарно-тиреоидной системы в условиях сезонных изменений.

Выводы

1. Выявлено параллельное изменение уровня периферического дофамина и активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы в динамике фотопериодов года с нарастанием в периоды увеличения и максимальной продолжительности

светового дня и снижением в периоды уменьшения продолжительности светового дня.

2. В период минимального светового дня отмечено два типа реакций со стороны дофаминергической и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной систем с параллельным повышением и снижением их активности.

3. В группе с повышающимся уровнем дофамина в период минимального светового дня регистрируется нарастание концентрации кортизола в крови.

Список литературы

1. Ульяновская С.А., Баженов Д.В., Шестакова В.Г., Калинин М.Н. Влияние климато-географических факторов Севера на адаптивные реакции организма человека. *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* 2020;64(1):147–154. doi: 10.25557/0031-2991.2020.01.147-154

2. Хаснулин В.И., Хаснулин П.В. Современные представления о механизмах формирования северного стресса у человека в высоких широтах. *Экол. человека.* 2012;(1):3–11.

3. Ткачев А.В., Бойко Е.Р., Губкина З.Д., Раменская Е.Б., Суханов С.Г. Эндокринная система и обмен веществ у человека на Севере. Сыктывкар: Коми науч. центр УрО РАН, 1992. 156 с.

4. Do N., Mino L., Merriam G.R., LeMar H., Case H.S., Palinkas L.A., Reedy K., Reed H.L. Elevation in serum thyroglobulin during prolonged Antarctic residence: effect of thyroxine supplement in the polar 3,5,3'-Triiodothyronine syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89(4):1529–1533. doi: 10.1210/jc.2003-031747

5. Молодовская И.Н., Типисова Е.В., Попкова В.А., Елфимова А.Э., Потуткин Д.С. Фотопериодическая вариация гормонов щитовидной железы и аутоантител у мужчин Европейского Севера. *Якут. мед. ж.* 2020;(2):77–80. doi: 10.25789/YMJ.2020.70.23

6. Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Янковская А.Е. Цитогенетические последствия возрастания содержания дофамина в крови вахтовых рабочих нефтепромыслов севера Сибири. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2015;(5):65–71.

7. Spedding S. Vitamin D and depression: a systematic review and meta-analysis comparing studies with and without biological flaws. *Nutrients.* 2014;6(4):1501–1518. doi: 10.3390/nu6041501

8. Громова О.А., Пронин А.В., Торшин И.Ю., Калинин Д.П., Гришина Т.Р., Громов А.Н. Развитие мозга и когнитивный потенциал витамина D. *Фарматека.* 2016;314(1):27–36.

9. Brewerton T.D., Berrettini W.H., Nurnberger J.I., Linnoila M. Analysis of seasonal fluctuations of CSF monoamine metabolites and neuropeptides in normal controls: Findings with 5HIAA and HVA. *Psy-*

chiatry Res. 1988;23(3):257–265. doi: 10.1016/0165-1781(88)90016-9

10. Barbato G., Cirace F., Monteforte E., Costanzo A. Seasonal variation of spontaneous blink rate and beta EEG activity. *Psychiatry Res.* 2018;270:126–133. doi: 10.1016/j.psychres.2018.08.051

11. Синякова Н.А., Баженова Е.Ю., Куликова Е.А., Фурсенко Д.В., Куликова А.В. Влияние полиморфного варианта C1473G в гене триптофангидроксилазы 2 и длины фотопериода на дофаминовую систему мозга мышей. *Молекул. биол.* 2020;54(1):60–68. doi: 10.31857/S0026898420010140

12. Rubí B., Maechler P. Minireview: new roles for peripheral dopamine on metabolic control and tumor growth: let's seek the balance. *Endocrinology.* 2010;151(12):5570–5581. doi: 10.1210/en.2010-0745

13. Лычкова А.Э. Нервная регуляция функции щитовидной железы. *Вестн. РАМН.* 2013;68(6):49–55. doi: 10.15690/vramn.v68i6.673

14. Ben-Shlomo A., Liu N.A., Melmed S. Somatostatin and dopamine receptor regulation of pituitary somatotroph adenomas. *Pituitary.* 2017;20(1):93–99. doi: 10.1007/s11102-016-0778-2

15. Молодовская И.Н. Дофаминергическая система и ее взаимосвязь с гипоталамо-гипофизарно-гонадной и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системами (обзор литературы). *Сиб. науч. мед. ж.* 2020;40(6):34–43. doi: 10.15372/SSMJ20200604

16. Tipisova E.V., Gorenko I.N., Popkova V.A., Elfimova A.E., Potutkin D.S., Andronov S.V., Andronov S.V., Kochkin R.A., Popov A.I., Lobanov A.A., Bogdanova E.N. The relationship between blood thyroid hormone and dopamine levels in residents of the Arctic Regions of Russia. *International Journal of Biomedicine.* 2019;9(1):43–47. doi:10.21103/Article9(1)_OA8

17. Розанов В.А. Стресс и психическое здоровье (нейробиологические аспекты). *Соц. и клин. психиатрия.* 2013;23(1):79–86.

References

1. Ulyanovskaya S.A., Bazhenov D.V., Shestakova V.G., Kalinkin M.N. Effect of the climatic and geographic factors of the North on adaptive reactions of the human body. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2020;64(1):147–154. [In Russian]. doi: 10.25557/0031-2991.2020.01.147-154

2. Hasnulin V.I., Hasnulin P.V. Modern concepts of the mechanisms forming northern stress in humans at high latitudes. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology.* 2012;(1):3–11. [In Russian].

3. Tkachev A.V., Bojko E.R., Gubkina Z.D., Ramenskaya E.B., Sukhanov S.G. Endocrine system and metabolism at the residents in the north. Syktvykar: Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 1992. 156 p. [In Russian].

4. Do N., Mino L., Merriam G.R., LeMar H., Case H.S., Palinkas L.A., Reedy K., Reed H.L. Elevation in serum thyroglobulin during prolonged Antarctic residence: effect of thyroxine supplement in the polar 3,5,3'-Triiodothyronine syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89(4):1529–1533. doi: 10.1210/jc.2003-031747
5. Molodovskaya I.N., Tipisova E.V., Popkova V.A., Elfimova A.E., Potutkin D.S. Photoperiodic variation of thyroid hormones and autoantibodies in males of the European North. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*. 2020;(2):77–80. [In Russian]. doi: 10.25789/YMJ.2020.70.23
6. Ilinskikh N.N., Ilinskikh E.N., Yankovskaya A.E. Cytogenetic effects of the peripheral blood high dopamine levels in shift workers of oil fields of the Northern Siberia. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2015;5:65–71. [In Russian].
7. Spedding S. Vitamin D and depression: a systematic review and meta-analysis comparing studies with and without biological flaws. *Nutrients*. 2014;6(4):1501–1518. doi: 10.3390/nu6041501
8. Gromova O.A., Pronin A.V., Torshin I.Yu., Kalinsky D.P., Grishina T.R., Gromov A.N. Development of brain and cognitive potential of vitamin D. *Farmateka = Pharmateca*. 2016;314(1):27–36. [In Russian].
9. Brewerton T.D., Berrettini W.H., Nurnberger J.I., Linnoila M. Analysis of seasonal fluctuations of CSF monoamine metabolites and neuropeptides in normal controls: Findings with 5HIAA and HVA. *Psychiatry Res.* 1988;23(3):257–265. doi: 10.1016/0165-1781(88)90016-9
10. Barbato G., Cirace F., Monteforte E., Costanzo A. Seasonal variation of spontaneous blink rate and beta EEG activity. *Psychiatry Res.* 2018;270:126–133. doi: 10.1016/j.psychres.2018.08.051
11. Sinyakova N.A., Bazhenova E.Yu., Kulikova E.A., Fursenko D.V., Kulikov A.V. Effect of the C1473G polymorphic variant of the tryptophan hydroxylase 2 gene and photoperiod length on the dopamine system of the mouse brain. *Mol. Biol.* 2020;54:51–58. doi: 10.1134/S0026893320010148
12. Rubi B., Maechler P. Minireview: new roles for peripheral dopamine on metabolic control and tumor growth: let's seek the balance. *Endocrinology*. 2010;151(12):5570–5581. doi: 10.1210/en.2010-0745
13. Lychkova A.E. Nervous regulation of thyroid function. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2013;68(6):49–55. [In Russian]. doi: 10.15690/vramn.v68i6.673
14. Ben-Shlomo A., Liu N.A., Melmed S. Somatostatin and dopamine receptor regulation of pituitary somatotroph adenomas. *Pituitary*. 2017;20(1):93–99. doi: 10.1007/s11102-016-0778-2
15. Molodovskaya I.N. Dopaminergic system and its relationship with the hypothalamic-pituitary-gonadal and hypothalamic-pituitary-thyroid systems (review). *Sibirskiy nauchnyy medicinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020;40(6):34–43. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200604
16. Tipisova E.V., Gorenko I.N., Popkova V.A., Elfimova A.E., Potutkin D.S., Andronov S.V., Andronov S.V., Kochkin R.A., Popov A.I., Lobanov A.A., Bogdanova E.N. The relationship between blood thyroid hormone and dopamine levels in residents of the Arctic regions of Russia. *International Journal of Biomedicine*. 2019;9(1):43–47. doi: 10.21103/Article9(1)_OA8
17. Rozanov V.A. Stress and mental health (neurobiological aspects). *Sotsial'naya i klinicheskaya psikhatriya = Social and Clinical Psychiatry*. 2013;23(1):79–86. [In Russian].

Сведения об авторах:

Зябишева Валентина Николаевна, ORCID: 0000-0001-6133-8249, e-mail: razvalush@yandex.ru
Типисова Елена Васильевна, д.б.н., ORCID: 0000-0003-2097-3806, e-mail: tipisova@rambler.ru
Елфимова Александра Эдуардовна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-2519-1600, e-mail: a.elfimova86@mail.ru
Молодовская Ирина Николаевна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-6133-8249, e-mail: pushistiy-86@mail.ru
Аликина Виктория Анатольевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3097-9427, e-mail: victoria-popcova@yandex.ru

Information about the authors:

Valentina N. Zyabisheva, ORCID: 0000-0001-6133-8249, e-mail: razvalush@yandex.ru
Elena V. Tipisova, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0003-2097-3806, e-mail: tipisova@rambler.ru
Aleksandra E. Elfimova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-2519-1600, e-mail: a.elfimova86@mail.ru
Irina N. Molodovskaya, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-6133-8249, e-mail: pushistiy-86@mail.ru
Victoria A. Alikina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3097-9427, e-mail: victoria-popcova@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.06.2023
После доработки 30.07.2023
Принята к публикации 19.09.2023

Received 27.06.2023
Revision received 30.07.2023
Accepted 19.09.2023

Велоэргометрическое доплеровское исследование мозгового кровотока после бальнеологической пантовой коррекции вазомоторной ауторегуляции

В.А. Авхименко, А.Б. Тривоженко

Сибирский федеральный научно-клинический центр ФМБА России
636000, г. Северск, ул. Мира, 4

Резюме

Цель исследования – оценить изменение индуцированного велоэргометрией (ВЭМ) динамического состояния пиковой скорости кровотока (Vps) и резистентного индекса (RI) в средней мозговой артерии после бальнеотерапии артериальной гипертензии пантами алтайского марала. **Материал и методы.** Обследована малая когорта пациентов ($n = 48$) с артериальной гипертензией I–II степени в возрасте 56 [50–59] лет (медиана [нижняя квартиль–верхняя квартиль]). В процессе дуплексного исследования средней мозговой артерии регистрировалась Vps, RI в положении лежа, сидя и в течение ВЭМ. **Результаты.** В положении лежа Vps была равна 100 [95–105] см/с, RI – 0,62 [0,58–0,64], на велоэргометре Vps снижалась на 20 % и составляла 80 [77–85] см/с. В процессе ВЭМ средней интенсивности (60 Вт для женщин и 90 Вт для мужчин) Vps увеличивалась на 45 %, до 115 [112–120] см/с, RI возрастал до 0,73 [0,71–0,75]. На максимуме нагрузки наблюдалось уменьшение Vps на 25 % (до 88 [86–92] см/с), RI не менялся. После пантовой бальнеотерапии Vps в положении лежа уменьшилась до 87 [82–92] см/с ($p = 0,0001$), это произошло за счет улучшения микроциркуляции, подтверждаемого снижением RI до 0,52 [0,50–0,53] ($p = 0,0001$). В меньшей степени происходило и ортостатическое падение Vps у данных пациентов. Средненагрузочный рост Vps регистрировался с более высокой амплитудой (до 60 %), оказавшись на уровне 122 [120–125] см/с. На максимуме нагрузки Vps снижалось на 30 % от средне-нагрузочного показателя, до 85 [82–86] см/с. **Заключение.** Велоэргометрическое доплеровское исследование кровотока в средней мозговой артерии является репрезентативным методом оценки динамического состояния ауторегуляции и может быть использовано для диагностического аудита физиотерапии. Пантовая бальнеотерапия продуктами алтайского марала оказывает позитивное воздействие на церебральную вазомоторную функцию.

Ключевые слова: велоэргометрия, доплерография средней мозговой артерии, пантовая бальнеотерапия, вазомоторная ауторегуляция.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Тривоженко А.Б., e-mail: borisah@yandex.ru

Для цитирования: Авхименко В.А., Тривоженко А.Б. Велоэргометрическое доплеровское исследование мозгового кровотока после бальнеологической пантовой коррекции вазомоторной ауторегуляции. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):70–77. doi: 10.18699/SSMJ20230608

Veloergometric Doppler study of brain blood circulation after balneological antler correction of vasomotor autoregulation

V.A. Avkhimenko, A.B. Trivozhenko

Siberian Federal Scientific and Clinical Center of FMBA of Russia
636000, Seversk, Mira st., 4

Abstract

The aim of the study was to evaluate the change in veloergometry (VEM)-induced dynamic state of peak blood flow velocity (Vps) and resistance index (RI) in the middle cerebral artery after balneotherapy of arterial hypertension with Altai red deer antlers. **Material and methods.** A small cohort of patients ($n = 48$) with grade I–II arterial hypertension aged 56 [50–59] years (median [lower quartile–upper quartile]) was examined. In the course of the duplex research of middle cerebra artery Vps, RI in a prone position, sitting and during a bicycle exercise were registered. **Results.** In a

prone position Vps was 100 [95–105] cm/s, RI – 0.62 [0.58–0.64]; on the cycle ergometer Vps decreased by 20 % and was 80 [77–85] cm/s. In the course of bicycle exercises of average intensity (60 W for women and 90 W for men), Vps increased by 45 %, to 115 [112–120] cm/s, RI increased to 0.73 [0.71–0.75]. On a maximum exercise loading Vps reduced by 25 % up to 88 [86–92] cm/s, RI did not change. After antler balneotherapy Vps in a prone position decreased and was equal 87 [82–92] cm/s ($p = 0.0001$), it occurred due to the improvement of microcirculation confirmed by decrease in RI to 0.52 [0.5–0.53] ($p = 0.0001$). To a lesser extent there was also an orthostatic falling of Vps at these patients. In the course of bicycle exercises of average intensity, Vps was registered with higher amplitude (up to 60 %, 122 [120–125] cm/s). On a maximum of bicycle exercise Vps decreased by 30 % of an average and was equal to 85 [82–86] cm/s. **Conclusions.** Veloergometric Doppler study of a blood-groove in a middle cerebra artery is a representative method for assessing the dynamic state of autoregulation and can be used for diagnostic audit of physical therapy. The antler balneotherapy of the Altai maral products makes positive impact on cerebral vasomotor function.

Key words: bicycle exercise, middle brain artery dopplerography, antler balneotherapy, vasomotor autoregulation.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Trivozhenko A.B., e-mail: borisah@yandex.ru

Citation: Avkhimenko V.A., Trivozhenko A.B. Veloergometric Doppler study of brain blood circulation after balneological antler correction of vasomotor autoregulation. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):70–77. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230608

Введение

Позитивная тенденция развития санаторно-курортного направления в различных регионах Российской Федерации, обусловленная политикой сохранения и улучшения состояния здоровья населения страны, вполне очевидна. В Сибирском федеральном округе новые методы восстановительного лечения природными факторами Алтайского края и продуктами пантового оленеводства продемонстрировали несомненный адаптогенный эффект в комплексной терапии гипертонической болезни, синдрома перетренированности у спортсменов, а также в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний у работников радиационно-опасных производств [1–3].

Вместе с тем одним из ограничений курортологии и физиотерапии представляется отставание в разработке новых методов оценки итогов инновационных терапевтических мероприятий и способов восстановительного лечения. Как и прежде, определение их эффективности зачастую базируется на минимальных наборах клинко-лабораторных данных, а также устаревших методах функциональной диагностики. Многочисленные опросники, индексированные шкалы самонаблюдений и физикальных осмотров сегодня выглядят историческими [4]. Применение фундаментальных диагностических методов, базирующихся на регистрации электрофизиологических потенциалов кровообращения, динамической электрокардиографии и тонометрии, при всем уважении к традициям, в современных условиях уже представляется недостаточным, учитывая тенденцию внедрения визуализирующих технологий [5, 6].

В данном ключе обращает на себя внимание стремительное развитие диагностических ультразвуковых методов с возможностью изучения мор-

фофункциональных компонентов глобального и регионального кровообращения. При очевидной простоте, высокой мобильности, возможности проведения многократных исследований без лучевой нагрузки на пациентов и медицинский персонал, доплеровские технологии позволяют регистрировать высокочувствительные показатели системного, внутриорганного и регионального кровотока. Обозначенные методы удачно встраиваются в процесс диагностического аудита результатов физиотерапевтических инноваций. Так, аппараты нового поколения преодолевают костные ограничения и позволяют регистрировать гемодинамические параметры в артериях основания головного мозга, причем технологически это возможно в любых состояниях человека: в покое, при проведении велоэргометрии (ВЭМ), в процессе интенсивной терапии, после нейрохирургических операций и т.д. [7–10].

Для пациентов с артериальной гипертензией (АГ), численность которых по данным эпидемиологических наблюдений неуклонно увеличивается, исключительную важность представляют нарушения в системе ауторегуляции мозгового кровообращения (потенциальной способности поддержания цереброваскулярного гомеостаза в условиях изменяющегося артериального давления). При физической нагрузке или резком изменении положения тела у обозначенных пациентов наблюдается неадекватное изменение мозгового кровотока [11]. Малоизученным остается вопрос возможной коррекции системы церебрального кровообращения у лиц с АГ в процессе бальнеотерапии пантами алтайского марала.

Таким образом, была определена цель исследования: оценить изменение ВЭМ-индуцированного динамического состояния пиковой скорости кровотока и резистентного

индекса в средней мозговой артерии после бальнеотерапии АГ пантами алтайского марала.

Материал и методы

Материал НИР выполнен с соблюдением этических норм, пациентами были подписаны информированные согласия в форме, разработанной юридическим отделом ФГБУ Сибирский федеральный научно-клинический центр ФМБА России, утвержденной Генеральным директором.

Обследована малая когорта пациентов ($n = 48$), включающая 27 мужчин и 21 женщину в возрасте от 44 до 62 лет (56 [50–59] лет, медиана [нижняя квартиль – верхняя квартиль]), страдающих АГ I–II степени по классификации ВОЗ/МОГ (ACC/AHA-2017 Hypertension Guidelines). Критериями включения больных в исследование были верифицированная АГ, медикаментозное лечение с использованием переносимой комбинации двух–трех гипотензивных препаратов различных классов [12], документированное добровольное согласие. Противопоказаниями для включения в исследования служили технические и клинические препятствия для транскраниального дуплексного исследования мозговых артерий и проведения ВЭМ, любые формы ИБС, значимые нарушения ритма и/или проводимости, нарушения мозгового кровообращения, хроническая сердечная недостаточность, черепно-мозговые травмы, противопоказания для пантовой бальнеотерапии и физиотерапевтических процедур.

В общей совокупности обследуемых 25 (52 %) человек страдали ожирением I степени с индексом массы тела 30–40 кг/м², 34 (70 %) пациента жаловались на периодические головные боли разной интенсивности, у 17 (35 %) добровольцев возникала незначительная одышка при физической нагрузке, а у 18 (37 %) человек регистрировался повышенный уровень холестерина в крови. Все пациенты характеризовались стабилизированными параметрами систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД): офисное САД измерялось с размахом 130–155 мм рт. ст. (140 [135–145] мм рт. ст.), ДАД – 85–100 мм рт. ст. (90 [85–95] мм рт. ст.).

Для проведения диагностических инструментальных исследований использовалась специализированная рабочая станция, включающая ультразвуковой аппарат экспертного класса (VIVID E9, GE, США), велоэргометр (AEROBIKE, Япония), компьютерный электрокардиограф (Альтоника, Россия). До начала исследования каждому пациенту регистрировалась ЭКГ и проводилась эхокардиография.

Транскраниальное дуплексное сканирование мозговых артерий осуществлялось с помощью

секторального датчика 2,5–4 мГц через темпоральный доступ. Исследование выполнялось в положении пациента лежа, затем сидя на велоэргометре и перманентно в течение всей процедуры ВЭМ. Регистрировалась пиковая скорость кровотока (V_{ps}), а также индекс резистентности (RI) в сегменте M1 средней мозговой артерии (СМА). ВЭМ проводилась в режиме ручного тарирования нагрузки в виде ступенчато возрастающей пробы с мощностью 30–60–90–120–150 Вт по 5 минут на каждой ступени. Проба прекращалась в момент достижения субмаксимальной возрастной частоты сердечных сокращений (ЧСС) = $0,85 \times (220 - \text{возраст пациента})$, и/или достижения САД 220 мм рт. ст., при появлении нарушений ритма, ишемических изменений конечной части желудочкового комплекса на ЭКГ или в случае чрезмерной усталости, одышки, мышечного истощения.

Корректировка угла доплеровской инсонации не проводилась (0°), учитывая малые значения («луч – гемодинамическое отклонение»). Также представлялось нецелесообразным измерение усредненных по времени пиковой и средней скорости кровотока, требующих проведения аппаратно-искажаемой или мануально-неточной спектральной трассировки. Обозначенный упрощенный подход повышал воспроизводимость метода для его применения в качестве средства диагностического контроля эффективности терапевтических мероприятий.

Все исходные и нагрузочные параметры измерялись в левой СМА, V_{ps} , RI, а также ЧСС и АД регистрировались на завершающем этапе каждой ступени ВЭМ, при этом вращение педалей эргометра не прекращалось, технологически это достигалось за счет подъема и разворота интерфейсной панели аппарата на необходимую высоту (рис. 1).

После проведения обозначенных предварительных исследований 22 человека были направлены в НИИ курортологии и физиотерапии для проведения бальнеотерапии, которая осуществлялась с применением водного электроимпульсного экстракта пантов марала. Для приготовления экстракта подготовленные измельченные панты экстрагировались электродинамическим методом на установке электроимпульсной экстракции, на одну ванну использовалось 200 г пантов. Обозначенное лечение было одобрено заседанием локального этического комитета ФГБУ Сибирский федеральный научно-клинический центр ФМБА России, протокол № 9 от 05.02.2019. Экстрагирование биокomпонентов утверждено в методических рекомендациях ранее проведенной НИР на тему «Клинико-экспериментальное обоснование комплексного применения лечебных физических



Рис.1. Технология ортопозиционного велострессового измерения кровотока в СМА и нагрузочный рост спектрального потока в режиме «Покой – ВЭМ 60 Вт – ВЭМ 90 Вт» (левая панель, снизу вверх)

Fig. 1. Technology of ortho-position bicycle-stressful measurement of a blood-groove in middle cerebra artery and load growth of a spectral stream in the "Rest – bicycle 60 W – bicycle 90 W" mode (the left panel, from below-up)

факторов, продуктов пантового оленеводства и пробиотических продуктов в оздоровлении лиц с факторами риска и компонентами метаболического синдрома». Оставшиеся 26 пациентов обозначенных процедур не получали, ведя привычный образ жизни с медикаментозной коррекцией АГ. Таким образом, выбранная когорта разделилась на две соразмерные группы сопоставимого возраста и пола.

Контрольные исследования мозгового кровообращения осуществлялись через 30–40 дней в тех же условиях, с применением того же оборудования и тем же медицинским персоналом.

Учитывая относительно малое количество наблюдений в выборках, анализ распределения переменных не проводился, а данные представлялись в виде минимальных и максимальных значений дистрибутивов, медианы, нижней и верхней квартили (Me [LQ–HQ]). Для определения достоверности различий независимых выборок применялся непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Нулевые гипотезы отвергались при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

В процессе предварительно поведенных ЭКГ и эхокардиографии существенных кардиологических изменений не обнаружено. У 10 (20 %) че-

ловек регистрировались признаки гипертрофии левого желудочка в виде повышенного индекса Соколова – Лайона с малой инверсией асимметричной «волны Т», у 4 (8 %) и 6 (12 %) пациентов выявлялась редкая желудочковая или суправентрикулярная экстрасистолия соответственно. Ультразвуковые признаки несущественной гипертрофии левого желудочка присутствовали у 14 (29 %) человек с индексом массы миокарда от 110 до 125 г/м² (117 [112–120] г/м²), минимальная дилатация левого предсердия наблюдалась у 9 (18 %) пациентов, нарушение диастолической функции I типа в виде пролонгированной релаксации с напряженной предсердной систолой – у 25 (52 %) обследованных. Эквивалентов застойной легочной гипертензии обнаружено не было, давление заклинивания находилось в пределах 8–14 мм рт. ст. (11 [9–12] мм рт. ст.). Минимальные дегенеративные изменения оснований клапанных створок без нарушения функции присутствовали у 8 (16 %) человек. Ультразвуковой экспресс-осмотр сонных артерий выявил признаки нестенозирующего атеросклероза в виде утолщений интимы и мелких бляшек, не влияющих на кровотоки, у 7 (14 %) обследуемых лиц.

Применение ультразвукового аппарата с высокой проникающей способностью и чувствительными доплеровскими режимами позволило

успешно визуализировать СМА в 100 % случаев с высоким качеством отображенных сигналов. При нахождении пациента в положении лежа его V_{ps} измерялась в пределах от 90 до 110 см/с (100 [95–105] см/с), RI – от 0,55 до 0,68 (0,62 [0,58–0,64]), межгрупповых различий не обнаружено. V_{ps} обследованных в положении сидя на велоэргометре снижалась в среднем на 20 % и регистрировалась в диапазоне 70–94 см/с (81 [77–85 см/с]), вертикальное положение вызывало закономерное перераспределение кровотока, при этом RI существенно не изменялся и находился в пределах 0,57–0,68 (0,64 [0,62–0,65]).

В процессе ВЭМ средней интенсивности, которая составляла 60 Вт для женщин и 90 Вт для мужчин, V_{ps} закономерно увеличивалась без межгрупповых различий и регистрировалась с размахом 100–125 см/с (115 [112–120] см/с), при этом эквивалентно возрастал RI , он находился в диапазоне 0,68–0,78 (0,73 [0,71–0,75]). На пике нагрузки наблюдалось уменьшение V_{ps} до 83–105 см/с (88 [86–92] см/с), а RI не менялся и просматривался с размахом 0,64–0,78 (0,69 [0,67–0,72]).

Таким образом, нагрузочный паттерн мозговой гемодинамики в обследуемой когорте пациентов выглядел следующим образом:

[Const V_{ps} (лежа) – $\downarrow V_{ps} \Delta \approx 20$ % (сидя) – $\uparrow V_{ps} \Delta \approx 45$ % (ВЭМ 60–90 Вт) – $\downarrow V_{ps} \Delta \approx \approx 25$ % (ВЭМ 100–120 Вт)],

где Δ – изменение V_{ps} по отношению к предшествующему измерению (%), \downarrow и \uparrow – соответственно понижение или повышение.

Обнаруженный феномен снижения V_{ps} на пике ВЭМ, следующий за ростом скоростного показателя в ответ на нагрузку средней интенсивности, объяснялся включением системы мозговой ауторегуляции [5], а также закономерной нагрузочной децентрализацией кровообращения с увеличением мышечной перфузии. Типичный пример нагрузочного изменения спектра кровотока в СМА представлен на рис. 2.

Пантовый физиотерапевтический цикл в среднем составил 20–25 процедур, как показали наблюдения, все пациенты хорошо переносили назначенное восстановительное лечение, большинство из них завершили бальнеотерапевтический курс с ощутимым изменением структуры жалоб. В процессе приема ванн отмечалось уменьшение частоты выявления головных болей, слабости и утомляемости.

При проведении контрольных измерений кровотока в СМА в положении лежа у пациентов I группы V_{ps} находилась в диапазоне 75–96 см/с (87 [82–92] см/с), у пациентов II группы – 85–107 см/с (100 [96–104] см/с), бальнеотерапия способствовала достоверному снижению скоростного показателя ($p = 0,0001$), возможно, это произошло за счет улучшения микроциркуляции и нормализации мозгового метаболизма, характеризующегося уменьшением потребления кислорода. Параллельно наблюдалось снижение RI , который вычислялся с размахом 0,47–0,53 (0,52 [0,5–0,53]), у пациентов II группы данный показатель почти не изменился и находился в пределах 0,55–0,68 (0,61 [0,6–0,63]), а межгрупповые

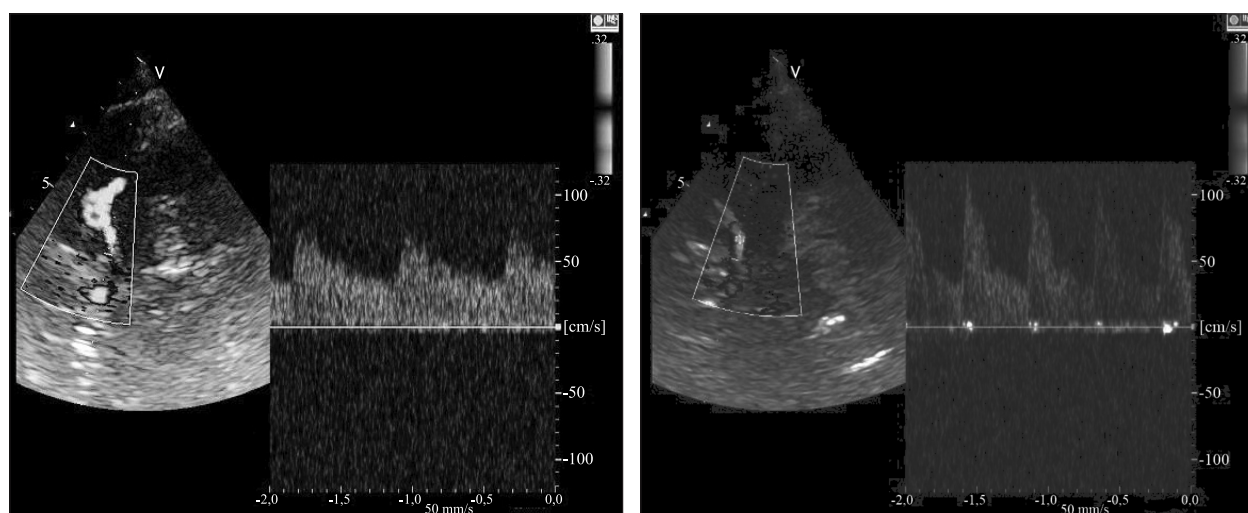


Рис. 2. «Исходный» (слева; $V_{ps} = 75$ см/с, $RI = 0,5$) и «Нагрузочный 90 Вт» (справа; $V_{ps} = 110$ см/с, $RI = 0,65$) доплеровские спектры в СМА у пациента Б. 55 лет

Fig. 2. «Initial» (at the left; $V_{ps} = 75$ cm / c, $RI = 0,5$) and «Bicycle exercises 90 W» (on the right; $V_{ps} = 110$ cm/c with, $RI = 0,65$) Doppler spectrums in middle brain artery at the patient B. 55 years

различия оказались статистически значимыми ($p = 0,0001$). Обозначенное наблюдение, скорее всего, было обусловлено уменьшением периферического сосудистого сопротивления в процессе нормализации мозговой микроциркуляции. Физиотерапевтические процедуры оказали влияние и на ортостатическое снижение V_{ps} , которое у пациентов I группы, находившихся в положении сидя на велоэргометре, происходило в меньшей степени, измерялось в пределах 70–82 (75 [73–78]) и составило около 15 %.

В процессе контрольной ВЭМ наблюдался аналогичный средненагрузочный рост V_{ps} , но с более высокой амплитудой, на уровне 60 %, скоростной показатель просматривался в пределах 115–130 см/с (122 [120–125] см/с), RI находился в диапазоне 0,64–0,72 (0,68 [0,67–0,7]) и существенно не изменился. На пике ВЭМ V_{ps} у обследованных I группы снижалась в среднем на 30 % от средненагрузочного показателя и регистрировалась с размахом 76–90 см/с (85 [82–86] см/с).

Таким образом, анализируемый гемодинамический паттерн у данной категории лиц после курсовой пантовой бальнеотерапии трансформировался и представлялся в виде:

$$\begin{aligned} & [\text{Const } V_{ps} (\text{лежа}) - \downarrow V_{ps} \Delta \approx 15 \% (\text{сидя}) - \\ & - \uparrow V_{ps} \Delta \approx 60 \% (\text{ВЭМ } 60\text{--}90 \text{ Вт}) - \downarrow V_{ps} \Delta \approx \\ & \approx 30 \% (\text{ВЭМ } 100\text{--}120 \text{ Вт})] \end{aligned}$$

Необходимо добавить, что проведенная бальнеотерапия оказала несущественное позитивное влияние и на физическую работоспособность; так, на 9 % возросла толерантность к физической нагрузке, которая до пантового лечения регистрировалась в диапазоне 78–108 (90 [84–96] Вт), а после него – в пределах 80–120 Вт (98 [90–108] Вт) ($p = 0,01$).

Кроме этого, традиционно измерялось АД на этапах ВЭМ. При проведении исходного нагрузочного исследования САД на пике пробы регистрировалось в пределах от 190 до 220 мм рт. ст. (210 [206–220] мм рт. ст.). После курсового лечения пороговые нагрузочные значения обозначенного показателя оказались достоверно ниже ($p < 0,0001$), при проведении контрольного нагрузочного исследования пиковое САД измерялось в пределах 165–200 мм рт. ст. (180 [175–185] мм рт. ст.). Однако процентный рост наблюдался без статистических различий, в процессе исходного исследования он составил 52 [47–55] %, а в процессе контрольного – 48 [39–52] % ($p = 0,079$). Данный феномен объясняется различиями САД в состоянии физического покоя, так как комплексная медикаментозно-физиотерапевтическая коррекция способствовала его стабилизации.

Обсуждение

Неотъемлемой проблемой процесса физиотерапии и медицинской реабилитации в учреждениях санаторно-курортной медицины представляется недостаточно репрезентативная объективизация терапевтических итогов. Общеизвестно, что клинический инструментально-диагностический комплекс сердечно-сосудистого направления характеризуется значительной шириной диапазона – одни методы используются для верификации диагноза, другие – для оценки эффективности проводимого терапевтического или хирургического лечения. Вполне очевидно, что обозначенный подход может быть экстраполирован в сферу медицинской реабилитации, при этом необходим тщательный выбор методов и критериев для формирования оптимального диагностического контроля. С одной стороны, следует избегать перегруженности многочисленностью средств такого контроля, с другой стороны, необходимо выбрать методы точного истолкования результатов восстановительного лечения. Для реабилитации пациентов с АГ ключевое значение имеет определение морфофункционального состояния артериального сосудистого русла, снабжающего жизненно важные органы. Вполне очевидно, что у данной категории лиц критически важным является динамический статус церебрального кровообращения, определяемый в процессе проведения настоящего исследования.

Современное развитие ультразвуковой медицинской техники позволяет осуществлять визуально контролируемые доплеровские исследования в сосудах малого диаметра. Оптимальным средством анализа церебральной гемодинамики представляется динамическая регистрация линейных параметров перфузии в СМА, которая является наиболее крупным сосудом артериального русла, снабжающим большой объем функционально активной коры и подкорковых структур головного мозга. Исследование показало возможность регистрации доплеровских показателей кровотока в 100 % случаев при использовании оборудования экспертного уровня, что согласуется с литературными сведениями [7–10].

Общеизвестно, что мозговое кровообращение характеризуется вазомоторной оптимизацией скоростно-объемных гемодинамических параметров по необходимой потребности. В условиях церебральной гипоксии кровотоков увеличивается, а при восстановлении тканевого дыхания – снижается. Исследование продемонстрировало, предположительно, позитивный эффект пантовой бальнеотерапии в комплексной коррекции мозгового крово-

обращения с нормализацией гемодинамических показателей, проявляющийся снижением пиковой скорости и сосудистой резистентности. Тем не менее сама конструкция НИР, опирающаяся на малую когорту пациентов без рандомизации материала и полноценного бальнеотерапевтического плацебо – контроля, не позволяет декларировать лечебный эффект пантовых ванн.

Общеизвестно, что нагрузочное изменение параметров мозговой гемодинамики подчинено определенным закономерностям, базирующимся на ауторегуляции скоростно-объемных параметров мозговой перфузии. При физических упражнениях средней интенсивности кровотока возрастает, а с дальнейшим ростом мышечных усилий – снижается в обратной пропорции, что обусловлено включением защитно-приспособительных механизмов, препятствующих чрезмерной гиперемии головного мозга и децентрализации кровообращения в пользу скелетной мускулатуры [7]. Исследование подтвердило приверженность индивидуальных паттернов трансформации мозгового кровотока общему правилу. Вместе с тем было отмечено, что лечение пантами алтайского марала предположительно увеличило вазомоторную амплитуду обозначенной нагрузочной ауторегуляции. Данный феномен, скорее всего, был обусловлен снижением функциональной ригидности сосудистых стенок с нормализацией микроциркуляции и ускорением нейрогуморальных сосудодвигательных процессов.

Необходимо добавить, что линейный рост САД отличался от нагрузочного роста Vps, обозначенная скорость кровотока корреляционно увеличивалась лишь до определенного предела, т.е. в процессе ВЭМ средней интенсивности (до 70 % субмаксимальной возрастной ЧСС). Таким образом, исследование подтвердило независимость центральной и церебральной гемодинамики, базирующейся на механизме ауторегуляции мозгового кровообращения. При этом в обследуемой когорте пациентов не отмечалось существенного увеличения RI, наблюдаемого при гипервентиляции, что объяснялось закономерной нагрузочной гипоксией в процессе непродолжительной, а следовательно, анаэробной ВЭМ.

Заключение

Велоэргометрическое доплеровское исследование кровотока в СМА может быть использовано для диагностического контроля эффективности итогов физиотерапии. Пантовая бальнеотерапия продуктами алтайского марала оказывает позитивное воздействие на вазомоторную функцию у пациентов с АГ I–II степени и в комплексе с медикаментозным лечением способствует нормализации церебрального кровообращения.

Список литературы

1. Смирнова И.Н., Тонкошкурова А.В., Антипова И.И., Левицкая Т.Е. Эффективность наружного применения электроимпульсного экстракта пантов марала у пациентов с артериальной гипертензией. *Современные вопросы биомедицины*. 2021;5(4):48–63. doi: 10.51871/2588-0500_2021_05_04_5
2. Антипова И.И., Смирнова И.Н., Авхи́менко В.А., Абдулкина Н.Г., Тицкая Е.В., Тонкошкурова А.В., Тихонова Т.В., Стародубцева Е.Н., Васильева Е.Ю., Корвякова О.П., Кудрявский С.И. Влияние оздоровительных санаторно-курортных технологий с применением природных лечебных факторов алтайского региона на показатели физической работоспособности работников учреждений, подведомственных ФМБА России. *Курорт. мед.* 2021;(3):58–66. doi: 10.17238/ISSN2223-2524.2021.3_58
3. Верещагина С.В., Смирнова И.Н., Штейнердт С.В., Зайцев А.А., Баранкин Б.В. Эффективность применения порошка пантов марала в тренировочный период годичного цикла подготовки спортсменов зимних циклических видов спорта. *Спорт. мед.: наука и практика*. 2019;9(2):72–78. doi: 10.17238/ISSN2223-2524.2019.2_72
4. Шихлярова А., Жукова Г., Машенко Н. Некоторые рекомендации и примеры по практическому проведению активационной терапии (по материалам работ Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакиной, М.А. Уколовой). *Кардиометрия*. 2015;(7):57–62. doi: 10.12710/cardiometry.2015.7. 6469
5. Picano E., Scali M.C. Stress echo, carotid arteries and more: its versatility for our imaging times. *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2018;11(2, Pt. 1):181–183. doi: 10.1016/j.jcmg.2017.01.023
6. Khattar R.S., Senior R. Stress echocardiography and carotid ultrasound: combined use for the assessment of coronary artery disease? *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2021;34(6):625–628. doi: 10.1016/j.echo.2021.04.001
7. Куликов В.П., Гатальский К.К., Доронина Н.Л., Кисарова Я.А., Суховершин Р.А. Реакция мозговой гемодинамики на физическую нагрузку умеренной интенсивности. *Рос. физиол. ж.* 2007;93(2):161–168.
8. Семенютин В.Б., Алиев В.А., Берснев В.П., Патцак А., Панунцев Г.К., Никифорова А.А., Рамазанов Ш.Ш., Печиборщ Д.А., Ибляминов В.Б., Асатурян Г.А., Дуданов И.П., Павлов О.А. Диагностические и прогностические возможности неинвазивной оценки церебральной ауторегуляции. *Регионар. кровообращ. и микроциркуляция*. 2015;14(1):4–14. doi: 10.24884/1682-6655-2015-14-1-4-14
9. Щуров В.А. Скорость мозгового кровотока и работоспособность человека. *Рос. ж. биомех.* 2016;20(4):352–357. doi: 10.15593/RZhBiomeh/2016.4.07
10. Chen J., Dong P., Dong K., Mo D., Wang Y., Zhao X., Wang Y., Gong X. Improvement of exhausted cerebral autoregulation in patients with idiopathic intracranial hypertension benefit of venous sinus stenting.

Physiol. Meas. 2021;42(8):172. doi: 10.1088/1361-6579/ac172c

11. Атюнина И.В., Ощепкова Е.В., Рогоза А.Н. Особенности церебральной ауторегуляции и реактивности у больных артериальной гипертензией старших возрастных групп с ортостатическими гипотензивными реакциями. *Систем. гипертензии.* 2020;17(2):48–55. doi: 10.26442/2075082X.2020.2.200214

12. Рипп Т.М., Мордовин В.Ф. Рекомендации Европейского общества кардиологов и Европейского общества артериальной гипертензии 2018 года о новых методах лечения гипертензий – «DEVICE-BASED TREATMENT». *Артериал. гипертензия.* 2018;24(6):623–627. doi: 10.18705/1607-419X-2018-24-6-623-627

References

1. Smirnova I.N., Tonkoshkurova A.V., Antipova I.I., Levitskaya T.E. Effectiveness of external use of electropulse extract of maral velvet antlers in patients with arterial hypertension. *Sovremennyye voprosy biomeditsiny = Modern Issues of Biomedicine.* 2021;5(4):48–63. [In Russian]. doi: 10.51871/2588-0500_2021_05_04_5

2. Antipova I.I., Smirnova I.N., Avkhimenko V.A., Abdulkina N.G., Titskaya E.V., Tonkoshkurova A.V., Tikhonova T.V., Starodubtseva E.N., Vasilyeva E.Yu., Korvyakova O.P., Kudryavsky S.I. Impact of health resort technologies using natural medical factors of altai region on indicators of physical efficiency of employees of institutions subordinate to FMBA of Russia. *Kurortnaya meditsina = Resort Medicine.* 2021;(3):58–66 [In Russian]. doi: 51871/2304-0343_2021_3_58

3. Vereshchagina S.V., Smirnova I.N., Steinerdt S.V., Zaytsev A.A., Barankin B.V. Efficiency of the use of Siberian stag velvet antlers powder during the training period of the year-long cycle of training athletes of winter cycling sports. *Sportivnaya meditsina: nauka i praktika = Sports Medicine: Research and Practice.* 2019;9(2):72–78. [In Russian]. doi: 10.17238/ISSN2223-2524.2019.2.72

4. Shikhlyarova A., Zhukova G., Mashchenko N. Some recommendations and examples about practical performing activation therapy (on materials of works of L.H. Garkavy, E.B. Kvakina, M.A. Ukolova). *Kardio-*

metriya = Cardiometry. 2015;(7):57–62 [In Russian]. doi:10.12710/cardiometry.2015.7. 6469

5. Picano E., Scali M.C. Stress echo, carotid arteries and more: its versatility for our imaging times. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2018;11(2, Pt. 1):181–183. doi: 10.1016/j.jcmg.2017.01.023

6. Khattar R.S., Senior R. Stress echocardiography and carotid ultrasound: combined use for the assessment of coronary artery disease? *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2021;34(6):625–628. doi: 10.1016/j.echo.2021.04.001

7. Kulikov V.P., Gatalsky K.K., Doronina N.L., Kisarova Ya.A., Sukhovshin R.A. Cerebral hemodynamic reaction to physical exercise of moderate intensity. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology.* 2007;93(2):161–168 [In Russian].

8. Semenyutin V.B., Aliev V.A., Bersnev V.P., Pat-sak A., Panuntsev G.K., Nikiforova A.A., Ramazanov Sh.Sh., Pechiborsch D.A., Ibyaminov V.B., Asaturyan G.A., Dudanov I.P., Pavlov O.A. Diagnostic and prognostic potential of non-invasive assessment of cerebral blood flow autoregulation. *Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya = Regional Blood Circulation and Microcirculation.* 2015;14(1):4–14. [In Russian]. doi: 10.24884/1682-6655-2015-14-1-4-14

9. Shchurov V.A. Speed of a brain blood-groove and efficiency of the person. *Rossiyskiy zhurnal biomekhaniki = Russian Journal of Biomechanics.* 2016;20(4):352–357 [In Russian]. doi: 10.15593/RZhBiomeh/2016.4.07

10. Chen J., Dong P., Dong K., Mo D., Wang Y., Zhao X., Wang Y., Gong X. Improvement of exhausted cerebral autoregulation in patients with idiopathic intracranial hypertension benefit of venous sinus stenting. *Physiol. Meas.* 2021;42(8):172. doi: 10.1088/1361-6579/ac172c

11. Atyunina I.V., Oshchepkova E.V., Rogoza A.N. Features of cerebral autoregulation and reactivity in patients with arterial hypertension in older age groups with orthostatic hypotensive reactions. *Sistemnye gipertenzii = Systemic Hypertension.* 2020;17(2):48–55. [In Russian]. doi: 10.26442/2075082X.2020.2.200214

12. Ripp T.M., Mordovin V.F. 2018 ESC/ESH guidelines about new methods of treatment of hypertension – “DEVICE-BASED TREATMENT”. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension.* 2018;24(6):623–627. [In Russian]. doi: 10.18705/1607-419X-2018-24-6-623-627

Сведения об авторах:

Авхименко Виктор Александрович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-2178-601X

Тривоженко Александр Борисович, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6449-9523, e-mail: borisah@yandex.ru

Information about the authors:

Viktor A. Avkhimenko, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-2178-601X

Alexandr B. Trivozhenko, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6449-9523, e-mail: borisah@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.05.2023

После доработки 31.07.2023

Принята к публикации 05.09.2023

Received 01.05.2023

Revision received 31.07.2023

Accepted 05.09.2023

Морфофункциональные и психофизиологические показатели организма в мониторинге здоровья студентов с учетом адаптации к условиям образовательной среды

О.И. Анфиногенова¹, Н. Деер², Д.А. Доменюк³, Г.С. Ивченко¹, И.В. Ржепаковский¹

¹ Северо-Кавказский федеральный университет
355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1

² Частный университет фармации и косметологии Аль-Хаваш
Сирийская Арабская Республика, г. Хомс

³ Ставропольский государственный медицинский университет Минздрава России
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310

Резюме

Адаптация студентов к учебному процессу в высшей школе во многом зависит от индивидуально-типологических особенностей организма. Физиологический и психологический статус студента, исходные мотивационные установки являются определяющими факторами. На этом фоне важнейшее значение приобретает поиск путей улучшения состояния здоровья, повышения работоспособности и адаптационных резервов будущих квалифицированных специалистов. **Материал и методы.** Проведено лонгитудинальное исследование обучающихся на разных курсах в вузе. В ходе исследования у студентов на первом и затем на втором курсе обучения оценены антропометрические данные, методом ИФА определена концентрация тестостерона и кортизола в слюне, тиреотропного гормона и трийодтиронина в сыворотке крови, выполнен общий анализ крови автоматизированным методом на гематологическом анализаторе, а также оценены психофизиологические показатели с помощью унифицированных тест-опросников. **Результаты.** Установлено, что в процессе обучения у студентов уменьшается концентрация гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците и количество лейкоцитов. Следует также отметить достоверное повышение содержания тиреотропного гормона и снижение уровня трийодтиронина и тестостерона у студентов на третьем курсе обучения. С помощью опросника Басса – Дарки выявлено увеличение критерия агрессии и подозрительности у студентов на старшем курсе в сравнении с этими показателями на первом курсе обучения. **Заключение.** Полученные результаты исследования расширяют информационно-методологическую базу оценки функционального состояния организма студентов с позиций системного подхода и теории нормы, углубляют представление об основных механизмах, обуславливающих стресс-реализующую и стресс-лимитирующую стратегии адаптации. Изучение показателей морфофункционального состояния организма позволяет в режиме ежегодного мониторинга здоровья определять регуляторно-адаптивные возможности организма студентов, поступивших на первый курс и обучающихся в дальнейшем, соответственно, прогнозировать риск развития дезадаптации и принимать меры профилактики для поддержания здоровья в период обучения.

Ключевые слова: антропометрия, периферическая кровь, гормональный статус, уровень агрессии, уровень тревожности.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Анфиногенова О.И., e-mail: oanfinogenova@ncfu.ru

Для цитирования: Анфиногенова О.И., Деер Н., Доменюк Д.А., Ивченко Г.С., Ржепаковский И.В. Морфофункциональные и психофизиологические показатели организма в мониторинге здоровья студентов с учетом адаптации к условиям образовательной среды. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):78–83. doi: 10.18699/SSMJ20230609

Morphofunctional and psychophysiological body indicators in monitoring students' health status, in view of their adjustment to academic environment

O.I. Anfinogenova¹, N. Deep², D.A. Domenyuk³, G.S. Ivchenko¹, I.V. Rzhepakovsky¹

¹ North Caucasus Federal University
355017, Stavropol, Pushkina st., 1

² Al Hawash Private University,
Syria, Homs

³ Stavropol State Medical University of Minzdrav of Russia
355017, Stavropol, Mira st., 310

Abstract

Students' adjustment to higher education process depends largely on the body's individual features. The student's physiological and psychological status, as well as the initial motivational setting attitudes are the determining factors. Given this backdrop, the search for ways to improve the health, while aiming at enhancing future qualified specialists' working and adjustment capacity, appears to be an issue of utmost importance. **Material and methods.** A longitudinal study involving university students of different years was carried out, through which anthropometric data were evaluated for the same students in their 1st year and then – in their 2nd year of training; the concentration of testosterone and cortisol in saliva, thyroid-stimulating hormone and triiodothyronine in blood serum was measured by ELISA; also, psychophysiological values were estimated through unified questionnaires. **Results.** The results showed that over the course of education, the students had their hemoglobin concentration, average hemoglobin content in erythrocytes, and leukocyte number decreased. Notable was a significant increase in 3rd year students' thyroid-stimulating hormone content and a decrease of triiodothyronine and testosterone. A test relying on the Buss – Durkee Hostility Inventory helped to detect an increase in the aggression and suspicion criterion indicators among senior students if matched versus similar values obtained for their freshmen-counterparts. **Conclusions.** The research outcomes expand the informational and the methodological base required to evaluate an average student's functional status from the standpoint of a systematic approach and the theory of the norm. Besides, such data will offer an insight into the main mechanisms behind stress-inducing, just like stress-limiting, adjustment strategies. This study of the morphofunctional status indicators allows – while within the annual health monitoring approach – identifying the regulatory and the adjustment capacities in students, both at the time they are enrolled as freshmen and further, thus helping predict the potential risk of maladjustment, which, in turn, may serve a useful tool in taking preventive measures, the final goal being to maintain students' health through their higher education training period.

Key words: anthropometry, peripheral blood, hormonal status, aggression level, anxiety level.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Anfinogenova O.I., e-mail: oanfinogenova@ncfu.ru

Citation: Anfinogenova O.I., Deep H., Domenyuk D.A., Ivchenko G.S., Rzhepakovsky I.V. Morphofunctional and psychophysiological body indicators in monitoring students' health status, in view of their adjustment to academic environment. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):78–83. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230609

Введение

В настоящее время все большую тревогу вызывает проблема состояния здоровья юношей в связи с ухудшением экологических, социальных условий жизни. Ее решение является комплексной задачей для психологии, физиологии, экологии человека [1]. В успешном решении проблемы сохранения здоровья молодых людей существенное значение приобретают меры по индивидуальной профилактике заболеваний.

Целостность организма как системы, обладающей различным запасом прочности (здоровья), обеспечивает его индивидуальный процесс адаптации к окружающей среде и позволяет говорить об индивидуальных типологических свойствах личности, возможности их прогнозирования и коррекции [2]. Важно учитывать специфику адаптационных процессов студентов-первокурсников, использование технологий самоорганизации в учебе, самостоя-

тельность, готовность к будущей профессиональной деятельности и личной жизни. [3]. Исследование первокурсников – это исследование будущего, поскольку, будучи выполнено в начале образовательного процесса в вузе, оно ничего не говорит о воздействии образовательной организации на новое поколение студентов в области обучения и воспитания, если не считать важными их ожидания от вуза и будущей профессии [4].

Известно, что в процессе обучения происходит адаптация к комплексу факторов, специфических для высшей школы. Умственное, психоэмоциональное напряжение, частые нарушения режима труда, отдыха, питания приводят к срыву процесса адаптации и развитию ряда патологических процессов. В период изменения учебной нагрузки с базовой (школьной) в специализированную (вуз) происходит ряд изменений в функциональном состоянии сердечно-сосудистой, нервной и дыхательной систем [1, 5]. Во

время разных периодов учебного процесса обучение происходит за счет изменения интенсивности эмоционально-информационной нагрузки. Так, во время учебного семестра нагрузка равномерна, но во время экзаменационной сессии она ощутимо возрастает и зависит также от субъективных факторов, к которым также относятся студенческо-преподавательские отношения. Поэтому актуальным является изучение функционального состояния систем организма студентов как во время учебного семестра, так и в течение экзамена, а также до и после него [6].

Для повышения эффективности обучения и оптимизации процессов адаптации в вузе важно учитывать действие вышеупомянутых факторов на организм молодежи в течение всего периода обучения, так как на начальных курсах происходит активная мобилизация, а ближе к окончанию обучения наблюдается постепенное истощение как физических, так и компенсаторно-адаптационных резервов молодого организма. Таким образом, изучение и научное обоснование процессов адаптации молодых людей в вузе является актуальной проблемой в современной физиологии и медицинской практике [4, 7].

Цель исследования – изучить особенности адаптационного процесса у студентов, обучающихся в университете, по некоторым конституциональным, психофизиологическим параметрам, а также показателям периферической крови и маркерам гормонального статуса в лонгитудинальном режиме.

Материал и методы

Исследование проводилось в 2022 г. в осенний период, во время прохождения ежегодного медицинского осмотра студентов, обучающихся в Северо-Кавказском федеральном университете. В лонгитудинальном режиме, дважды, на 1-м и 3-м курсе, обследованы 54 студента-юноши, с учетом длительности пребывания в вузе и возрастных критериев. В исследование включены клинически здоровые юноши, критерии исключения: острые воспалительные, инфекционные, эндокринные заболевания, обменные и наследственные болезни. От всех студентов получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Возраст обучавшихся на 1-м курсе составил $17,6 \pm 0,4$ года, на 3-м курсе – $20,7 \pm 0,4$ года. В сравниваемых группах оценивали данные антропометрии, гормональный статус, параметры расширенного анализа периферической крови и психофизиологические особенности. Исследование включало анонимные анкетные данные, заключение врачей-консультантов медицинского центра о подтверждении группы здоровья. Расширенный анализ гемограммы проводили на анализаторе Medonic M20 (Boule Medical AB, Швеция). Содержание кортизола и тестостерона определяли

в слюне, которую испытуемые собирали в 7 час 30 мин – сразу после пробуждения, натошак, согласно рекомендациям преаналитической инструкции. Уровень тиреотропного гормона (ТТГ) и трийодтиронина определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью стандартных диагностических наборов (ООО «Бенчмарк Перитум», г. Санкт-Петербург). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific, США). Тестирование студентов проводили по опросникам (опросник уровня агрессивности Басса – Дарки в адаптации А.К. Осницкого) [6, 8].

Для характеристики вариационных рядов, полученных в исследовании, определяли среднюю арифметическую величину (M), ошибку средней арифметической величины (m) и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты

Нами проведено исследование некоторых конституциональных особенностей организма человека в юношеском периоде онтогенеза (длина тела, масса тела). Известно, что колебания массы тела могут быть значительными в течение не только нескольких лет, но и одного месяца. Но также следует отметить, что незначительные изменения отмечаются в течение дня (после приема пищи, спортивной тренировки и т.д.). Соответственно, массу тела определяли в первой половине дня, утром. Сравнительный анализ полученных данных выявил незначительные различия роста и массы тела студентов на первом и третьем курсе (соответственно $168,1 \pm 1,1$ и $173,2 \pm 1,3$ см, $65,4 \pm 1,3$ и $74,7 \pm 1,05$ кг). Окружность грудной клетки также значимо не изменилась ($86,5 \pm 0,8$ и $92,6 \pm 0,8$ см).

Система крови играет ведущую роль в обеспечении адаптационной деятельности организма. Основная ее функция – транспорт кислорода, питательных веществ, главных источников энергии для клеток и тканей. Форменные элементы периферической крови весьма чувствительны к изменениям внешней среды обитания, а также внутреннего состояния [9]. Таким образом, изменение количественных и морфометрических показателей кровеносной системы может усиливать или лимитировать адаптационные возможности организма, так как энергетический механизм занимает главное место в процессах адаптации [7, 10]. Клеточный состав крови здорового человека довольно постоянен, следовательно, изменения морфофункциональных показателей периферической крови при адаптационных процессах организма имеют диагностическое значение.

Таблица 1. Показатели периферической крови у студентов первых и третьих курсов

Table 1. Peripheral blood indices in 1st and 3rd year students

Показатель	1 курс, n = 54	3 курс, n = 54
Количество эритроцитов, $\times 10^{12}/л$	$4,95 \pm 1,14$	$5,13 \pm 0,10$
Гематокрит, %	$42,34 \pm 1,33$	$43,63 \pm 0,64$
Концентрация гемоглобина, г/л	$149,12 \pm 5,09$	$160,65 \pm 1,71^*$
Объем эритроцита, фл	$84,92 \pm 0,91$	$85,06 \pm 0,67$
Содержание гемоглобина в эритроците, пг	$29,91 \pm 0,34$	$30,84 \pm 0,24^*$
Концентрация гемоглобина в эритроците, г/дл	$351,82 \pm 2,37$	$356,59 \pm 5,95$
Выраженность анизоцитоза, %	$14,74 \pm 0,23$	$13,20 \pm 0,21^{***}$
Количество тромбоцитов, $\times 10^9/л$	$226,12 \pm 15,42$	$210,65 \pm 11,05$
Объем тромбоцита, фл	$8,36 \pm 0,17$	$9,05 \pm 0,33$
Доля лимфоцитов, %	$30,64 \pm 1,94$	$34,80 \pm 1,88$
Доля гранулоцитов, %	$62,71 \pm 2,11$	$58,49 \pm 1,89$
Количество лейкоцитов, $\times 10^9/л$	$7,22 \pm 0,39$	$5,95 \pm 0,36^*$

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей студентов на первом курсе: * – при $p < 0,05$, *** – при $p < 0,001$.

Известно, что количество эритроцитов в периферической крови – достаточно жесткая биологическая константа, поэтому по незначительным изменениям этого параметра можно предположить о приспособительной деятельности организма, обеспечивающей его более адекватную адаптацию к условиям окружающей среды. Количество красных клеток крови может увеличиваться при так называемом стрессовом эритропоэзе, когда вызревание эритроцитов минует несколько этапов деления клеток системы эритрона для быстрого пополнения ими периферической крови, а также улучшения снабжения тканей кислородом в неблагоприятных условиях жизнедеятельности. Такая пролиферация может привести к истощению адаптивных систем, и тогда наряду с крупными клетками (макроцитами) появляются эритроциты меньшего диаметра, что приводит к увеличению анизоцитоза [8]; величина данного показателя достоверно снижена у студентов на третьем курсе (табл. 1), что, возможно, связано с адаптацией молодых людей к местному климату.

У студентов 3-го курса снижено количество тромбоцитов и увеличен средний объем тромбоцита в сравнении с данными параметрами на первом курсе обучения. Величина последнего показателя повышается в период активного производства тромбоцитов, а его уменьшение свидетельствует о возможном угнетении мегакариоцитарного ростка. Обнаружено статистически значимое уменьшение количества лейкоцитов у третьекурсников (см. табл. 1).

Эндокринной системе принадлежит важная роль в адаптации организма к различным факторам окружающей среды, секреторной активностью которой в любом возрасте во многом определяются его потенциальные возможности. Биологически активные вещества стимулируют активность

обменных процессов, усиливается адаптивный синтез белка, в первую очередь в тех системах, которые непосредственно задействованы в противостоянии внешнему фактору. Благодаря этому увеличивается функциональная мощность работающих клеточных структур, что указывает на переход от срочной к устойчивой, долговременной, неспецифической адаптации. Нами установлено, что у на третьем курсе у студентов произошло уменьшение содержания тестостерона по сравнению с первым курсом (табл. 2). Известно, что данный гормон является основным половым стероидом, обеспечивающим репродуктивную функцию в мужском организме и способствующим поддержанию адекватного ответа организма на стрессовые воздействия. В экспериментах на животных установлено, что тестостерон ингибирует гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальный ответ на стресс, тогда как эстрогены облегчают его [10]. Продолжительность действия стрессора – определяющий фактор для синтеза тестостерона. Показано, что продолжительные нагрузки увеличивают содержание кортизола при неизменном уровне лютеинизирующего гормона с одновременным снижением концентрации тестостерона у мужчин. Одним из возможных механизмов уменьшения содержания тестостерона, не связанным с секрецией гонадотропинов, считают сдвиг метаболизма в сторону катаболических процессов в результате гиперсекреции кортизола [11].

Многообразные эффекты действия тиреоидных гормонов в организме обусловлены наличием клеточных рецепторов к ним практически во всех органах и тканях. Трийодтиронин активирует транскрипцию и синтез ферментов, участвующих в важнейших метаболических реакциях организма, в том числе при стрессе; при его непосредственном и незаменимом участии происхо-

Таблица 2. Некоторые показатели гормонального статуса у студентов, обучающихся на разных курсах**Table 2.** Some indicators of hormonal status in students studying in different courses

Содержание гормона	1-й курс, n = 54	3-й курс, n = 54
Тиреотропный гормон, мМЕ/мл	1,26 ± 0,03	1,42 ± 0,05**
Трийодтиронин, нг/мл	1,64 ± 0,08	1,36 ± 0,04**
Кортизол, нг/мл	112,93 ± 1,22	110,3 ± 0,9
Тестостерон, мМЕ/л	5,94 ± 0,81	3,88 ± 0,45*

Примечание. Обозначены статистически значимые отклонения от величин соответствующих показателей студентов на первом курсе: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.

дят процессы пролиферации и дифференцировки клеток [12, 13]. Нами установлено достоверное увеличение содержания тиреотропного гормона, тестостерона и снижение концентрации трийодтиронина у студентов на третьем курсе.

С помощью опросника Басса – Дарки оценивали выраженность агрессии у студентов на разных курсах обучения. Картина распределения показателей была следующей. Показатель подозрительности у студентов на третьем курсе был незначительно выше, чем на первом. Индекс агрессивности у третьекурсников был достоверно больше, чем у первокурсников. Полученные нами данные дают основание полагать, что уровень агрессии и лабильность нервной системы демонстрируют разнонаправленное адаптивное поведение на разных курсах обучения. В отношении физической и косвенной агрессии статистически значимых различий не выявлено, показатели раздражения и вербальной агрессии были достоверно выше у студентов на первом курсе, чем на третьем (табл. 3).

Заключение

В результате проведенного исследования выявлена динамика психофизиологического портрета, некоторых гормональных особенностей, антропометрических данных и количественных, геометрических характеристик форменных элементов периферической крови в процессе адаптации к условиям обучения. Так, отмечено увеличение концентрации гемоглобина у студентов на третьем курсе, при этом анизоцитоз, отражающий гетерогенность популяции красных клеток, уменьшался к третьему курсу. Средний объем тромбоцитов достоверно увеличивался к третьему курсу, общее количество лейкоцитов снижалось. У третьекурсников возрастало содержание тиреотропного гормона, повышались

Таблица 3. Показатели выраженности агрессии по опроснику Басса – Дарки у студентов, обучающихся на разных курсах**Table 3.** Aggression status indicators based on the Bass–Darky questionnaire in students studying in different courses

Вид реакций	1-й курс, n = 54	3-й курс, n = 54
Физическая агрессия, баллы	3,44 ± 0,51	2,8 ± 0,43
Косвенная агрессия, баллы	4,69 ± 0,44	4,13 ± 0,47
Раздражение, баллы	6,0 ± 0,59	4,27 ± 0,36**
Негативизм, баллы	2,94 ± 0,36	1,73 ± 0,23**
Обида, баллы	4,63 ± 0,47	3,27 ± 0,32*
Подозрительность, баллы	6,31 ± 0,46	6,87 ± 0,47
Вербальная агрессия, баллы	7,38 ± 0,63	5,67 ± 0,45**
Чувство вины, баллы	6,19 ± 0,45	4,8 ± 0,43**
Индекс враждебности, баллы	10,13 ± 0,58	10,75 ± 0,8
Индекс агрессивности, баллы	16,88 ± 1,43	12,67 ± 0,55*

Примечание. Обозначены статистически значимые отклонения от величин соответствующих показателей студентов на 1 курсе: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.

индексы агрессивности, раздражения, вербальной агрессии.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о наличии широкого спектра адаптивных возможностей: от состояния «критического напряжения» до стабильной адаптивной реакции у студентов, в зависимости от возраста. Это подтверждают исследуемые «маркеры» адаптации, указывающие на разнонаправленные реакции на разных курсах обучения, которые могут служить объективными критериями для формирования групп наблюдения в целях проведения профилактической деятельности. Своевременное выявление критериев нарушения морфофункционального статуса с учетом адаптации на разных курсах обучения позволит предотвратить негативные проявления стрессовых ситуаций, будет способствовать сохранению психического и соматического здоровья.

Список литературы / References

1. Чижкова М.Б. Динамика адаптации студентов-первокурсников к образовательной среде медицинского вуза: к постановке проблемы. *Вестн. Кемер. ГУ.* 2019;21(4):1039–1049. doi: 10.21603/2078-8975-2019-21-4-1039-1049

Chizhkova M.B. Adaptation dynamics of the first-year students to the educational environment of the

- medical university. *Vestnik Kemerovskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Kemerovo State University*. 2019;21(4):1039–1049. [In Russian]. doi: 10.21603/2078-8975-2019-21-4-1039-1049
2. Резник С.Д., Черниковская М.В. Студенты России: жизненные приоритеты и социальная устойчивость. М.: ИНФРА-М, 2019. 242 с. doi: 10.12737/monography_5c0a17c3a354f0.90572513
- Reznik S.D., Chernikovskaya M.V. Russian students: life priorities and social sustainability. Moscow: INFRA-M, 2019. 242 p. [In Russian]. doi: 10.12737/monography_5c0a17c3a354f0.90572513
3. Луков В.А., Луков С.В. Адаптация к учебе в вузе отдельных проблемных групп первокурсников: эмпирические данные и теоретические выводы. *Горизонты гуманитарного знания*. 2017;(5):86–95. doi: 10.17805/ggz.2017.5.7
- Lukov V.A., Lukov S.V. Adaptation to education of individual problem groups of freshmen: empirical data and theoretical results. *Gorizonty humanitarnogo znaniya = Horizons of Humanitarian Knowledge*. 2017;(5):86–95. [In Russian]. doi: 10.17805/ggz.2017.5.7
4. Motzer S.A., Hertig V. Stress, stress response, and health. *Nurs. Clin. North. Am.* 2004;39(1):1–17. doi: 10.1016/j.cnur.2003.11.001
5. Трошина Е.А., Сеньюшкина Е.С. Прямые и опосредованные эффекты трийодтиронина. *Арх. внутр. мед.* 2020;10(4):262–271. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-4-262-271
- Troshina E.A., Senyushkina E.S. Metabolic systemic effects triiodothyronine. *Arkhiv vnutrnney meditsiny = Archive of Internal Medicine*. 2020;10(4):262–271. [In Russian]. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-4-262-271
6. Leigh E., Chiu K., Clark D.M. Self-focused attention and safety behaviours maintain social anxiety in adolescents: An experimental study. *PLoS One*. 2021;16(2):e0247703. doi: 10.1371/journal.pone.0247703
7. Anfinogenova O.I., Lisova I.M., Elkanova A.B., Kubanov S.I., Anfinogenov V.A., Domenyuk D.A. The peculiarities of some indices of peripheral blood of foreign students. *Archiv EuroMedica*. 2019;9(1):20–25. doi: 10.35630/2199-885X/2019/9/1/20
8. Бердина О.Н., Шолохов Л.Ф., Рычкова Л.В., Мадаева И.М. Отличительные особенности гормонального статуса у мальчиков-подростков с эссенциальной артериальной гипертензией и синдромом обструктивного апноэ сна. *Acta Biomed. Sci.* 2017;2(4):53–57. doi: 10.12737/article_59fad5149bcb24.36563455
- Berdina O.N., Sholokhov L.F., Rychkova L.V., Madaeva I.M. Distinctive features of hormonal status in male adolescents with essential hypertension and obstructive sleep apnea. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017;2(4):53–57. [In Russian]. doi: 10.12737/article_59fad5149bcb24.36563455
9. Onaka T. Neural pathways controlling central and peripheral oxytocin release during stress. *Neuroendocrinology*. 2004;16(4):308–312. doi: 10.1111/j.0953-8194.2004.01186.x
10. Labombarda F., Ghomari A.M., Liere P., de Nicola A.F., Schumacher M., Guennoun R. Neuroprotection by steroids after neurotrauma in organotypic spinal cord cultures: a key role for progesterone receptors and steroidal modulators of GABA(A) receptors. *Neuropharmacology*. 2013;71:46–55. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.03.010
11. Saicić Z.S., Mijalković D.N., Nikolić A.L., Blagojević D.P., Spasić M.B. Effect of thyroxine on antioxidant defense system in the liver of different aged rats. *Physiol. Res.* 2006;55(5):561–568. doi: 10.33549/physiolres.930789
12. Faure R., Dussault J.H. Effects of adenosine triphosphate and alkaline phosphatase on solubilized 3,5,3'-triiodothyronine-binding activity. *J. Neuroendocrinology*. 1988;123(3):1245–1252. doi: 10.1210/endo-123-3-1245
13. Daza F.J., Parrilla R., Martín-Requero A. Influence of thyroid status on hepatic alpha 1-adrenoreceptor responsiveness. *Am. J. Physiol.* 1997;273(6):1065–1072. doi: 10.1152/ajpendo.1997.273.6.E1065

Сведения об авторах:

Анфиногенова Оксана Ивановна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-6629-5647, e-mail: okstav@mail.ru
 Дип Гала, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0399-3680, e-mail: hala197944@gmail.com
 Доменюк Дмитрий Анатольевич, д.м.н., ORCID: 0000-0003-4022-5020, e-mail: domeniyukda@mail.ru
 Ивченко Глеб Сергеевич, к.м.н., ORCID: 0000-0002-8012-282X, e-mail: ivchenko1980@mail.ru
 Ржепаковский Игорь Владимирович, к.б.н., ORCID: 0000-0002-2632-8923, e-mail: 78igorr@mail.ru

Information about the authors:

Oksana I. Anfinogenova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-6629-5647, e-mail: s-stavros@mail.ru
 Hala Deep, MD, ORCID: 0000-0002-0399-3680, e-mail: hala197944@gmail.com
 Dmitry A. Domenyuk, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4022-5020, e-mail: domeniyukda@mail.ru
 Gleb S. Ivchenko, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8012-282X, e-mail: ivchenko1980@mail.ru
 Igor V. Rzhepakovsky, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-2632-8923, e-mail: 78igorr@mail.ru

Поступила в редакцию 20.05.2023
 После доработки 15.08.2023
 После повторной доработки 07.11.2023
 Принята к публикации 07.11.2023

Received 20.05.2023
 Revision received 15.08.2023
 Second revision received 07.11.2023
 Accepted 07.11.2023

Сравнительный анализ линейных размеров яичника, определенных с помощью сонографии, в возрастном аспекте

А.А. Баландин, А.С. Кобелева, И.А. Баландина

*Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера
414099, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26*

Резюме

Цель исследования – провести сравнительный анализ линейных размеров правого и левого яичников, определенных с помощью УЗИ у женщин в юношеском, пожилом и старческом возрасте. **Материал и методы.** В основу работы положены результаты УЗИ 84 женщин с нормальными размерами таза, проходивших обследование в отделении гинекологии ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница» в период с 2021 по 2022 г. по показаниям для исключения вероятной патологии репродуктивной системы. Выполняли измерение продольного (длины), поперечного (ширины) и переднезаднего (толщины) размеров яичника с помощью трансвагинального доступа. Обследуемых разделили на три группы: первая включала 28 лиц юношеского возраста (16–20 лет), вторая – 29 лиц пожилого возраста (56–74 лет), третья – 27 лиц старческого возраста (75–85 лет). **Результаты.** Выявлено статистически достоверное уменьшение показателей размеров яичников к старческому возрасту. Длина правого яичника от юношеского возраста к старческому уменьшается на 20,56 % ($p < 0,01$), левого – на 28,62 % ($p < 0,01$). Ширина правого яичника становится меньше к пожилому возрасту на 20,87 % ($p < 0,01$), к старческому – на 26 % ($p < 0,01$), левого – соответственно на 20,8 % ($p < 0,01$) и на 28,32 % ($p < 0,01$), переднезадний размер правого яичника – на 23,2 % ($p < 0,01$) и на 38,8 % ($p < 0,01$), левого – на 31,19 % ($p < 0,01$) и на 39 % ($p < 0,01$). **Заключение.** Полученные результаты позволяют расширить представление об особенностях возрастного строения яичников и в дальнейшем продолжить их детальное изучение, поскольку новые знания необходимы для разработки современных методик профилактики патологии органов репродуктивной системы женщин и своевременного оказания качественной медицинской помощи.

Ключевые слова: яичник, возраст, морфометрия, УЗИ.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Баландина И.А., e-mail: balandina_ia@mail.ru

Для цитирования: Баландин А.А., Кобелева А.С., Баландина И.А. Сравнительный анализ линейных размеров яичника, определенных с помощью сонографии, в возрастном аспекте. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):84–89. doi: 10.18699/SSMJ20230610

Comparative analysis of the linear dimensions of the ovary, determined using sonography, in an age aspect

A.A. Balandin, A.S. Kobeleva, I.A. Balandina

*Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner
614990, Perm, Petropavlovskaya st., 26*

Abstract

Aim of the study was to carry out a comparative analysis of the linear size of the right and left ovaries, determined using sonography in women in adolescence, the elderly, and old age. **Material and methods.** The study was based on the results of ultrasound examination of 84 women with normal pelvic dimensions who were examined at the gynecology department of the Perm Krai Clinical Hospital during the period 2021–2022 in order to exclude probable pathology of the reproductive system. Measurement of longitudinal (length), transverse (width), and anteroposterior (thickness) dimensions of the ovary was performed using transvaginal access. Women were divided into three groups: the first consisted of 28 adolescents (16 to 20 years old), the second – 29 elderly persons (56 to 74 years old), the third – 27 seniors (75 to 85 years old). **Results.** When comparing the indicators of ovarian size, their statistically significant decrease by old age was revealed. Right ovary length from adolescence to the old age decreased by 20.56 % ($p < 0.01$),

left – by 28.62 % ($p < 0.01$). Right ovarian width becomes smaller by 20.87 % ($p < 0.01$) in elderly age and by 26 % ($p < 0.01$) in senile age, left – by 20.8 % ($p < 0.01$) and by 28.32 % ($p < 0.01$), respectively, the anteroposterior dimension of the right ovary – by 23.2 % ($p < 0.01$) and by 38.8 % ($p < 0.01$), of the left ovary – by 31.19 % ($p < 0.01$) and by 39 % ($p < 0.01$), respectively. **Conclusions.** The results obtained allow us to expand our understanding of the features of the age-related structure of the ovaries and further continue their detailed study, since new knowledge is needed to develop modern methods for the prevention of pathology of the female reproductive system and the timely provision of quality medical care.

Key words: ovary, age, morphometry, ultrasonography.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Balandina I.A., e-mail: balandina_ia@mail.ru

Citation: Balandin A.A., Kobeleva A.S., Balandina I.A. Comparative analysis of the linear dimensions of the ovary, determined using sonography, in an age aspect. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):84–89. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230610

Введение

Старение – это, на первый взгляд, вполне заурядное биологическое явление, однако его сущность крайне трудно определить. По сути, под «старением» понимается термин, используемый для описания базового набора усложнений для поддержания гомеостаза тканей организма с увеличением его хронологического возраста. Этот период начинается после наступления половой зрелости и характеризуется повышением восприимчивости к различным заболеваниям, а также снижением способности выполнять повседневные задачи. Современная научная тенденция заключается в рассмотрении старения населения как серьезного фактора, влияющего на структуру социальной, экономической сферы и систему здравоохранения. Такая ситуация диктует необходимость учета особенностей пациентов пожилого и старческого возраста при оказании квалифицированной помощи в сфере гериатрии [1–4]. При этом, по современным данным статистики, численное преимущество среди граждан пожилого возраста приходится именно на женщин, являющихся достаточно сложной группой пациентов для врачей различных специальностей [5–7].

Если остановиться на возрастно-половых особенностях организма женщины, ни в коем случае нельзя игнорировать этап постменопаузы – важнейший временной период ее физиологической перестройки, который состоит из целой системы эндокринных, вегетативно-сосудистых и психосоматических процессов, возникающих на фоне запрограммированного снижения функций яичников и запускающих общую возрастную инволюцию всего организма [8–10]. Именно по этой причине предметом нашего исследования стала наиболее важная и сложная структура женской репродуктивной системы – яичники. Яичник – это парная половая железа, прошедшая длинный и сложный эволюционный путь и выполняющая стратегическую функцию в организме женщины:

в данном органе протекают процессы оогенеза и синтез большого количества половых гормонов [11, 12]. Тем удивительнее, что в современной научной литературе отсутствуют анатомо-морфологические исследования возрастных изменений яичника с использованием прижизненных методик визуализации и созданием условной «анатомической нормы», характерной для определенного возрастного периода жизни женщины. Как правило, исследования посвящены исключительно патологическим состояниям железы [13–15].

Так как на данный момент опубликованных работ на тему физиологического старения органов женской половой системы немного, то именно этот вопрос лег в основу нашего исследования, цель которого заключалась в сравнительном анализе линейных размеров правого и левого яичников, определенных с помощью УЗИ у женщин в юношеском, пожилом и старческом возрасте.

Материал и методы

В основу работы положены результаты УЗИ 84 женщин, которые проходили обследование в ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница» в период с 2021 по 2022 г. Все женщины дали согласие на исследование, которое проводилось только по показаниям для исключения вероятной патологии репродуктивной системы. УЗИ выполняли на аппарате GE Voluson E10 (General Electric, США) нативно с помощью внутриполостного объемного конвексного датчика RAB2-5-D. Исследование заключалось в измерении длины, ширины и переднезаднего размера яичников с помощью трансвагинального доступа по стандартным протоколам. Выборку составили женщины с нормальными размерами таза, без патологии органов репродуктивной системы, имеющие в анамнезе не более двух беременностей, после последней из которых прошло более одного года. У девушек УЗИ было выполнено в первой половине гормонального цикла. обследо-

емых разделили на три группы: первая включала 28 лиц юношеского возраста (16–20 лет), вторая – 29 лиц пожилого возраста (56–74 лет), третья – 27 лиц старческого возраста (75–85 лет).

Для проверки на нормальность распределения вариационных рядов использовался критерий Колмогорова – Смирнова. Результаты представили в виде значений средней арифметической величины (M) и стандартной ошибки (m), максимального (Max) и минимального значения (Min), среднеквадратичного отклонения (σ), вариационного коэффициента (Cv), медианы (Me). Параметрический t -критерий Стьюдента использовали для проверки равенства средних значений в двух выборках. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Данные о линейных размерах яичников представлены в таблице. При их сравнении получили следующие результаты. Длина правого яичника от юношеского возраста к старческому уменьшается на 20,56 % ($p < 0,01$), левого – на 28,62 % ($p < 0,01$). Ширина правого яичника становится меньше к пожилому возрасту на 20,87 % ($p < 0,01$), к старческому – на 26 % ($p < 0,01$), левого – соответственно на 20,8 % ($p < 0,01$) и на 28,32 % ($p < 0,01$), переднезадний размер правого яичника – на 23,2 % ($p < 0,01$) и на 38,8 % ($p < 0,01$), левого – на 31,19 % ($p < 0,01$) и на 39 % ($p < 0,01$) (см. таблицу).

В каждом исследуемом возрастном периоде видна тенденция к анатомической асимметрии яичников с преобладанием параметров справа ($p > 0,05$). Во-первых, это можно объяснить тем, что ученые выделяют определенную функциональную особенность внутренних органов, которая обуславливается генетически определенными процессами, проходящими на молекулярном уровне в тканях парных органов. Во-вторых, «внутреннюю геометрию» организма формирует интеграция асимметрии мозга в работу внутренних органов [16–19]. В-третьих, данная картина находит свой отклик в работах, посвященных изучению морфологии других парных органов женской репродуктивной системы, где также выявлена анатомическая асимметрия [20].

Выделяют несколько ключевых звеньев патогенеза уменьшения размеров яичников. Первое, и, пожалуй, наиболее важное – это возрастные нейродегенеративные изменения ткани головного мозга. Яичники являются гормонозависимыми органами, на которые влияют тропные гормоны гипоталамо-гипофизарной системы. Соответственно, когда в «стареющем» гипоталамусе, как и во всем головном мозге, происходят процессы

Длина, ширина и переднезадний размер яичников у женщин в исследуемых возрастных периодах по данным УЗИ, $n = 84$
Ovarian length, width and anteroposterior ovary size in women in the studied age periods according to ultrasound examination, $n = 84$

Возрастной период	Правый яичник					Левый яичник						
	$M \pm m$	Max	Min	σ	Cv	Me	$M \pm m$	Max	Min	σ	Cv	Me
Длина яичника, мм												
Юношеский возраст ($n = 28$)	$28,73 \pm 0,93$	37,7	20,6	4,90	0,84	28,7	$28,20 \pm 0,92$	36,4	20,1	4,85	0,84	26,9
Пожилой возраст ($n = 29$)	$26,86 \pm 0,80$	35,9	19,8	4,32	0,70	26,8	$26,74 \pm 0,93$	35,5	19,0	5,00	0,93	26,7
Старческий возраст ($n = 27$)	$22,87 \pm 0,77$	31,2	16,3	4,03	0,71	22,8	$19,27 \pm 1,07$	30,1	10,1	5,57	1,61	19,2
Ширина яичника, мм												
Юношеский возраст ($n = 28$)	$23,13 \pm 0,64$	28,8	17,6	3,38	0,50	23,0	$22,61 \pm 0,61$	28,3	17,2	3,25	0,47	22,6
Пожилой возраст ($n = 29$)	$18,24 \pm 0,32$	22,1	15,4	1,75	0,17	18,2	$17,94 \pm 0,33$	22,0	15,1	1,76	0,17	17,9
Старческий возраст ($n = 27$)	$16,98 \pm 0,24$	19,8	15,0	1,23	0,09	17,0	$16,19 \pm 0,24$	19,2	14,2	1,25	0,10	16,2
Переднезадний размер яичника, мм												
Юношеский возраст ($n = 28$)	$20,15 \pm 0,35$	23,4	17,1	1,83	0,17	20,1	$20,01 \pm 0,36$	23,4	17,0	1,92	0,18	20,0
Пожилой возраст ($n = 29$)	$15,49 \pm 0,62$	20,8	9,9	3,33	0,72	15,5	$13,77 \pm 0,49$	20,0	9,5	2,66	0,51	13,7
Старческий возраст ($n = 27$)	$12,31 \pm 0,60$	17,8	7,1	3,14	0,80	12,3	$12,23 \pm 0,46$	17,0	8,3	2,40	0,47	12,2

перестройки нейронных сетей и запуск астроглиоза, это не может не отразиться на чувствительности к гормонам эстрогенового ряда и качестве синтеза собственного гормона – гонадолиберина. Как следствие, это приводит к уменьшению выработки гормонов яичниками, провоцируя далее процесс угасания функций фолликул [21–25].

Второе важнейшее звено напрямую зависит от первого и является запуском «старения» внутри тканей яичника. Эстроген – мощный вазодилататор, причем максимально эффективно он работает в микроциркуляторном русле именно репродуктивной системы [26]. При снижении его концентрации не только ухудшается качество трофики яичников, но и начинается возрастная перестройка самого сосудистого русла. Мышечная оболочка артериол заменяется соединительной тканью, постепенно истончаясь. В конечном итоге вместо мышечного слоя остаются лишь эластические волокна, что также негативно влияет на гемодинамические процессы и гомеостаз в ткани яичников [24–27].

Выводы

При сравнении показателей размеров яичников выявлено их статистически значимое уменьшение к старческому возрасту. В каждом исследуемом возрастном периоде установлена тенденция к анатомической асимметрии яичников с преобладанием параметров справа ($p > 0,05$). Результаты данного прижизненного сравнительного анализа линейных размеров яичников у женщин в юношеском, пожилом и старческом возрасте позволяют расширить представление об особенностях их возрастного строения и в дальнейшем продолжить детальное изучение, поскольку новые знания необходимы для разработки современных методик профилактики патологии органов репродуктивной системы женщины и своевременного оказания качественной медицинской помощи.

Список литературы / References

1. Зорина Е.Н. Старение населения и уровень жизни населения третьего возраста. *Вестник Института экономических исследований*. 2017; 4(8): 102–108.
Zorina E.N. Population aging and the standard of living of the third age population. *Vestnik Instituta ekonomicheskikh issledovaniy = Bulletin of the Institute of Economic Research*. 2017; 4(8): 102–108. [In Russian].
2. Кузин С.И. Старение населения: социально-экономический аспект. *Вестник университета*. 2018;(3):137–143. doi: 10.26425/1816-4277-2018-3-137-143
Kuzin S.I. Population aging: the socio-economic aspect. *Vestnik universiteta = University Bulletin*.

2018;(3):137–143. [In Russian]. doi: 10.26425/1816-4277-2018-3-137-143

3. Cheng X., Yang Y., Schwebel D.C., Liu Z., Li L., Cheng P., Ning P., Hu G. Population ageing and mortality during 1990–2017: A global decomposition analysis. *PLoS Med.* 2020;17(6):e1003138. doi: 10.1371/journal.pmed.1003138

4. Melzer D., Pilling L.C., Ferrucci L. The genetics of human ageing. *Nat. Rev. Genet.* 2020;21(2):88–101. doi: 10.1038/s41576-019-0183-6

5. Woods N.F., Rillamas-Sun E., Cochrane B.B., la Croix A.Z., Seeman T.E., Tindle H.A., Zaslavsky O., Bird C.E., Johnson K.C., Manson J.E., ... Wallace R.B. Aging Well: observations from the Women's Health Initiative Study. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2016;71(Suppl 1):S3–S12. doi: 10.1093/gerona/glv054

6. Jasienska G. Costs of reproduction and ageing in the human female. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2020;375(1811):20190615. doi: 10.1098/rstb.2019.0615

7. Габитова М.А., Крупенин П.М., Соколова А.А., Напалков Д.А., Фомин В.В. «Хрупкость» у пациентов старческого возраста с фибрилляцией предсердий как предиктор геморрагических осложнений на фоне лечения прямыми пероральными антикоагулянтами. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019;39(6):70–76. doi: 10.15372/SSMJ20190609

Gabitova M.A., Krupenin P.M., Sokolova A.A., Napalkov D.A., Fomin V.V. «Fragility» as a predictor of bleedings in elderly patients with atrial fibrillation taking direct oral anticoagulants. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(6):70–76. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190609

8. Гаспарян С.А., Василенко И.А., Папикова К.А., Дросова Л.Д. Менопауза: вверх по лестнице, ведущей вниз. *Мед. сов.* 2020;(13):76–83. doi: 10.21518/2079-701X-2020-13-76-83

Gasparyan S.A., Vasilenko I.A., Papikova K.A., Drosova L.D. Menopause: up the stairs leading down. *Meditinskiy sovet = Medical Council*. 2020;(13):76–83. [In Russian]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-13-76-83

9. Correr S., Makabe S., Heyn R., Relucenti M., Naguro T., Familiari G. Microplacae-like structures of the fallopian tube in postmenopausal women as shown by electron microscopy. *Histol. Histopathol.* 2006;21(3):219–226. doi: 10.14670/HH-21.219

10. Sorpreso I.C., Soares Júnior J.M., Fonseca A.M., Baracat E.C. Female aging. *Rev. Assoc. Med. Bras. (1992)*. 2015;61(6):553–556. doi: 10.1590/1806-9282.61.06.553

11. Li S., Bhandary B., Gu X., DeFalco T. Perivascular cells support folliculogenesis in the developing ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2022;119(41):e2213026119. doi: 10.1073/pnas.2213026119

12. Nicol B., Estermann M.A., Yao H.H., Mel-louk N. Becoming female: Ovarian differentiation from

an evolutionary perspective. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022;10:944776. doi: 10.3389/fcell.2022.944776

13. Садуакасова Ш.М., Абикулова А.К., Хон А.Д., Сарниязова К.С., Тельманова С.Д., Белова О.В., Вазирова З.С. Состояние функции яичников у пациенток, оперированных с эндометриозом яичников. *Фармация Казахстана*. 2021;(4):39–42.

Saduakasova Sh.M., Abikulova A.K., Khon A.D., Sarniyazova K.S., Tel'manova S.D., Belova O.V., Vazirova Z.S. Features of function of patients with ovarian endometriosis. *Farmatsiya Kazakhstan = Pharmacy of Kazakhstan*. 2021;(4):39–42. [In Russian].

14. Zhu R.Y., Wong Y.C., Yong E.L. Sonographic evaluation of polycystic ovaries. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2016;37:25–37. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.02.005

15. Irgasheva S.U., Sadirova S.S. Ovarian function in different phenotypes of polycystic ovarysyndrome in women of reproductive age. *New Day in Medicine*. 2022; 8(46):39–43.

16. Баландин А.А., Железнов Л.М., Баландина И.А. Сравнительная характеристика параметров таламусов человека в первом периоде зрелого возраста и в старческом возрасте у мезоцефалов. *Сиб. науч. мед. ж.* 2021;41(2):101–105. doi: 10.18699/SSMJ20210214

Balandin A.A., Zheleznov L.M., Balandina I.A. Comparative characteristics of human thalamus parameters in the first period of mature age and in senile age in mesocephals. *Sibirskiy nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021;41(2):101–105 [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210214

17. Катерлина И.Р., Изранов В.А., Соловьева И.Г., Рымар О.Д., Насонова Н.В., Абрамов В.В. Межполушарная асимметрия головного мозга и морфологическая асимметрия щитовидной железы. *Вестн. НГУ. Сер. Биол., клин. мед.* 2010;8(1):129–132.

Katerlina I.R., Izranov V.A., Solovieva I.G., Ry-mar O.D., Nasonova N.V., Abramov V.V. Functional asymmetry of brain hemispheres and morphological asymmetry of thyroid gland. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina = Journal of the Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine*. 2010;8(1):129–132. [In Russian].

18. Hamada H. Molecular and cellular basis of left-right asymmetry in vertebrates. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sciences*. 2020;96(7):273–296. doi: 10.2183/pjab.96.021

19. Hou M., Fagan M.J. Assessments of bilateral asymmetry with application in human skull analysis. *PLoS One*. 2021;16(10):e0258146. doi: 10.1371/journal.pone.0258146

20. Баландин А.А., Железнов Л.М., Баландина И.А. Сравнительная иммуногистохимическая характеристика глиоархитектоники таламуса человека молодого и старческого возраста. *Ж. анатомии и гистопатол.* 2021;10(4):14–18. doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-4-14-18

Balandin A.A., Zheleznov L.M., Balandina I.A. Comparative immunohistochemical characteristics of thalamic glioarchitectonics of young and senile persons. *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology*. 2021;10(4):14–18. [In Russian]. doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-4-14-18

21. Баландина И.А., Некрасова А.М., Баландин А.А. Морфологические различия ампулы маточной трубы в молодом и старческом возрасте. *Успехи геронтол.* 2021;34(6):857–862. doi: 10.34922/AE.2021.34.6.006

Balandina I.A., Nekrasova A.M., Balandin A.A. Morphological differences of the fallopian tube ampoule in young and old age. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2021;34(6):857–862. [In Russian]. doi: 10.34922/AE.2021.34.6.006

22. Jorgensen C., Wang Z. Hormonal regulation of mammalian adult neurogenesis: a multifaceted mechanism. *Biomolecules*. 2020;10(8):1151. doi: 10.3390/biom10081151

23. Николенко В.Н., Оганесян М.В., Ризаева Н.А., Геворгян М.М. Морфология стромы и сосудов яичников при овариальном резерве, в климактерическом и постклимактерическом периодах. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2020;18(4):94–98.

Nikolenko V.N., Oganessian M.V., Rizaeva N.A., Gevorgyan M.M. Morphology of the stroma and ovarian vessels in ovarian reserve, in the climacteric and postmenopausal periods. *Morfologicheskii al'manakh imeni V.G. Koveshnikova = Morphological Almanac Named after V.G. Koveshnikov*. 2020;18(4):94–98 [In Russian].

24. Морозова Е.А., Линькова Н.С., Полякова В.О., Кветной И.М. Яичники: онтогенез и старение. *Успехи геронтол.* 2011;24(3):393–396.

Morozova E.A., Linkova N.S., Polyakova V.O., Kvetnoy I.M. The ovary: ontogenesis and aging. *Adv. Gerontol.* 2012;2:130–133. doi: 10.1134/S2079057012020117

25. Brodowska A., Brodowski J., Laszczyńska M., Śluczanska-Głabowska S., Rumianowski B., Rotter I., Starczewski A., Ratajczak M.Z. Immunoeexpression of aromatase cytochrome P450 and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in women's ovaries after menopause. *J. Ovarian. Res.* 2014;7:52. doi: 10.1186/1757-2215-7-52

26. Кузнецова И.В. Недостаточность овариальной функции в различные возрастные периоды и методы ее негормональной коррекции. *Акушерство и гинекол.* 2013;(1):94–100.

Kuznetsova I.V. Ovarian function incompetence in different ages and methods of its nohormonal correction. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*. 2013;(1):94–100. [In Russian].

27. Bai J., Qi Q.R., Li Y., Day R., Makhoul J., Magness R.R., Chen D.B. Estrogen receptors and estrogen-induced uterine vasodilation in pregnancy. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(12):4349. doi: 10.3390/ijms21124349

Сведения об авторах:

Баландин Анатолий Александрович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-3152-8380, e-mail: balandinnauka@mail.ru

Кобелева Анна Сергеевна, ORCID: 0009-0003-1741-1316, e-mail: a.s.kobelevaa@gmail.com

Баландина Ирина Анатольевна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-4856-9066, e-mail: balandina_ia@mail.ru

Information about the authors:

Anatolii A. Balandin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3152-8380, e-mail: balandinnauka@mail.ru

Anna S. Kobeleva, ORCID: 0009-0003-1741-1316, e-mail: a.s.kobelevaa@gmail.com

Irina A. Balandina, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-4856-9066, e-mail: balandina_ia@mail.ru

Поступила в редакцию 09.06.2023

После доработки 08.09. 2023

Принята к публикации 17.10.2023

Received 09.06.2023

Revision received 08.09. 2023

Accepted 17.10.2023

Определение критериев качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус Rh₀(D)

Е.Н. Калинина, Н.С. Вильданова, Е.С. Кормщикова, А.В. Йовдий, М.В. Смольникова

Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

Резюме

Контроль качества лекарственных средств – неотъемлемая часть технологического цикла, обязательная для выпуска продукции в гражданский оборот. Как в России, так и за рубежом при выполнении лабораторного тестирования препаратов предписано использовать референсные материалы – аттестованные стандартные образцы. В настоящее время для российской фарминдустрии актуально обеспечение методик оценки специфической активности антирезусного иммуноглобулина человека отечественным стандартным образцом. Его производство невозможно без изготовления стабилизированного концентрата анти-D-антител и проверки пригодности каждой партии к реализации. Для этого необходимо установить спецификационные требования и разработать нормативную документацию. Цель исследования – определить критерии качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус Rh₀(D). **Материал и методы.** Проанализированы отечественная и зарубежная нормативные базы в области контроля качества препаратов крови, изготовления и применения биологических эталонов лекарственных средств. Получены три серии лиофилизированного концентрата антител антирезус Rh₀(D) и проведено лабораторно-экспериментальное изучение их свойств. **Результаты и их обсуждение.** По итогам проделанной работы утверждены технические условия, включающие в себя перечень потребительских характеристик, описание методик их оценки и соответствующие нормы. **Заключение.** Установленные требования могут стать основой для выпускающего контроля качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус Rh₀(D) при его серийном производстве.

Ключевые слова: иммуноглобулин человека антирезус Rh₀(D), специфическая активность, антитела антирезус Rh₀(D), стандартный образец.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Калинина Е.Н., e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Для цитирования: Калинина Е.Н., Вильданова Н.С., Кормщикова Е.С., Йовдий А.В., Смольникова М.В. Определение критериев качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус Rh₀(D). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):90–100. doi: 10.18699/SSMJ20230611

Determination of quality criteria for candidate standard for anti-D immunoglobulin

E.N. Kalinina, N.S. Vildanova, E.S. Kormshchikova, A.V. Yovdiy, M.V. Smolnikova

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA of Russia
610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya st., 72

Abstract

Quality control of medicines is an integral part of the technological cycle, obligatory for the release of products into public distribution. Both in Russia and abroad, when carrying out laboratory testing of the preparations, it is prescribed to use the reference materials – the certified standard samples. Currently, it is important for the Russian pharmaceutical industry to provide the methods for evaluating the specific activity of human anti-D immunoglobulin with a national standard sample. Its production is impossible without the production of stabilized concentrate of anti-D antibodies and verifying the suitability of each batch for sale. This requires the establishment of specification requirements and the development of regulatory documentation. Aim is to define the quality criteria for candidate standard for anti-D immunoglobulin. **Material and methods.** The national and foreign normative bases in the field of quality control of blood products, manufacturing and application of biological standards of medicines were analyzed. Three series of

lyophilized concentrate of anti-D antibodies were obtained and a laboratory-experimental study of their properties was carried out. **Results and discussion.** As a result of the work done, technical specifications were approved, including a list of consumer characteristics, a description of the methods for their assessment and relevant norms. **Conclusions.** The established requirements can become the basis for the releasing quality control of the candidate standard for anti-D immunoglobulin during its serial production.

Key words: human anti-D immunoglobulin, specific activity, anti-D antibodies, standard sample.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Kalinina E.N., e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Citation: Kalinina E.N., Vildanova N.S., Kormshchikova E.S., Yovdiy A.V., Smolnikova M.V. Determination of quality criteria for candidate standard for anti-D immunoglobulin. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):90–100. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230611

Введение

В современных реалиях стимулирование развития российской фармацевтической промышленности – ключевая составляющая отраслевого планирования, направленная на создание инфраструктурных и технологических условий для осуществления такого рода деятельности, включая обеспечение действующих и строящихся предприятий доступным сырьем. Сегодня этому уделяется особое внимание на государственном уровне. Распоряжением Правительства Российской Федерации от 09.02.2023 № 291-р перед Федеральным медико-биологическим агентством, курирующим отечественную службу крови, поставлена задача увеличения заготовки донорской плазмы для производства лекарственных препаратов, в том числе иммуноглобулинов человека. Их выпуск в достаточном объеме является важнейшим фактором оперативного и полноценного снабжения медикаментами российских лечебных учреждений, что способствует повышению качества оказания медицинской помощи. Кроме того, расширение присутствия отечественных производителей на фармацевтическом рынке позволит решить проблему зависимости российского здравоохранения от импорта лекарственных средств из-за рубежа [1].

Одним из наиболее востребованных препаратов крови специального назначения является иммуноглобулин человека антирезус Rh₀(D). Он считается незаменимым средством профилактики иммунизации беременных женщин с отрицательным резус-фактором, гемолитической болезни новорожденных и перинатальной смертности [2–8]. Антирезусный иммуноглобулин также может использоваться при лечении пациентов с первичной тромбоцитопенией [9–11].

Безопасность и эффективность терапии зависит от качества лекарственного препарата. В настоящее время как отечественным, так и зарубежным фармпроизводителям предписано осуществлять оценку соответствия готовой продукции спецификационным нормам [12–16].

Фармакологическое действие иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) обусловлено его специфической активностью, которая количественно выражается содержанием анти-D-антител [2, 3, 8, 17]. Эта характеристика подлежит обязательной проверке при выпуске препарата и на этапе государственной экспертизы [18–20].

Основополагающий принцип лабораторного тестирования – обеспечение точности и метрологической прослеживаемости получаемых данных. С целью повышения достоверности и воспроизводимости результатов контроля качества лекарственных средств ВОЗ, Международным советом по гармонизации технических требований к фармацевтическим препаратам для медицинского применения (International Council for Harmonization – ICH), Международной организацией по стандартизации (International Organization for Standardization – ISO), Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии, Государственной Фармакопеей Российской Федерации регламентировано использование аттестованных стандартных образцов (СО) в качестве референсных материалов [21–26]. В 2020 г. в нашей стране создана метрологическая служба, регулирующая разработку СО и снабжение ими производителей лекарственных средств [27].

В настоящее время в реестр фармакопейных стандартных образцов (ФСО), действующий на базе ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, включен ФСО 3.2.00452 «Стандартный образец активности иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) (содержание анти-D-антител IgG)». Но на сегодняшний день существует потребность в восполнении его запаса. Для этого необходимо наладить выпуск кандидата в СО (стабилизированного концентрата анти-D-антител), который после метрологической аттестации может использоваться как референсный материал. Национальным Институтом Биологических Стандартов и Контроля Великобритании (National Institute for Biological

Standards and Control – NIBSC) выпускается международный стандартный образец (МСО) анти-D иммуноглобулина человека [21, 28, 29]. Однако его ввоз в нашу страну ограничен трудностями логистики, связанными с необходимостью транспортировки при отрицательных температурах в авторефрижераторах, преодоления больших расстояний и пересечения государственных границ. Это привело к тому, что в Российской Федерации МСО практически недоступен для заказа и имеет чрезвычайно длительные сроки поставки и, как следствие, высокую стоимость. Кроме того, его аттестуемая характеристика приводится без указания статистической неопределенности, что не соответствует российским требованиям к разработке биологических эталонов лекарственных средств [22, 29–33].

Таким образом, перед отечественной фармацевтикой остро встал вопрос об импортозамещении и организации внутреннего производства СО содержания антител антирезус $Rh_0(D)$. Это в свою очередь влечет за собой необходимость разработки нормативных требований к кандидату в СО, поскольку от его состава и свойств зависит точность результатов оценки специфической активности лекарственных препаратов антирезусного иммуноглобулина, а значит, и эффективность терапии.

Цель исследования – определить критерии качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус $Rh_0(D)$.

Материал и методы

В ходе изучения нормативной базы в сфере контроля качества препаратов крови, получения и применения биологических эталонов лекарственных средств проанализированы технические доклады ВОЗ, руководства ИСН, российская и европейская фармакопеи, отечественные санитарные нормы и правила охраны труда для медицинских организаций, национальные, межгосударственные и международные стандарты. Объектами лабораторных исследований были три экспериментальные партии лиофилизированного концентрата анти-D-антител, которые изготавливали по оригинальной валидированной технологии, разработанной в Кировском научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови ФМБА России. За основу взяли регламент производства иммуноглобулинов человека, так как одним из ключевых требований к референсным материалам является их близость по составу и свойствам к стандартизуемым лекарственным средствам [21, 22].

Анализ испытуемых образцов проводили по основным показателям качества иммуноглобулиновых препаратов, за исключением тех, которые определяют безопасность их клинического применения. Внешний вид оценивали визуально. Остаточную влажность определяли путем высушивания в вакуумном сушильном шкафу Ulab UT-4630V (Ulab, Китай) точной навески испытуемого образца до постоянной массы [34]. Время растворения фиксировали по секундомеру СОПр-2а3-000 (ПАО «Златоустовский часовой завод», Россия) при восстановлении лиофилизата очищенной водой. Показатели прозрачности и цветности измеряли спектрофотометрически на колориметре фотоэлектрическом КФК-2 УХЛ4.2 (АО «Загорский оптико-механический завод», Россия, далее – колориметр) при длине волны 540 и 400 нм соответственно в кюветах с толщиной оптического слоя 3 мм, концентрацию водородных ионов (рН) – потенциометрически на анализаторе жидкости Эксперт-001-3 (НПП «Эко-никс-Эксперт», Россия) [35, 36]. Содержание белка определяли колориметрическим методом с биуретовым реактивом, используя колориметр [37]. Электрофоретическую однородность исследовали посредством электрофореза на мембранах из ацетатцеллюлозы с применением устройства УЭФ-01-«АСТРА», укомплектованного программой «Анализ фракций сыворотки крови» (ООО «НПЦ «Астра», Россия), и набора реагентов «КлиниТест-ЭФ» (НПЦ «Эко-Сервис», Россия) [38].

Молекулярные параметры анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью системы Agilent 1200 с диодно-матричным детектором (Agilent Technologies Inc., США) и колонки BioSep-SEC-s4000 (Phenomenex, США) при следующих условиях: подвижная фаза 0,1М фосфатный буферный раствор, скорость элюции 0,5 мл/мин, длина волны 280 нм [39]. Хроматограммы обрабатывали в программе ChemStation, поставляемой с оборудованием. Фракционный состав оценивали путем проведения иммуноэлектрофореза в агаровом геле на приборе ПЭФ-3 (ОАО «Физприбор», Россия) с применением набора реагентов «Поли-ИЭФ» (ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России) [40]. Испытание на стерильность осуществляли методом прямого посева на тиогликолевую питательную среду и бульон Сабуро (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия) [41].

Специфическую активность устанавливали по отношению к международному стандарту Reference Reagent Anti-D immunoglobulin lyophilized (NIBSC, Великобритания) в реакции непрямой

агглютинации со стандартными эритроцитами человека ID-DiaCellIP-IP-IP papainized фенотипа OR₂R₂ в гелевых картах ID Coombs Anti-IgG (DiaMed GmbH, Швейцария), используя центрифугу ID-Centrifuge L (Bio-Rad Laboratories, Франция) и термостат-инкубатор Memmert IN75 (Mettler, Германия) [42]. Вирусную безопасность проверяли посредством выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С (HCV), вирусу иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1 в иммунохемилюминесцентном анализе (ИХЛА) на аппарате Cobas e 411 (Roche Diagnostics International Ltd., США) и наборов реагентов Elecsys HBsAg II, Elecsys Anti-HCV II, Elecsys HIV combi PT того же производства. Исследование выполняли согласно инструкциям по применению тест-систем. Результаты верифицировали с помощью стандартных панелей и контрольных материалов PreciControl HBsAg II, PreciControl Anti-HCV, PreciControl HIV.

Результаты и их обсуждение

В рамках исследования проведена оценка соответствия экспериментальных партий лиофилизированного концентрата анти-D-антител требованиям, предъявляемым к иммуноглобулинам

человека и остаточной влажности СО, определен размах варьирования содержания основного компонента [20, 21, 43]. Данные лабораторного тестирования приведены в табл. 1.

Опытные образцы имели вид аморфной пористой массы белого цвета в форме таблетки, плотно прилегающей к стенкам флакона. После высушивания показатель остаточной влажности не превышал 1 %. Сухие препараты растворялись в воде очищенной менее чем за 1 минуту. Восстановленные лиофилизаты представляли собой бесцветные прозрачные растворы со значением рН, близким к нейтральному, количеством белка более 20 г/л и специфической активностью не ниже 30 МЕ/мл. При этом размах варьирования уровня целевых антител в пределах одной серии не выходил за рамки 1,5-кратного шага титрования. Протеиновая фракция более чем на 98 % состояла из молекул IgG, практически полностью представленных мономерами и димерами с незначительным присутствием фрагментов (менее 5 %). Изготовленные концентраты анти-D-антител признаны стерильными, не содержащими маркеров гемотрансмиссивных инфекций. В целом все испытываемые партии соответствовали основным критериям качества иммуноглобулиновых препаратов крови и требованиям к оста-

Таблица 1. Результаты лабораторного анализа концентрата анти-D-антител

Table 1. Results of laboratory analysis of the concentrate of anti-D antibodies

Наименование показателя	Результаты анализа		
	Партия 1	Партия 2	Партия 3
Описание	Аморфная пористая масса белого цвета		
Остаточная влажность, %	0,58	0,69	0,70
Время растворения, мин	0,60	0,75	0,50
Прозрачность, D ($\lambda = 540$ нм, $h = 3$ мм)	0,005	0,005	0,005
Цветность, D ($\lambda = 400$ нм, $h = 3$ мм)	0,006	0,005	0,005
рН, ед. рН	6,58	6,52	6,59
Содержание белка, г/л	24,7	25,4	25,1
Фракционный состав	Интенсивная линия преципитации IgG		
Относительное содержание фракции γ -глобулинов (IgG), %	98,31	99,08	98,03
Относительное содержание фракций (молекулы IgG): мономеры и димеры, % полимеры и агрегаты, % фрагменты, %	95,6	95,2	95,7
	0,0	0,0	0,0
	4,4	4,8	4,3
Стерильность	Стерильно		
Содержание антител антирезус Rh ₀ (D) ($n = 6$), МЕ/мл	39,6–59,4 (Me = 59,4)	39,6–59,4 (Me = 39,6)	39,6–59,4 (Me = 39,6)
Антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген р24 ВИЧ-1	Отсутствуют		
HBsAg	Отсутствует		
Антитела к HCV	Отсутствуют		

Примечание: D – оптическая плотность; λ – длина волны; h – толщина оптического слоя; Me – медиана; n – количество определений.

точной влажности биологических эталонов лекарственных средств [20, 21, 43].

На основании анализа российских и зарубежных нормативных документов, а также результатов тестирования опытных образцов установили спецификационные требования к кандидату в СО. Перечень потребительских характеристик сформировали, исходя из общепринятой практики контроля качества иммуноглобулинов человека, выбрав те параметры, которые определяют эффективность и безопасность применения биоматериала в лабораторных условиях. Такие показатели, как вирусная безопасность (антитела к вирусу иммунодефицита человека и антиген р24, антитела к вирусу гепатита С, поверхностный антиген вируса гепатита В), стерильность, прозрачность, цветность, рН, фракционный состав, молекулярные параметры и электрофоретическая однородность нормировали, следуя указаниям ФС.3.3.2.0007.15 [43]. Требования к специфической активности, потере в массе при высушивании, времени растворения, содержанию белка сформулировали исходя из собственных эмпирических данных и рекомендаций ВОЗ [21]. Методы контроля описали с учетом инструкций производителей оборудования и тест-систем, а также положений общих фармакопейных статей [34–42]. Порядок маркировки, упаковки, транспортирования и хранения кандидата в СО изложили, отталкиваясь от рекомендаций ФС.3.3.2.0007.15 и ОФС.1.8.1.0001.15 [43, 44]. При выборе первичной упаковки остановились на зарегистрированных материалах, используемых в современной фарминдустрии. Первоначальный срок годности установили по аналогии с известными в настоящее время лиофилизированными иммуноглобулиновыми препаратами. Спецификация «Кандидат в стандартный образец содержания антител антирезус $Rh_0(D)$ » представлена в табл. 2.

Исходя из предназначения кандидата в СО, основным показателем его качества является концентрация анти-D-антител. Ее минимально допустимый уровень (30 МЕ/мл) установлен исходя из верхней границы аналитической области иммуноферментного анализа, поскольку эта методика, наравне с реакцией непрямой агглютинации и проточной цитофлуориметрией, может использоваться при метрологической аттестации СО и отличается наибольшими значениями определяемого параметра в пределах диапазона применения [42, 45, 46]. Размах варьирования специфической активности в разных флаконах характеризует внутрисерийную однородность. О чистоте и гомогенности основного компонента можно судить по содержанию белка, фракцион-

ному составу, электрофоретической однородности и молекулярным параметрам. Подлинность (видоспецифичность) биоматериала не включена в перечень контролируемых характеристик, так как она подтверждается в ходе анализа фракционного состава. Внешний вид, остаточная влажность и растворимость порошка, прозрачность и цветность регидратированного лиофилизата позволяют оценить эффективность удаления влаги, от чего во многом зависит стабильность высушенного биоматериала. Обязательно измерение рН, поскольку кислотность среды оказывает значительное влияние на функциональные свойства и устойчивость IgG. Отсутствие маркеров вирусов гепатита В и С, иммунодефицита человека исключает риск инфицирования оператора в ходе лабораторных исследований и гарантирует безопасность применения кандидата в СО, изготовленного из плазмы крови человека. Испытание на стерильность дает возможность предотвратить микробиологическую порчу продукта при хранении и обеспечить его сохранность в течение установленного срока годности.

Полученные литературные и экспериментальные данные послужили базой для разработки ТУ 21.20.23-001-01966992-2022 (далее – технические условия) – нормативной документации производителя, содержащей установленные спецификационные требования. При этом руководствовались ГОСТ Р 1.3-2018, в котором изложены общие правила оформления такого рода документов [47]. Поскольку получение концентрата анти-D-антител связано с заготовкой донорской плазмы, которая может осуществляться только в условиях учреждения службы крови, предусмотрели соблюдение правил охраны труда, регламентированных для медицинских организаций. Требования безопасности привели со ссылкой на Постановление главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4 и Приказ Минтруда России от 18.12.2020 № 928н [48, 49]. Также сочли возможным применить утвержденные правила обращения с медицинскими отходами [50]. Разработанные технические условия утверждены и введены в действие в Кировском научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови ФМБА России.

Заключение

Впервые проведено исследование стабилизированного концентрата анти-D-антител по основным показателям качества иммуноглобулинов человека и установлены требования к кандидату в СО. Его полное соответствие принятым нор-

Таблица 2. Спецификация «Кандидат в стандартный образец содержания антител антирезус $Rh_0(D)$ »

Table 2. Specification «Candidate standard for anti-D immunoglobulin»

Наименование показателя	Норма	Метод анализа
Описание	Аморфная пористая масса белого цвета	Визуальная оценка цвета и консистенции
Потеря в массе при высушивании	Не более 5 %	Гравиметрический анализ, ОФС.1.2.1.0010.15 (способ 3)
Время растворения	Не более 15 мин	Фиксация времени по секундомеру
Прозрачность	D ($\lambda = 540$ нм, $h = 3$ мм) не более 0,050	Спектрофотометрия, ОФС.1.2.1.1.0003.15
Цветность	D ($\lambda = 400$ нм, $h = 3$ мм) не более 0,150	Спектрофотометрия, ОФС.1.2.1.1.0003.15
pH	От 5,0 до 7,4	Потенциометрия, ОФС.1.2.1.0004.15
Белок	Не нормируется	Колориметрический метод с биуретовым реактивом, ОФС.1.8.2.0010.18 (метод А)
Фракционный состав	Интенсивная дуга преципитации IgG и не более четырех дополнительных линий	Иммуноэлектрофорез в агаровом геле, ОФС.1.8.2.0002.15
Электрофоретическая однородность	Относительное содержание фракции γ -глобулинов не менее 95 % от общего белка	Электрофорез на пленках из ацетата целлюлозы, ОФС.1.8.2.0009.15
Молекулярные параметры	Относительное содержание фракций: мономеры, димеры – не менее 85 %, полимеры, агрегаты – не более 10 %, фрагменты – не нормируются	Эксклюзионная ВЭЖХ, ОФС.1.8.2.0006.15
Специфическая (антирезусная) активность	Содержание антирезус $Rh_0(D)$ антител не менее 30 МЕ/мл, размах варьирования не более 1,5-кратного шага титрования	Непрямая агглютинация в гелевых картах, ОФС.1.8.2.0004.15, по отношению к МСО
Антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген p24 ВИЧ-1	Отсутствуют	ИХЛА
HBsAg	Отсутствует	ИХЛА
Антитела к HCV	Отсутствуют	ИХЛА
Стерильность	Стерильно	Метод прямого посева, ОФС.1.2.4.0003.15
Упаковка	Лиофилизат во флаконе для лекарственных средств, укупоренном пробкой резиновой, медицинской, зафиксированной колпачком алюминиевым	
Маркировка	Этикетка на внешней поверхности флакона с указанием наименования производителя, наименования препарата, номера серии, даты изготовления, срока годности, условий хранения	
Хранение	При температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте	
Транспортировка	Всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С	
Срок годности	3 года	

Примечание: D – оптическая плотность; λ – длина волны; h – толщина оптического слоя.

мам позволит обеспечить максимальную близость состава и свойств референсного материала к испытуемым лекарственным препаратам. Предложенный способ оценки внутрисерийной однородности может использоваться в ходе метрологической аттестации СО, что даст возможность определять не только аттестованное значение, но и его статистическую неопределенность. Это станет существенным преимуществом от-

ественного СО перед зарубежным аналогом, для которого в документации производителя приводится одна характеристика – специфическая активность без указания допустимых пределов варьирования.

Благодаря определению критериев качества кандидата в стандартный образец содержания антител антирезус $Rh_0(D)$ стало возможным осуществление его выпускающего контроля при

массовом производстве в Российской Федерации. Это будет способствовать увеличению выпуска отечественного СО и полноценному снабжению им российских производителей лекарственных средств, что в значительной мере поможет реализации национальной стратегии импортозамещения в сфере фарминдустрии и здравоохранения.

Список литературы

1. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 09.02.2023 № 291-р «Об утверждении Концепции увеличения заготовки плазмы крови для производства лекарственных препаратов учреждениями Службы крови Федерального медико-биологического агентства и субъектов Российской Федерации на период до 2030 года и плана мероприятий («дорожной карты») по увеличению заготовки плазмы крови для производства лекарственных препаратов учреждениями Службы крови Федерального медико-биологического агентства и субъектов Российской Федерации». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_439556/
2. Оловникова Н.И., Николаева Т.Л., Эршлер М.А. Иммунопрофилактика резус-иммунизации: перспектива создания моноклонального иммуноглобулина для предупреждения гемолитической болезни новорожденных. *Иммунология*. 2018;39(1):74–80. doi: 10.18821/0206-4952-2018-39-1-74-80
3. Павлова Н.Г. Анти-D-иммунопрофилактика. *Ж. акушерства и жен. болезней*. 2015;64(3):52–57. doi: 10.17816/JOWD64352-57
4. Чечеткин А.В., Данильченко В.В., Григорьян М.Ш., Воробей Л.Г., Плоцкий Р.А. Анализ показателей деятельности службы крови Российской Федерации в 2019 году. *Трансфузиология*. 2020; 21(3):200–210.
5. Silver R.M. RhD immune globulin: over 50 years of remarkable progress! *BJOG*. 2016;123(8):1347. doi: 10.1111/1471-0528.13868
6. Pegoraro V., Urbinati D., Visser G.H.A., di Renzo G.C., Zipursky A., Stotler B.A., Spitalnik S.L. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to Rh₀(D) incompatibility: A preventable disease that still produces significant morbidity and mortality in children. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235807. doi: 10.1371/journal.pone.0235807
7. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.10.2020 № 1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “акушерство и гинекология”». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_367763/
8. Ожерельева М.А., Кравченко Е.Н., Ветров В.В., Иванов Д.О., Кукулина Л.В. Профилактика гемолитической болезни новорожденного и ее тяжелых форм при резус-конflikте (обзор литературы). *Детская медицина Северо-Запада*. 2015;6(3):42–48.
9. Зотова И.И., Грицаев С.В., Бессмельцев С.С. Первичная иммунная тромбоцитопения. Современный взгляд на патогенез и лечение. *Вестн. гематол.* 2017;13(4):48–64.
10. Song F., Al-Samkari H. Management of adult patients with immune thrombocytopenia (ITP): a review on current guidance and experience from clinical practice. *J. Blood. Med.* 2021;12:653–664. doi: 10.2147/JBM.S259101
11. El-Habil M.K. Anti-D immunoglobulin versus immunoglobulin G for the treatment of acute immune thrombocytopenia in children: a 10-year retrospective study. *Lancet*. 2021;398(Sup.1):S25. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01511-7
12. Приказ Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_152004/
13. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 77 «Об утверждении правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207780/
14. The rules governing medicinal products in the European Union. Volume 4. Guidelines for good manufacturing practice for medicinal products for human and veterinary use. Annex 1. Manufacturing of sterile medicinal products. Brussels: European Commission, 2022. 58 p.
15. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Products. Annex 2. WHO good manufacturing practice for pharmaceutical products: Main principles. In: *WHO Technical Report Series*. No. 986, 2014. P. 77–135.
16. United States Food and Drug Administration. Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals. In: *Code of Federal Regulations (CFR)*. Title 21. Chapter I. Part 211. White Oak Maryland, 2022. P. 158–179.
17. Шведова Е.В., Кудашева Э.Ю., Климов В.И. Методы оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D): современное состояние проблемы. *Иммунология*. 2020;41(3):256–261. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-3-256-261
18. Human Anti-D Immunoglobulin. In: *European Pharmacopoeia*. 10 ed. Supp. 10.7. Strasbourg, 2022. P. 6661.
19. Human Anti-D Immunoglobulin for intravenous administration. In: *European Pharmacopoeia*. 10 ed. Supp. 10.7. Strasbourg, 2022. 6661.

20. ОФС.1.8.1.0003.15 «Иммуноглобулины человека». В кн.: *Государственная фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3084–3089.
21. WHO expert committee on biological standardization. Annex 2. Recommendation for the preparation, characterization, and establishment of international and other biological reference standards. In: *WHO Technical Report Series*. No. 932. Geneva, 2006. P. 73–131.
22. ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 1. М., 2018. С. 185–202.
23. Validation of analytical procedures: Text and Methodology. ICH Harmonized Tripartite Guideline. Q2(R1). Geneva: ICH, 2005. 15 p.
24. ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. Amsterdam: European Medicines Agency, 2023. 45 p.
25. International standard ISO 5725-4:2020 «Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 4: Basic method for the determination of the trueness of a standard measurement method». Available at: <https://www.iso.org/ru/standard/69421.html>
26. Государственный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 5725-4-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4. Основные методы определения правильности стандартного метода измерений». Режим доступа: <https://internet-law.ru/gosts/gost/6143/>
27. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.03.2020 № 202 «О метрологической службе Министерства здравоохранения Российской Федерации в сфере обращения лекарственных средств для медицинского применения». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_353452/
28. Меркулов В.А., Саканян Е.И., Волкова Р.А., Климов В.И., Шемерянкина Т.Б., Яшкир В.А. Фармакопейные стандартные образцы и практика их применения в отечественной системе стандартизации лекарственных средств. *Хим.-фармац. ж.* 2016;50(4):40–43. doi: 10.30906/0023-1134-2016-50-4-40-43
29. Вильданова Н.С., Кормщикова Е.С., Калинина Е.Н., Воробьев К.А., Парамонов И.В., Кудашева Э.Ю. Этапы стандартизации препаратов антирезусного иммуноглобулина человека по показателю «Специфическая активность». *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(3):241–248. doi: 10.30895/2221-996X-2022-22-3-288-295
30. Межгосударственный стандарт ГОСТ 8.315-2019 «Государственная система обеспечения единства измерений. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Основные положения». Режим доступа: <https://internet-law.ru/gosts/gost/72205/>
31. Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Климов В.И., Саканян Е.И., Олефир Ю.В., Меркулов В.А., Мовсисянц А.А., Бондарев В.П., Борисевич И.В., Шведов Д.В. Актуальные вопросы стандартных образцов в сфере обращения биологических лекарственных средств. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2016;16(4):229–236.
32. Фадейкина О.В., Волкова Р.А. Разработка порядка аттестации стандартных образцов биологических лекарственных средств. *Хим.-фармац. ж.* 2017;51(8):44–50. doi: 10.30906/0023-1134-2017-51-8-44-50
33. Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Устинникова О.Б., Саканян Е.И., Меркулов В.А., Мовсисянц А.А., Бондарев В.П., Олефир Ю.В. Современные проблемы стандартных образцов лекарственных средств в Российской Федерации. *Фармация*. 2020;69(2):5–11. doi: 10.29296/25419218-2020-02-01
34. ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 1. М., 2018. С. 567–569.
35. ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 1. М., 2018. С. 749–758.
36. ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 1. М., 2018. С. 532–541.
37. ОФС.1.8.2.0010.18 «Количественное определение белка колориметрическим методом с биуретовым реактивом в препаратах крови человека и животных». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3198–3200.
38. ОФС.1.8.2.0009.15 «Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3193–3197.
39. ОФС.1.8.2.0006.15 «Определение молекулярных параметров иммуноглобулинов методом ВЭЖХ». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3167–3170.
40. ОФС.1.8.2.0002.15 «Иммуноэлектрофорез в агаровом геле». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3130–3135.
41. ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность». В кн.: *Государственная Фармакопея Российской Федерации*. XIV изд. Т. 1. М., 2018. С. 1201–1222.
42. ОФС.1.8.2.0004.15 «Испытание на анти-D-антитела в лекарственных препаратах

иммуноглобулинов человека». В кн.: Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3158–3162.

43. ФС.3.3.2.0007.15 «Иммуноглобулин человека нормальный». В кн.: Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М., 2018. С. 5758–5763.

44. ОФС.1.8.1.0001.15 «Лекарственные препараты из плазмы крови человека». В кн.: Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 3079–3083.

45. Assay of Human Anti-D Immunoglobulin. In: *European Pharmacopoeia*. 11 ed. Supp. 11.0. Strasbourg, 2022. 2.7.13.

46. Oviedo S.A., Vitali S., Zarzur J. Design, optimization and validation of a flow cytometry assay for quantitation of IgG-anti-D (rho) in the industrial process control of the anti rho-gamma globulin production. *Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences*. 2019;8(1):1–11. doi: 10.24105/2319-5584.100004

47. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 1.3-2018 «Стандартизация в Российской Федерации. Технические условия на продукцию. Общие требования к содержанию, оформлению, обозначению и обновлению». Режим доступа: <https://internet-law.ru/gosts/gost/72476/>

48. Постановление главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_377388/

49. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 18.12.2020 № 928н «Об утверждении правил по охране труда в медицинских организациях». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_373020/

50. Постановление главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 3 «Об утверждении СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_376166/

References

1. Decree of the Government of the Russian Federation of February 09, 2023 No. 291-p “On approval

of the Concept of increasing of the harvesting of blood plasma for the production of medicines by blood service institutions of the Federal Medical Biological Agency and subjects of the Russian Federation for the period to 2030 and the action plan to increase of the harvesting of blood plasma for the production of medicines by blood service institutions of the Federal Medical Biological Agency and subjects of the Russian Federation”. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_439556/ [In Russian].

2. Olovnicova N.I., Nicolaeva T.L., Ershler M.A. Immunization of rhesus immunization: the prospect of a monoclonal immunoglobulin to prevent haemolytic disease of the newborn. *Immunologiya = Immunology*. 2018;39(1):74–80. [In Russian]. doi: 10.18821/0206-4952-2018-39-1-74-80

3. Pavlova N.G. Anti-D-immunoprophylaxis. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2015;64(3):52–57. [In Russian]. doi: 10.17816/JOWD64352-57

4. Chechetkin A.V., Danilchenko V.V., Grigoryan M.Sh., Vorobey L.G., Plotsky R.A. Analysis of the activity indicators of the Blood Service of the Russian Federation in 2019. *Transfuziologiya = Transfusiology*. 2020; 21(3):200–210. [In Russian].

5. Silver R.M. RhD immune globulin: over 50 years of remarkable progress! *BJOG*. 2016;123(8):1347. doi: 10.1111/1471-0528.13868

6. Pegoraro V., Urbinati D., Visser G.H.A., di Renzo G.C., Zipursky A., Stotler B.A., Spitalnik S.L. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to Rh₀(D) incompatibility: A preventable disease that still produces significant morbidity and mortality in children. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235807. doi: 10.1371/journal.pone.0235807

7. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of October 20, 2020 No. 1130n «On approval of the procedure for providing medical care on the profile “obstetrics and gynecology”». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_367763/ [In Russian].

8. Ozhereleva M.A., Kravchenko E.N., Vetrov V.V., Ivanov D.O., Kuklina L.V. Prevention of Rh immunization in Russia and foreign countries. *Detskaya meditsina Severo-Zapada = Children's medicine of the North-West*. 2015;6(3):42–48. [In Russian].

9. Zotova I.I., Gritsaev S.V., Bessmeltsev S.S. Primary immune thrombocytopenia. The current understanding of the pathogenesis and treatment. *Vestnik gematologii = Bulletin of Hematology*. 2017;13(4):48–64. [In Russian].

10. Song F., Al-Samkari H. Management of adult patients with immune thrombocytopenia (ITP): a review on current guidance and experience from clinical practice. *J. Blood. Med*. 2021;12:653–664. doi: 10.2147/JBM.S259101

11. El-Habil M.K. Anti-D immunoglobulin versus immunoglobulin G for the treatment of acute immune

- thrombocytopenia in children: a 10-year retrospective study. *Lancet*. 2021;398(Sup.1):S25. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01511-7
12. Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation of June 14, 2013 No. 916 «On approval of the Rules of Good Manufacturing Practice». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_152004/ [In Russian].
13. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of November 03, 2016 No. 77 «On approval of the Rules of Good Manufacturing Practice of the Eurasian Economic Union». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207780/ [In Russian].
14. The rules governing medicinal products in the European Union. Volume 4. Guidelines for good manufacturing practice for medicinal products for human and veterinary use. Annex 1. Manufacturing of sterile medicinal products. Brussels: European Commission, 2022. 58 p.
15. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Products. Annex 2. WHO good manufacturing practice for pharmaceutical products: Main principles. In: *WHO Technical Report Series*. No. 986, 2014. P. 77–135.
16. United States Food and Drug Administration. Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals. In: *Code of Federal Regulations (CFR)*. Title 21. Chapter I. Part 211. White Oak Maryland, 2022. P. 158–179.
17. Shvedova E.V., Kudasheva E.Yu., Klimov V.I. Methods for evaluating the specific activity of preparations of human antirhesus Rh₀(D): current status of the problem. *Immunologiya = Immunotology*. 2020;41(3):256–261. [In Russian]. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-3-256-261
18. Human Anti-D Immunoglobulin. In: *European Pharmacopoeia*. 10 ed. Supp. 10.7. Strasbourg, 2022. P. 6661.
19. Human Anti-D Immunoglobulin for intravenous administration. In: *European Pharmacopoeia*. 10 ed. Supp. 10.7. Strasbourg, 2022. 6661.
20. OFS.1.8.1.0003.15 «Human immunoglobulin». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3084–3089. [In Russian].
21. WHO expert committee on biological standardization. Annex 2. Recommendation for the preparation, characterization, and establishment of international and other biological reference standards. In: *WHO Technical Report Series*. No. 932. Geneva, 2006. P. 73–131.
22. OFS.1.1.0007.18 «Standard samples». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 1. Moscow, 2018. P. 185–202. [In Russian].
23. Validation of analytical procedures: Text and Methodology. ICH Harmonized Tripartite Guideline. Q2(R1). Geneva: ICH, 2005. 15 p.
24. ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. Amsterdam: European Medicines Agency, 2023. 45 p.
25. International standard ISO 5725-4:2020 «Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 4: Basic method for the determination of the trueness of a standard measurement method». Available at: <https://www.iso.org/ru/standard/69421.html>
26. National standard of the Russian Federation GOST R ISO 5725-4-2002 «Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 4. Basic method for the determination of the trueness of a standard measurement method». Available at: <https://internet-law.ru/gosts/gost/6143/> [In Russian].
27. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of March 20, 2020 No. 202 «On the Metrological Service of the Ministry of Health of the Russian Federation in the sphere of circulation of medicines for medical use». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_353452/ [In Russian].
28. Merkulov V.A., Sakanyan E.I., Volkova R.A., Klimov V.I., Shemeryankina T.B., Yashkir V.A. Pharmacopoeia standard samples and their practical application in the national drug standardization system. *Pharm. Chem. J*. 2016;50:258–261. [In Russian]. doi: 10.1007/s11094-016-1433-y
29. Vildanova N.S., Kormshchikova E.S., Kalinina E.N., Vorobiev K.A., Paramonov I.V., Kudasheva E.Yu. Human anti-D immunoglobulin preparations: potency standardization milestones. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(3): 241–248. [In Russian]. doi: 10.30895/2221-996X-2022-22-3-288-295
30. Interstate standard GOST 8.135-2019 «State system for ensuring the uniformity of measurements. Reference materials of composition and properties of substances and materials. Basic principles». Available at: <https://internet-law.ru/gosts/gost/72205/> [In Russian].
31. Volkova R.A., Fadeikina O.V., Klimov V.I., Sakanyan E.I., Olefir Yu.V., Merkulov V.A., Movsesyants A.A., Bondarev V.P., Borisevich I.V., Shvedov D.V. Topical issues related to reference standards in the sphere of circulation of biological products. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2016;16(4):229–236. [In Russian].
32. Fadeikina O.V., Volkova R.A. Elaboration of certification procedures for reference standards of biological drugs. *Pharm. Chem. J*. 2017;51:716–721. [In Russian]. doi: 10.1007/s11094-017-1680-6
33. Volkova R.A., Fadeikina O.V., Ustinnikova O.B., Sakanyan E.I., Merkulov V.A., Movsesyants A.A., Bondarev V.P., Olefir Yu.V. Current problems with the standard samples of medicines in the Russian Federation. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2020;69(2):5–11. [In Russian]. doi: 10.29296/25419218-2020-02-01
34. OFS.1.2.1.0010.15 «Weight loss at drying». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 1. Moscow, 2018. P. 567–569. [In Russian].
35. OFS.1.2.1.1.0003.15 «Spectrophotometry in the ultraviolet and visible regions». In: *State Phar-*

macropoeia of the Russian Federation. XIV ed. Vol. 1. Moscow, 2018. P. 749–758. [In Russian].

36. OFS.1.2.1.0004.15 «Ionometry». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 1. Moscow, 2018. P. 532–541. [In Russian].

37. OFS.1.8.2.0010.18 «Quantitative determination of protein by colorimetric method with biuret reagent in human and animal blood preparations». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3198–3200. [In Russian].

38. OFS.1.8.2.0009.15 «Determination of the homogeneity of medicinal preparations from human and animal blood serum by electrophoresis on cellulose acetate films». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3193–3197. [In Russian].

39. OFS.1.8.2.0006.15 «Determination of molecular parameters of immunoglobulin by HPLC». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3167–3170. [In Russian].

40. OFS.1.8.2.0002.15 «Immunoelectrophoresis in agar gel». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3130–3135. [In Russian].

41. OFS.1.2.4.0003.15 «Sterility». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 1. Moscow, 2018. P. 1201–1222. [In Russian].

42. OFS.1.8.2.0004.15 «Testing for anti-D antibodies in medicinal preparations of human immunoglobulin». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3158–3162. [In Russian].

43. FS.3.3.2.0007.15 «Immunoglobulin human normal». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 4. Moscow, 2018. P. 5758–5763. [In Russian].

44. OFS.1.8.1.0001.15 «Medicinal preparations from human blood plasma». In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. Vol. 2. Moscow, 2018. P. 3079–3083. [In Russian].

45. Assay of Human Anti-D Immunoglobulin. In: *European Pharmacopoeia*. 11 ed. Supp. 11.0. Strasbourg, 2022. 2.7.13.

46. Oviedo S.A., Vitali S., Zarzur J. Design, optimization and validation of a flow cytometry assay for quantitation of IgG-anti-D (rho) in the industrial process control of the anti rho-gamma globulin production. *Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences*. 2019;8(1):1–11. doi: 10.24105/2319-5584.100004

47. National standard of the Russian Federation GOST R 1.3-2018 «Standardization in the Russian Federation. Technical specifications for the products. General requirements for content, design and designation and updating». Available at: <https://internet-law.ru/gosts/gost/72476/> [In Russian].

48. Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation of January 28, 2021 No. 4 «On approval of sanitary rules and norms SanPiN 3.3686-21 “Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases”». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_377388/ [In Russian].

49. Order of the Ministry of Labor and Social Protection of the Russian Federation of December 18, 2020 No. 928n «On approval of the rules for labor protection in medical organizations». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_373020/ [In Russian].

50. Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation of January 28, 2021 No. 3 «On approval of sanitary rules and norms SanPiN 2.1.3684-21 “Sanitary and epidemiological requirements for the maintenance of territories of urban and rural settlements, for water bodies, drinking water and drinking water supply, atmospheric air, soils, residential premises, operation of industrial, public premises, organization and implementation of sanitary and anti-epidemic (preventive) measures”». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_376166/ [In Russian].

Сведения об авторах:

Калинина Елена Николаевна, ORCID: 0000-0001-9754-5522, e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Вильданова Наталия Сергеевна, ORCID: 0000-0002-0791-0571, e-mail: vildanova@niigpk.ru

Кормщикова Елена Сергеевна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-8158-8445, e-mail: kormschikova@niigpk.ru

Йовдий Анна Васильевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2496-0308, e-mail: yovdiy@niigpk.ru

Смольникова Мария Викторовна, ORCID: 0000-0002-3423-5700, e-mail: smolnikova@niigpk.ru

Information about the authors:

Elena N. Kalinina, ORCID: 0000-0001-9754-5522, e-mail: kalininaen@niigpk.ru

Nataliya S. Vildanova, ORCID: 0000-0002-0791-0571, e-mail: vildanova@niigpk.ru

Elena S. Kormshchikova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-8158-8445, e-mail: kormschikova@niigpk.ru

Anna V. Yovdiy, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2496-0308, e-mail: yovdiy@niigpk.ru

Maria V. Smolnikova, ORCID: 0000-0002-3423-5700, e-mail: smolnikova@niigpk.ru

Поступила в редакцию 02.05.2023

После доработки 23.06.2023

Принята к публикации 19.07.2023

Received 02.05.2023

Revision received 23.06.2023

Accepted 19.07.2023

Эффекты оксида азота на микровязкость и полярность мембран эритроцитов при оперативном вмешательстве на сердце в эксперименте

Т.Ю. Реброва, Ю.К. Подоксенов, С.А. Афанасьев, Н.О. Каменщиков, В.А. Корепанов, М.Л. Дьякова

НИИ кардиологии –

филиал Томского национального исследовательского медицинского центра РАН
634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

Резюме

Совершенствование методов защиты органов-мишеней при проведении операции аортокоронарного шунтирования определило разработку технологии доставки оксида азота (NO) в системный кровоток с использованием аппарата искусственного кровообращения (ИК), что делает NO доступным для всех органов и тканей. Цель настоящей работы – оценить влияние периоперационного кондиционирования NO на коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов при экспериментальном хирургическом вмешательстве с применением ИК. **Материал и методы.** Исследование выполнено на 20 баранах массой 30–34 кг. Были сформированы две группы. В группе ИК 10 животным выполняли стандартный, принятый в клинике, протокол проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и ИК. В группе ИК+NO 10 баранам сразу после интубации трахеи проводили подачу NO в дозе 80 ppm через контур аппарата ИВЛ. При старте ИК осуществляли доставку NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm на протяжении 90 мин, после отлучения от ИК подача NO продолжалась через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 60 мин. Определяли коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов спектрофлуориметрически с использованием зонда пирен. **Результаты и их обсуждение.** Выполнение ИК сопровождалось статистически значимым снижением коэффициента микровязкости в зоне белок-липидных контактов мембран эритроцитов баранов. В зоне общих липидов коэффициент микровязкости после проведения ИК не изменялся. Коэффициент полярности мембран на заключительном этапе операции значимо увеличивался в зоне аннулярных липидов и не изменялся в общих липидах. Подача NO в контур экстракорпоральной циркуляции нивелирует выявленное повышение микровязкости и полярности аннулярных липидов. **Заключение.** Внесение NO в контур экстракорпоральной циркуляции в концентрации 80 ppm предупреждает снижение коэффициентов микровязкости и полярности аннулярных липидов мембран эритроцитов, возникающее при проведении кардиохирургических операций.

Ключевые слова: оксид азота, искусственное кровообращение, бараны.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Реброва Т.Ю., e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru

Для цитирования: Реброва Т.Ю., Подоксенов Ю.К., Афанасьев С.А., Каменщиков Н.О., Корепанов В.А., Дьякова М.Л. Эффекты оксида азота на микровязкость и полярность мембран эритроцитов при оперативном вмешательстве на сердце в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):101–107. doi: 10.18699/SSMJ20230612

Effects of nitric oxide on microviscosity and polarity of erythrocyte membranes in experiment

T.Yu. Rebrova, Yu.K. Podoksenov, S.A. Afanasiev, N.O. Kamenshchikov, V.A. Korepanov, M.L. Diakova

Cardiology Research Institute,

Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences»

634012, Tomsk, Kievskaya st., 111a

Abstract

Enhancement of methods for protecting target organs during coronary artery bypass surgery determined the development of a technology for delivering nitric oxide (NO) to the systemic blood flow using a cardiopulmonary bypass (CB) apparatus, which makes NO available to all organs and tissues. The aim of the study was to access the effect of perioperative NO conditioning on the coefficients of microviscosity and polarity of sheep erythrocyte membranes during experimental surgical intervention using CB. **Material and methods.** Study was carried out on 20 sheep weighing 30–34 kg. Two groups were formed. In the CB group, 10 sheep underwent the standard clinical protocol of artificial lung ventilation (ALV) and CB. In the CB + NO group, 10 sheep received NO at a dose of 80 ppm through the circuit of ALV apparatus immediately after tracheal intubation. At the start of CB, NO was delivered to the extracorporeal circulation circuit at a dose of 80 ppm for 90 min. After disconnection from CB, NO supply continued through the ALV apparatus at a dose of 80 ppm for 60 min. The coefficients of microviscosity and polarity of sheep erythrocyte membranes were determined by spectrofluorimetry using pyrene probe. **Results and discussion.** The implementation of CB was accompanied by a statistically significant decrease in the microviscosity coefficient in the zones of protein-lipid contact of sheep erythrocyte membranes. In the zone of total lipids, the microviscosity coefficient did not change after CB implementation. The membrane polarity coefficient at the final stage of the surgery increased significantly in the zone of annular lipids and did not change in the zone of total lipids. NO supply to the circuit of the extracorporeal circulation neutralizes the revealed increase in the microviscosity and polarity of the annular lipids. **Conclusions.** The introduction of NO into the extracorporeal circulation circuit at the concentration of 80 ppm prevents a decrease in the coefficients of microviscosity and polarity of annular lipids of erythrocyte membranes that occurs during cardiac surgery.

Key words: nitric oxide, cardiopulmonary bypass, sheep.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Rebrova T.Yu., e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru

Citation: Rebrova T.Yu., Podoksenov Yu.K., Afanasiev S.A., Kamenshchikov N.O., Korepanov V.A., Diakova M.L. Effects of nitric oxide on microviscosity and polarity of erythrocyte membranes in experiment. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):101–107. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230612

Введение

В подавляющем большинстве случаев для выполнения операции аортокоронарного шунтирования требуется проведение искусственного кровообращения (ИК), что может способствовать ишемически-реперфузионному повреждению жизненно важных органов [1, 2]. В основе патогенеза функциональных нарушений миокарда и других органов, имеющих в своей структуре мышечные клетки, лежит нарушение внутриклеточного гомеостаза ионов кальция [3], избыточная продукция активных форм кислорода с повреждением мембранных структур клеток [4], а также дисфункция эндотелия сосудов и клеточных компонентов крови [5]. Проблема предупреждения интраоперационного повреждения органов определила актуальность совершенствования методов защиты при кардиохирургических операциях, выполняемых с использованием ИК. Одним из новых подходов к органопротекции является применение оксида азота (NO). Использование NO осуществляется путем введения доноров NO, индукторов NO-синтазы или внесения в ингаляционный контур газообразного NO. В зависимости от используемой концентрации NO может оказывать повреждающий или протекторный эффект. Экспериментально показано повреждающее действие высоких концентраций NO, опос-

редованное активацией перекисного окисления липидов и образованием пероксинитрита [6]. В физиологических дозах NO выступает в качестве антиоксиданта [6] и способствует вазодилатации [7]. Экспериментальные и клинические исследования эффективности периоперационного кондиционирования NO показали его органопротекторные свойства.

В настоящее время продолжают изучаться фундаментальные патофизиологические механизмы реализации органопротективных эффектов экзогенного NO в условиях ИК. Хорошо известно, что целостность и функциональная активность клеток во многом зависит от состояния цитоплазматической мембраны. Большинство рецепторов, ионных каналов и транспортеров образовано трансмембранными или связанными с мембранами белками, и их функциональная активность напрямую зависит от липидного состава и структурированности мембранной матрицы.

Цель исследования – оценить влияние периоперационного кондиционирования NO на коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов при экспериментальном хирургическом вмешательстве с применением ИК.

Материал и методы

Исследования выполнены на 20 баранах Алтайской породы массой 30–34 кг, которых содер-

жали в условиях конвенционального вивария. Все животные были рандомизированы на две группы. В первую группу включены 10 баранов, которым выполняли стандартный, принятый в клинике протокол проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и ИК – группа ИК. Вторую группу составили 10 баранов, которым проводили подачу NO сразу после интубации трахеи через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm – группа ИК+NO. При старте ИК осуществляли доставку NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm на протяжении всего периода ИК (90 мин), после отлучения от ИК подача NO продолжалась через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 60 мин.

Все процедуры проводились согласно требованиям приказа Минздрава №199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.2016, принципам надлежащей лабораторной практики ГОСТ 33044–2014 и руководству [8]. Болезненные процедуры и выведение из эксперимента осуществляли на наркотизированных животных. Дизайн исследования одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии (протокол № 230 от 28.06.2022). Оперативное вмешательство выполняли в экспериментальной лаборатории отделения сердечно-сосудистой хирургии.

Для получения и обеспечения доставки NO был использован аппарат «ТИАНОКС» (РФЯЦ-ВНИИЭФ, Саров, Россия), осуществляющий синтез NO, его подачу в ингаляционный контур и мониторинг содержания NO/NO₂ в линии подачи газовой смеси непосредственно во время проведения терапии NO. В группе ИК+NO конечная инспираторная концентрация NO составляла 80 ppm. Животные, попавшие в группу ИК, получали стандартную кислородно-воздушную смесь, не содержащую NO. Исследование полностью имитировало операцию в условиях ИК. Для оценки безопасности предлагаемой технологии осуществляли непрерывный мониторинг концентрации NO₂ в доставляемой газовой смеси контура аппарата ИВЛ и оксигенатора аппарата ИК. Критическим считали значение NO₂ = 2 ppm, при превышении которого доставка NO должна была быть прекращена.

Получение образцов крови для биохимических исследований, характеризующих адекватность механической перфузии, осуществляли на следующих этапах оперативного вмешательства: сразу после интубации животного, до начала ИК, на момент начала ИК, через 60 мин после отключения животного от ИК. Дискретно регистрировали содержание гемоглобина, гематокрит, сатурацию центральной венозной крови кислородом

(SvO₂), веноартериальный градиент CO₂ (Δ CO₂), уровень лактата и метгемоглобина (MetHb), кислотно-щелочное состояние крови, содержание нитритов, нитратов на газоанализаторе Stat Profile CCX (Nova Biomedical, США).

Для выделения мембран эритроцитов и дальнейшего определения коэффициентов их микровязкости осуществляли забор венозной крови в вакутейнеры с гепарином лития (17 МЕ/мл) в начале ИК и через 60 мин после отключения животного от ИК. Образцы крови центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. После удаления плазмы эритроцитарный осадок 3 раза отмывали охлажденным физиологическим раствором. Каждый раз эритроциты осаждали при 1500 об/мин в течение 10 мин. Мембраны эритроцитов получали путем гипоосмотического гемолиза, как описано ранее [9]. Количество общего белка в суспензии теней эритроцитов измеряли методом микро-Лоури в модификации S.T. Ohnishi [10] с использованием реактивов фирмы Sigma-Aldrich (США). Для определения спектральных характеристик образцы мембран эритроцитов разводили в 10мМ трис-НСl буфере (pH 7,4) до конечной концентрации белка 0,3 мг/мл. Характеристику структурных свойств липидной фазы мембран эритроцитов проводили с использованием определения интенсивности спектральных пиков при ее взаимодействии с флуоресцентным зондом пирен (Sigma-Aldrich) на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian, США). К 2 мл суспензии мембран эритроцитов добавляли 20 мкл 10 мМ спиртового раствора пирена. Микровязкостные свойства мембран в области аннулярных и общих липидов оценивали по степени эксимеризации пирена, вычисляя отношение интенсивности флуоресценции эксимеров и мономеров (J_{470}/J_{370}) при длине волны возбуждающего света (λ_b) 285 нм и 340 нм соответственно [11, 12]. Полярность аннулярных и общих липидов анализировали по отношению амплитуд вибронных пиков мономеров (J_{390}/J_{370}) при $\lambda_b = 285$ и $\lambda_b = 340$ нм [11, 12].

Применение критерия Шапиро – Уилка показало нормальность распределения количественных показателей, результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Различия между показателями анализировали с помощью критерия Стьюдента для независимых или зависимых групп.

Результаты

В табл. 1 представлены коэффициенты микровязкости (J_{470}/J_{370}) и полярности (J_{390}/J_{370}) в области белок-липидных ($\lambda_b = 285$ нм) и липид-липидных взаимодействий ($\lambda_b = 340$ нм), полученные для мембран эритроцитов баранов в группах ИК и

Таблица 1. Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов при введении NO в ингаляционный контур

Table 1. Coefficients of microviscosity and polarity of sheep erythrocyte membranes with the introduction of NO into the inhalation circuit

Группа животных	Этап оперативного вмешательства	Коэффициент микровязкости, отн. ед.		Коэффициент полярности, отн. ед.	
		Липид-липидные контакты	Белок-липидные контакты	Липид-липидные контакты	Белок-липидные контакты
ИК, $n = 10$	До ИК	0,29±0,102	0,40±0,107	1,05±0,011	4,95±0,796
	60 мин после ИК	0,28±0,087	0,19±0,058*	1,05±0,015	3,42±0,499*
ИК+NO, $n = 10$	До ИК	0,25±0,115	0,43±0,150	1,04±0,028	5,04±0,666
	60 мин после ИК	0,25±0,022	0,40±0,147 [#]	1,05±0,017	5,08±0,428 [#]

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей: * – до ИК ($p < 0,001$), [#] – группы ИК ($p < 0,01$).

ИК+NO. Применение аппарата ИК способствовало значимому ($p < 0,001$) снижению коэффициента микровязкости в зоне белок-липидных контактов эритроцитов баранов контрольной группы, коэффициент микровязкости в зоне общих липидов не изменялся. Со стороны коэффициента полярности мембран на заключительном этапе операции зафиксированы аналогичные изменения. Как видно из табл. 1, подача NO в дозе 80 ppm

через контур аппарата ИВЛ сразу после интубации трахеи животного предупреждала уменьшение коэффициентов микровязкости и полярности в области белок-липидных взаимодействий.

В табл. 2 представлены значения основных показателей метаболизма, адекватности механической перфузии, безопасности NO-кондиционирования, общего гомеостаза и гомеостаза NO в организме животных. Анализ попарного

Таблица 2. Показатели красной крови, обмена кислорода и метаболизма NO на этапах операции в экспериментальных группах животных

Table 2. Parameters of red blood, oxygen exchange, and NO metabolism at the stages of surgery in experimental groups of animals

Показатель	Группа	Этап оперативного вмешательства			
		Интубация трахеи	Начало ИК	60 мин после отлучения от ИК	p
Содержание гемоглобина, г/л	ИК ИК+NO	95,50 ± 5,61 97,00 ± 4,10	94,50 ± 3,99 98,00 ± 1,79	83,83 ± 4,31 82,83 ± 4,71	0,00001 0,000002
Гематокрит, %	ИК ИК+NO	29,00 ± 1,52 28,33 ± 2,42	27,67 ± 1,63 27,33 ± 1,75	24,83 ± 3,06 22,50 ± 2,95	0,0378 0,00016
Содержание MetHb, %	ИК ИК+NO	0,45 ± 0,16 0,45 ± 0,30	0,48 ± 0,21 1,22 ± 0,21*	0,58 ± 0,14 2,20 ± 0,34*	0,194 0,00013
ΔCO_2 , мм рт. ст.	ИК ИК+NO	2,83 ± 1,47 3,00 ± 1,55	2,66 ± 1,37 3,66 ± 2,16	3,50 ± 1,64 4,01 ± 1,78	0,526 0,455
SvO ₂ , %	ИК ИК+NO	70,0 ± 3,29 75,5 ± 3,33	71,60 ± 2,42 74,66 ± 2,65	71,01 ± 2,52 78,66 ± 6,43	0,583 0,156
Содержание лактата, ммоль/л	ИК ИК+NO	1,70 ± 0,76 1,43 ± 0,53	1,66 ± 0,64 1,40 ± 0,41	3,61 ± 0,71 3,51 ± 0,61	0,0024 0,0002
Содержание свободного гемоглобина, г/л	ИК ИК+NO	6,50 ± 2,07 6,17 ± 2,79	8,00 ± 3,69 7,67 ± 2,73	47,5 ± 6,44 49,5 ± 4,18	0,00002 0,00011
Содержание NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	ИК ИК+NO	5,97 ± 0,671 6,92 ± 1,686	6,07 ± 0,624 6,89 ± 0,736	6,78 ± 1,486 7,31 ± 1,138	0,616 0,688
Содержание NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	ИК ИК+NO	18,21 ± 1,591 37,02 ± 14,435*	22,21 ± 1,797 57,21 ± 14,885*	18,376 ± 2,098 45,85 ± 9,402*	0,286 0,013
Содержание NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	ИК ИК+NO	24,21 ± 1,797 43,92 ± 15,281*	28,21 ± 1,491 64,10 ± 14,733*	25,09 ± 2,179 55,88 ± 9,177*	0,158 0,023

Примечание: * – обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей группы ИК.

сравнения динамики показателей между группами животных выявил внутригрупповые различия: в процессе проведения операции у животных групп ИК и ИК+NO отмечено статистически значимое снижение содержания гемоглобина (на 12,7 и 14,6 % соответственно) и гематокрита (на 14,4 и 20,6 % соответственно). При межгрупповом сравнении показателей значимых различий не обнаружено. В обеих группах животных на 60-й минуте отлучения от ИК отмечено достоверное увеличение концентрации лактата относительно исходных показателей на 112,3 % в группе ИК и на 145,5 % в группе ИК+NO. Межгрупповых различий по данному показателю не выявлено. В этот же период в крови животных обеих групп наблюдался статистически значимый подъем концентрации свободного гемоглобина (см. табл. 2).

Мониторирование концентрации в плазме крови метаболитов NO показало статистически значимое двукратное повышение содержания нитратов и суммарной концентрации нитратов и нитритов у животных группы ИК+NO на всех этапах оперативного вмешательства в сравнении с группой ИК (см. табл. 2). Наряду с этим отмечено достоверное увеличение уровня NO_3^- и $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ на 60-й минуте после отлучения от ИК в сравнении с показателями при интубации трахеи.

Известно, что NO относится к метгемоглобинообразователям. С целью контроля за концентрацией MetHb в плазме крови в процессе операции проводился мониторинг его уровня. В группе ИК не отмечалось значимых изменений уровня MetHb в плазме крови. В группе ИК+NO через 60 мин после отлучения от ИК зафиксировано почти 5-кратное повышение содержание MetHb, которое значимо превышало исходное значение показателя в этой группе животных и величину в группе ИК на соответствующем этапе операции (см. табл. 2). При кондиционировании животных NO не отмечено случаев превышения концентрации MetHb в крови верхней границы референсных значений – 5 %.

Обсуждение

Важной задачей при проведении хирургических вмешательств с применением ИК является сохранение жизнеспособности органов, в первую очередь сердца. На протяжении последних лет наблюдается активный интерес исследователей к изучению молекулярных механизмов органопroteкции, опосредованной NO.

Микровязкость и полярность служат важными характеристиками структурно-функционального состояния биологических мембран.

Регуляция состава фосфолипидов и степени насыщенности жирнокислотных остатков в клеточных мембранах основана на связи между процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ), с одной стороны, и скоростью обновления липидов – с другой [13]. Усиление активности процессов ПОЛ сопровождается изменением липидного состава, что, в свою очередь, приводит к изменению вязкости и заряда молекул фосфолипидов липидного бислоя. Состояние аннулярных липидов и мембранных белков находится в тесной взаимосвязи и взаимозависимости [14]. Белки так же, как и липиды, подвергаются модифицирующему влиянию активных форм кислорода [15]. Окисление белков сопровождается образованием внутримолекулярных сшивок и изменением зарядов аминокислотных остатков. Результаты наших экспериментальных исследований свидетельствуют об отсутствии изменений микровязкости и полярности в липидном бислое мембран эритроцитов баранов при проведении операционных манипуляций, имитирующих ИК с применением ИВЛ. В то же время выполнение операции с ИК сопровождается повышением микровязкости и полярности в области белок-липидных контактов мембран эритроцитов, о чем свидетельствует выявленное нами уменьшение абсолютных значений соответствующих коэффициентов. Изменение структурно-функциональных свойств в зоне аннулярных липидов эритроцитарных мембран на окончательном этапе проведения операции может быть обусловлено усилением активности процессов свободнорадикального окисления липидов и белков. Правомочность такого объяснения доказана многочисленными исследованиями содержания продуктов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов при проведении кардиохирургических операций с использованием ИК у пациентов с ИБС [16, 17]. Молекула гемоглобина, а возможно, и продукты ее взаимодействия с метаболитами NO могут тормозить развитие реакций ПОЛ, т. е. выступать в роли антиоксидантов [18, 19].

Настоящее экспериментальное исследование, выполненное на баранах, полностью имитировало операцию в условиях ИК. По нашим данным, применение NO в концентрации 80 ppm не отразилось на показателях красной крови (содержание гемоглобина, гематокрит) и газового состава крови (ACO_2 , SvO_2). Отмеченное увеличение концентрации метаболитов NO, MetHb и лактата в процессе NO-кондиционирования не повлияло на метаболический профиль, отражающий адекватность проведения экстракорпоральной перфузии. В пользу отсутствия повреждающего эффекта у NO, используемого в дозе 80 ppm, свидетель-

ствуется и тот факт, что мы не выявили изменений показателей микровязкости и полярности мембран эритроцитов животных в группе ИК+NO. Это утверждение не противоречит данным о том, что эффекты, индуцированные введением в организм животных токсической дозы метгемоглобинообразователя нитрата натрия, реализуются за счет возрастания микровязкости липидной фазы, снижения абсолютного числа общих липидов и фосфолипидов в мембранах эритроцитов, увеличения доли холестерина, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина и фосфатидилсерина [20].

Заключение

Внесение NO в контур экстракорпоральной циркуляции в концентрации 80 ppm способствует нивелированию изменений показателей структурно-функционального состояния мембран эритроцитов, отмеченных при проведении кардиохирургических операций, что способствует поддержанию нормальной функции клеток организма. Использование NO, полученного по технологии плазмохимического синтеза, с целью органопротекции является безопасным, легко воспроизводимым и хорошо контролируемым методом.

Список литературы / References

1. Yu L., Zhu K., Du N., Si Y., Liang J., Shen R., Chen B. Comparison of hybrid coronary revascularization versus coronary artery bypass grafting in patients with multivessel coronary artery disease: a meta-analysis. *J. Cardiothorac. Surg.* 2022;17(1):147. doi: 10.1186/s13019-022-01903-w
2. van den Eynde J., Bomhals K., Noé D., Jacquemyn X., McCutcheon K., Bennett J., Puskas J.D., Oosterlinck W. Revascularization strategies in patients with multivessel coronary artery disease: a Bayesian network meta-analysis. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2022;34(6):947–957. doi: 10.1093/icvts/ivab376
3. Kalogeris T., Baines C.P., Krenz M., Korthuis R.J. Ischemia/Reperfusion. *Compr. Physiol.* 2016;7(1):113–170. doi: 10.1002/cphy.c160006
4. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radic. Biol. Med.* 2018;117:76–89. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.024
5. Szocs K. Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *Gen. Physiol. Biophys.* 2004;23(3):265–295.
6. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115(23):5839–5848. doi: 10.1073/pnas.1804932115
7. Малахова З.Л., Васина Е.Ю., Власов Т.Д. Эндотелий-зависимая вазодилатация сосудов кожи здорового человека: оксид азота или гиперполяризующий фактор? *Рос. физиол. ж.* 2017; 103(8):930–939.
8. Malakhova Z.L., Vasina E.Yu., Vlasov T.D. Endothelium-dependent vasodilatation of the skin of a healthy man: nitrogen oxide or hyperpolarizing factor? *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology*. [In Russian]. 2017;103(8):930–939.
9. Guide for the care and use of laboratory animals: Eighth Edition. Washington: The National Academies Press, 2011.
10. Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Путрова О.Д., Попов С.В. Возрастзависимые особенности микровязкости мембран эритроцитов при экспериментальном кардиосклерозе. *Успехи геронтол.* 2012;25(4):644–647. doi: 10.1134/S2079057013030119
11. Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A., Putrova O.D., Popov S.V. Age-related features of erythrocyte membrane microviscosity in experimental cardiosclerosis. *Adv. Gerontol.* 2013;3:211–214. doi: 10.1134/S2079057013030119
12. Ohnishi S.T., Barr J.K. A simplified method of quantitating protein using the biuret and phenol reagents. *Anal. Biochem.* 1978;86(1):193–200. doi: 10.1016/0003-2697(78)90334-2
13. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов. М.: Наука, 1989. 277 с.
14. Dobretsov G.E. Fluorescent probes in the study of cells, membranes and lipoproteins. Moscow: Nauka, 1989. 277 p. [In Russian].
15. Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Путрова О.Д., Репин А.Н. Микровязкость мембран эритроцитов при хронической коронарной недостаточности у лиц средней и старшей возрастных групп. *Успехи геронтол.* 2014;27(3):457–462.
16. Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A., Putrova O.D., Repin A.N. Microviscosity of erythrocyte membranes in chronic coronary insufficiency in patients of middle and older age groups. *Adv. Gerontol.* 2015;5:45–49. doi: 10.1134/S2079057015010099
17. Sezgin E., Levental I., Mayor S., Eggeling C. The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2017;18(6):361–374. doi: 10.1038/nrm.2017.16
18. Revin V.V., Gromova N.V., Revina E.S., Prosnikova K.V., Revina N.V., Bochkareva S.S., Stepushkina O.G., Gruntyushkin I.P., Tairova M.R., Incina V.I. Effects of polyphenol compounds and nitrogen oxide donors on lipid oxidation, membrane-skeletal proteins, and erythrocyte structure under hypoxia. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:6758017. doi: 10.1155/2019/6758017
19. Akagawa M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical

approaches. *Free Radic. Res.* 2021;55(4):307–320. doi: 10.1080/10715762.2020.1851027

16. Ochoa J.J., Vilchez M.J., Palacios M.A., García J.J., Reiter R.J., Muñoz-Hoyos A. Melatonin protects against lipid peroxidation and membrane rigidity in erythrocytes from patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *J. Pineal. Res.* 2003;35(2):104–108. doi: 10.1034/j.1600-079x.2003.00061.x

17. Реброва Т.Ю., Шипулин В.М., Афанасьев С.А., Воробьева Е.В., Кийко О.Г. Опыт применения аскорбиновой кислоты как антиоксиданта у пациентов после операции коронарного шунтирования с использованием искусственного кровообращения. *Кардиология.* 2012;52(7):73–76.

Rebrova T.Yu., Shipulin V.M., Afanasiev S.A., Vorobieva E.V., Kiyko O.G. The experience of the application of ascorbinic acid as antioxidant after coronary artery surgery with use of cardiopulmonary bypass. *Kardiologiya = Cardiology.* 2012;52(7):73–76. [In Russian].

18. Widmer C.C., Pereira C.P., Gehrig P., Vallengian F., Schoedon G., Buehler P.W., Schaer D.J. Hemoglobin can attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative stress by acting as an antioxidative peroxidase. *Antioxid. Redox. Signal.* 2010;12(2):185–198. doi: 10.1089/ars.2009.2826

19. Насыбуллина Э.И., Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Влияние метаболитов оксида азота на образование мембраносвязанного гемоглобина в условиях карбонильного стресса. *Труды Карельского научного центра РАН.* 2018;(4):93–104. doi: 10.17076/them814

Nasybullina E.I., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. Effect of nitric oxide metabolites on the formation of membranebound hemoglobin under carbonyl stress. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2018;(4):93–104. [In Russian]. doi: 10.17076/them814

20. Филиппова О.Н., Шперлинг И.А., Рогов О.А., Сапрыкина Э.В., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Механизмы повреждения эритроцитов при токсическом действии метгемоглобинообразователей. *Бюл. сиб. мед.* 2006;5(1):32–37.

Filippova O.N., Shperling I.A., Rogov O.A., Saprykina E.V., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V. Mechanisms of erythrocytes' damage after toxic effects of methemoglobin poisons. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine.* 2006;5(1):32–37. [In Russian].

Сведения об авторах:

Реброва Татьяна Юрьевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-3667-9599, e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru
Подоксенов Юрий Кириллович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-8939-2340, e-mail: uk@cardio-tomsk.ru
Афанасьев Сергей Александрович, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: tytsky@cardio-tomsk.ru
Каменщиков Николай Олегович, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4289-4439, e-mail: no@cardio-tomsk.ru
Корепанов Вячеслав Андреевич, ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: vakorep41811@gmail.com
Дьякова Мария Леонидовна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-9353-7234, e-mail: prima.maria@mail.ru

Information about the authors:

Tatiana Yu. Rebrova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-3667-9599, e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru
Yuriy K. Podoksenov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8939-2340, e-mail: uk@cardio-tomsk.ru
Sergey A. Afanasiev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: tytsky@cardio-tomsk.ru
Nikolay O. Kamenshchikov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4289-4439, e-mail: no@cardio-tomsk.ru
Vyacheslav A. Korepanov, ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: vakorep41811@gmail.com
Mariya L. Diakova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-9353-7234, e-mail: prima.maria@mail.ru

Поступила в редакцию 11.05.2022

После доработки 11.06.2023

Принята к публикации 13.07.2023

Received 11.05.2022

Revision received 11.06.2023

Accepted 13.07.2023

Интегральная оценка лимфатического региона щитовидной железы при фитокоррекции последствий гипотиреоза

В.Н. Горчаков^{1,2}, К.М. Николайчук¹, Г.А. Демченко³, Б.А. Нурмаханова³, О.В. Горчакова¹

¹ Новосибирский государственный университет

630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

² НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –

филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ Институт генетики и физиологии

Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

Республика Казахстан, 050060, г. Алма-Ата, пр. Аль-Фараби, 93

Резюме

До настоящего времени остается малоизученным интегративное участие структур лимфатического региона щитовидной железы в обеспечении тканевого гомеостаза при гипотиреозе и в период реабилитации после заместительной терапии. Привлекательным является использование фитотерапии в уменьшении последствий гипотиреоза, что требует обоснования ее назначения на этапе реабилитации. **Материал и методы.** Работа выполнена на 160 белых крысах Wistar с использованием методов световой и электронной микроскопии, данных морфометрии и статистического матричного анализа. Гипотиреоз моделировали приемом мерказолила, после отмены препарата исследовали обратимость изменений щитовидной железы и регионарного лимфоузла в период реабилитации (на 7-, 14-, 21-е сутки) на фоне приема биоактивного фитосбора и без него. Фитопрепарат, содержащий ламинарию и лекарственные растения Сибири, использовали в дозе 0,2 г/кг в течение трех недель после отмены мерказолила. **Результаты и их обсуждение.** Исследование показало однонаправленное изменение структуры щитовидной железы и лимфоузла с преимущественным уменьшением показателей при гипотиреозе. В период восстановления без фитокоррекции величина суммарного нормированного индекса для лимфатического региона имеет отрицательное значение в течение 14 суток и только к концу 21-х суток исследования становится положительной, как свидетельство инертности структурного ответа органов. Фитотерапия обеспечивает высокие показатели нормированного индекса для лимфотиреостата, который становится положительным, начиная с 14-х суток. Имеет место интенсификация компенсаторно-приспособительных реакций на всех уровнях организации лимфотиреостата, начиная с ультраструктурного. Существенный вклад в обеспечение гомеостаза вносит лимфатический узел. **Заключение.** Реорганизация лимфатического узла и щитовидной железы взаимосвязаны при гипотиреозе. Очевидна активная роль лимфатического узла в обеспечении тканевого гомеостаза в лимфатическом регионе щитовидной железы, которая может быть усилена фитотерапией. Фитосбор – своеобразный модификатор структуры и функции щитовидной железы и лимфатического узла, уменьшающий последствия гипотиреоза.

Ключевые слова: морфология, щитовидная железа, лимфоузел, гипотиреоз, фитотерапия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке и в рамках научного проекта AP05133060 МОН РК и по научно-практическому договору между НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН и Институтом генетики и физиологии Республики Казахстан

Автор для переписки: Горчаков В.Н., e-mail: vgorchak@yandex.ru

Для цитирования: Горчаков В.Н., Николайчук К.М., Демченко Г.А., Нурмаханова Б.А., Горчакова О.В. Интегральная оценка лимфатического региона щитовидной железы при фитокоррекции последствий гипотиреоза. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):108–116. doi: 10.18699/SSMJ20230613

Integral evaluation of thyroid lymphatic region in phytocorrection of hypothyroidism consequences

V.N. Gorchakov^{1,2}, K.M. Nikolaychuk¹, G.A. Demchenko³, B.A. Nurmakhanova³, O.V. Gorchakova¹

¹ Novosibirsk State University

630090, Novosibirsk, Pirogova st., 2

² Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –

Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS

630117, Novosibirsk, Timakova st., 2

³ Institute of Genetics and Physiology

of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan

Republic Kazakhstan, 050060, Almaty, Al-Farabi ave., 93

Abstract

To date, the integrative involvement of thyroid lymphatic region structures in providing tissue homeostasis in hypothyroidism and during rehabilitation remains a poorly understood problem. The use of phytotherapy is attractive for reducing the effects of hypothyroidism. This issue requires scientific justification during the rehabilitation phase. **Material and methods.** The work was performed on 160 white Wistar rats using light and electron microscopy according, data of morphometry and statistical matrix analysis. An adequate model of hypothyroidism was created by mercazolil administration. After the mercazolil withdrawal, we investigated the reversibility of thyroid and regional lymph node changes during the rehabilitation period (on 7, 14, 21 days) on the background of bioactive phytocomposition intake and without it. Phytocomposition from laminaria and medicinal plants of Siberia was used at a dose of 0.2 g/kg for three weeks after the cancellation of mercazolil. **Results and discussion.** The study showed a unidirectional change in thyroid and lymph node structure with a preferential decrease in indicators in hypothyroidism. The value of the total normalized index for the lymphatic region (lymphothyroostat) is negative during the recovery period without phytocorrection. The index has a negative value initially and up to 14 days and becomes positive only by the end of 21 days of the study reflecting the inertia of the structural response of organs. Phytotherapy provides high rationed index rates for lymphothyroostat. The index becomes positive starting at day 14. There is an intensification of compensatory and adaptive reactions at all levels of lymphothyroostat organization, starting with ultrastructural. The lymph node contributes significantly to the provision of homeostasis of the lymph region of the thyroid gland. **Conclusions.** Reorganization of the lymph node and thyroid gland is interconnected in hypothyroidism. The active role of the lymph node in providing tissue homeostasis in the lymph region of the thyroid is apparent. Thyroid and lymph node function can be enhanced by phytotherapy. Phytocomposition reduces the effects of hypothyroidism. It is a kind of modifier of thyroid and lymph node structure and function

Key words: morphology, thyroid, lymph node, hypothyroidism, phytotherapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

Financing. The work was carried out with the support and within the framework of the scientific project AP05133060 the Ministry of Education of Kazakhstan and on the scientific and practical agreement of RICEL – branch of Institute of Cytology and Genetics of SB RAS and “Institute of Genetics and Physiology” of the Republic of Kazakhstan.

Correspondence author: Gorchakov V.N., e-mail: vgorchak@yandex.ru

Citation: Gorchakov V.N., Nikolaychuk K.M., Demchenko G.A., Nurmakhanova B.A., Gorchakova O.V. Integral evaluation of thyroid lymphatic region in phytocorrection of hypothyroidism consequences. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):108–116. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230613

Введение

В настоящее время тиреоидная дисфункция рассматривается как сложный комплекс проявления морфологических, иммунных и метаболических изменений со стороны органов и тканей организма [1, 2]. Значение состояния периферических лимфоидных органов в формировании патологии щитовидной железы требует особого внимания из-за синергизма функционирования

органа и его лимфатической системы. Практически отсутствуют исследования сочетанных корреляционных взаимоотношений щитовидной железы и лимфоузла. Прогнозировать такие взаимодействия достаточно сложно, и приоритетным направлением считается идентификация процессов, происходящих одновременно в щитовидной железе и регионарном лимфоузле в рамках концепции лимфатического региона [3].

Среди тиреоидных дисфункций гипотиреоз занимает особое место из-за ассоциации с патологией внутренних органов при нарушенных эндокринно-иммунных взаимодействиях на уровне лимфорегиона [4, 5]. Не меньший интерес вызывает роль лимфоузла в генезе тиреопатии. Именно регионарный лимфоузел осуществляет дренаж тканевого микрорайона щитовидной железы, будучи ключевым элементом лимфатического русла [3, 6]. Исследованиями последних лет подтверждается факт участия лимфоидной ткани в патогенезе гипотиреоза, что требуется переосмыслить, исходя из современной интеграции эндокринологии и лимфологии.

Гипотиреоз требует специальных терапевтических подходов, одним из которых может быть фитодиета (фитонутритивная поддержка). В основе фитотерапии лежит применение лекарственных растений как источника флавоноидов и биоэлементов, необходимых для поддержания работы лимфоидных и эндокринных органов [5–8]. Остается неизученным влияние фитонутриентной поддержки на обратимость тканевых изменений в постгипотиреозный период. Цель работы – сопоставить изменения щитовидной железы и регионарного лимфоузла с их интегральной оценкой в период фитореабилитации гипотиреоза.

Материал и методы

Исследование выполнялось в рамках научного проекта АР05133060 МОН РК. При работе с животными соблюдали принципы гуманности в соответствии с директивами Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Дизайн эксперимента включал 160 крыс-самцов популяции Wistar, поделенных на группы: 1 – контрольная (эутиреоз); 2 – опытная (гипотиреоз, индуцированный мерказолилом); 3 и 4 – реабилитационные с фитонутриентной поддержкой и без нее после отмены мерказолила.

Для создания модели гипотиреоза выбрано антигипотиреодное средство с торговым названием мерказолил (международное непатентованное название тиамазол) («АО Акрихин ХФК», Россия). Приготовленную водную суспензию измельченных таблеток мерказолила давали животным перорально с помощью пипетки в суточной дозе 5 мг на 100 г массы тела в течение месяца [9].

Учитывая принципы фитотерапии [8], в фитонутриентной поддержке использовали готовые фитопрепараты, оформленные как биологически активные добавки, IQdetoxSORB (НПФ «СИБ-КРУК», Кольцово, Новосибирск) и ламинарию (ЗАО «Эвалар», Бийск). IQdetoxSORB представляет собой порошок механохимического измель-

чения растений (семена льна, копеечник чайный (*Hedysarum theinum* Krasnob), бадан толстолистный (*Bergenia crassifolia*), шиповник майский (*Rosa majalis* Herrm.), смородина черная (*Ribes nigrum* L.), родиола розовая (*Rhodiola rosea*), черника миртолистная (*Vaccinium myrtillus*), брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea*), тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.). Суточная доза комбинированного фитопрепарата составляла 200 мг/кг, ее давали перорально вместе с кормом в течение 21 дня постгипотиреозного периода. Для морфологического исследования забор органов осуществляли на 7-, 14- и 21-е сутки после отмены мерказолила.

Методами световой и электронной микроскопии исследовали щитовидную железу. Для световой микроскопии предварительная подготовка образцов включала формоловую фиксацию, затем гистологическую проводку с конечной заливкой в парафин и изготовление срезов, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Мы использовали Image-Pro Plus – программное обеспечение для анализа изображений с определением количественных показателей для характеристики тиреоцитов, фолликула, коллоида, интер- и фолликулярного эпителиев, интерстиция, сосудов с последующим расчетом диаметра, площади по известным формулам и интегральных показателей функции тиреоидной паренхимы [10, 11].

Для электронной микроскопии кусочки щитовидной железы проходили фиксацию глутаровым альдегидом, тетраоксидом осмия и контрастирование уранилацетатом при дегидратации, затем образцы помещали в синтетические смолы. Полутонкие срезы окрашивали толудиновым синим. В электронном микроскопе JEM 1010 (JEOL Ltd., Япония) исследовали ультратонкие срезы и получали электронограммы щитовидной железы для морфометрии по рекомендациям Международного стереологического общества.

Лимфоузлы аналогично подвергались гистологической проводке с конечной парафиновой заливкой. При окраске срезов использовали гематоксин и эозин, азур и эозин. Далее следовал анализ лимфоузла, предусматривающий точечный метод счета для определения объемной плотности каждого компартмента по определенному алгоритму [12].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m) и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$. Кроме этого использован альтернативный матричный

статистический метод [13], где основой является нормирование признаков с демонстрацией отклонения от среднего арифметического по формуле:

$$Np = \frac{Xp - \bar{Xk}}{Sd},$$

где Np – нормированное значение, Xp – действительное значение, \bar{Xk} – среднее арифметическое, Sd – стандартное отклонение. Для каждой структуры органа и в целом для лимфотиреостата вычисляли нормированные значения и их среднее арифметическое (общий нормированный индекс (ОНИ)).

Результаты и их обсуждение

Развитие лимфологии сопровождается методологическими подходами к структурированию

лимфатической системы и сопряженных с ней органов. Это привело к появлению терминов «лимфатический гомеостат», или «лимфостат» [14], «лимфатический регион» [3]. Шагом вперед является объединение щитовидной железы и лимфоузла в одну комплексную функциональную систему – лимфотиреостат [5]. Изучение каждого из органов лимфотиреостата позволит дать им интегральную оценку в условиях гипотиреоза и в реабилитационный период при фитонутриентной поддержке.

Отмена мерказолила приводит к медленному восстановлению структуры органов в лимфотиреостате, что демонстрирует динамика морфометрических показателей щитовидной железы и регионарного лимфоузла (табл. 1). Морфоло-

Таблица 1. Результаты морфометрического анализа щитовидной железы

Table 1. Thyroid morphometric analysis results

Показатель	Эутиреоз (контроль)	Гипотиреоз (мерказолил)	Период после отмены мерказолила					
			7-е сутки		14-е сутки		21-е сутки	
			Без фитонутриентной поддержки	С фитонутриентной поддержкой	Без фитонутриентной поддержки	С фитонутриентной поддержкой	Без фитонутриентной поддержки	С фитонутриентной поддержкой
Диаметр фолликула, мкм	108,90 ± 5,84	43,93 ± 2,28*	71,51 ± 6,75*.*	100,9 ± 10,00 [#]	69,73 ± 4,54*.*	94,91 ± 11,43 [#]	66,96 ± 4,80*.*	98,83 ± 7,92 [#]
Фолликулярный эпителий, Vv (%)	11,42 ± 0,72	18,75 ± 1,49*	11,50 ± 0,77 [#]	12,33 ± 0,55 [#]	9,75 ± 0,50	15,75 ± 0,22 [#]	10,54 ± 0,22 [#]	11,33 ± 0,72 [#]
Коллоид, Vv (%)	46,75 ± 2,21	28,00 ± 0,66*	47,17 ± 1,55 [#]	46,00 ± 2,60 [#]	24,50 ± 0,94*.*	38,42 ± 1,99*.*	33,21 ± 2,82*	41,92 ± 2,76 [#]
Интерфолликулярный эпителий, Vv (%)	1,75 ± 0,17	3,25 ± 0,11*	2,67 ± 0,17*.*	2,17 ± 0,17 [#]	4,25 ± 0,50*	4,92 ± 0,50*.*	5,21 ± 0,66*.*	2,17 ± 0,17 [#]
грЭПР, Vv (мкм ⁰ /мкм ²)	31,58 ± 3,57	26,51 ± 2,24	17,73 ± 2,28*.*	32,49 ± 3,24	33,58 ± 3,41	32,77 ± 3,63	30,44 ± 2,85	31,84 ± 3,44
Лизосомы, Vv (мкм ³ /мкм ³)	7,30 ± 0,61	4,29 ± 0,78*	4,74 ± 0,79*	8,36 ± 0,95 [#]	4,17 ± 0,73*	9,37 ± 0,45*.*	5,18 ± 0,61*	10,14 ± 0,71*.*
Митохондрии, Vv (мкм ³ /мкм ³)	6,64 ± 0,58	4,53 ± 0,42*	6,52 ± 0,54 [#]	8,31 ± 0,40*.*	7,57 ± 0,45 [#]	7,10 ± 0,46 [#]	5,02 ± 0,49	7,69 ± 0,43 [#]
Вакуоли, Vv (мкм ³ /мкм ³)	18,54 ± 1,33	13,82 ± 1,25	9,46 ± 1,41*	15,5 ± 1,06	12,8 ± 1,45*	12,18 ± 0,97*	16,04 ± 1,44	17,73 ± 0,72 [#]
Капли коллоида, Vv (мкм ³ /мкм ³)	3,01 ± 0,42	5,77 ± 0,55*	6,98 ± 0,82*	5,25 ± 0,58*	3,87 ± 0,81 [#]	5,37 ± 0,59*	4,04 ± 0,61	4,98 ± 0,43*
Интерстиций, Vv (%)	11,73 ± 1,29	21,81 ± 0,87*	13,09 ± 1,12 [#]	14,12 ± 1,30 [#]	22,19 ± 0,34*	15,45 ± 1,04 [#]	19,41 ± 1,83*	14,62 ± 1,83 [#]
Лимфатическое русло, Vv (%)	4,97 ± 0,37	2,30 ± 0,09*	3,23 ± 0,20*.*	4,04 ± 0,48 [#]	4,08 ± 0,19 [#]	3,84 ± 0,26*	4,12 ± 0,48 [#]	4,17 ± 0,48 [#]

Примечание. грЭПР – гранулярный эндоплазматический ретикулум; Vv – объемная плотность структур; обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей ($p < 0,05$): * – группы контроля, # – группы гипотиреоза (назначение мерказолила в течение 30 дней).

гически щитовидная железа имеет отчетливую фолликулярную организацию. После фитореабилитации в ней преобладают мелкие и крупные фолликулы, средний диаметр которых близок к аналогичному параметру при эутиреоидном состоянии. Без фитотерапии в структуре щитовидной железы преобладают мелкие и средние фолликулы, по среднему размеру занимающие промежуточное положение между фолликулами при гипо- и эутиреозе.

Фитонутриентная поддержка усиливает гетерогенность фолликулярной организации тиреоидной паренхимы из-за активации морфогенетических процессов [15]. Аналогичный эффект от приема фитонутриентов сказывается на величине площади и объема фолликула, коллоида, фолликулярного эпителия и проявляется с 7-х суток и до конца исследования (см. табл. 1). Показатели близки к эутиреоидному уровню, превышая значения при гипотиреоидном состоянии.

Заслуживает внимания объемная плотность коллоида, которая после отмены мерказолила увеличивается в 1,6–1,7 раза к 7-м суткам реабилитации в сравнении гипотиреозом независимо от фитонутриентной поддержки. Но в последующие сроки фитотерапия сохраняет изначально достигнутый объем коллоида, а ее отсутствие приводит к уменьшению его размеров до гипотиреоидного уровня к 14-м и 21-м суткам восстановительного периода (см. табл. 1). Очевидно, что фитокоррекция способствует накоплению коллоида, на что указывает высокое волюметрическое значение,

связанное с диаметром фолликула. Другим признаком внутриорганной перестройки является пролиферация фолликулярного эпителия, которая в условиях фитореабилитации приближается к эутиреоидному (контрольному) уровню, но меньше в 1,6–1,9 раза, чем при гипотиреозе (см. табл. 1). Проллиферация фолликулярного эпителия сохраняет функциональную активность щитовидной железы, повышая защитные ресурсы [15].

Без фитонутриентной поддержки сохраняются ультраструктурные признаки гипотиреоза с медленной динамикой восстановления (см. табл. 1). Фитореабилитация нивелирует признаки гипотиреозидизма, свидетельствуя о раннем позитивном влиянии на ультраструктуры тиреоцитов, характеризующие активность щитовидной железы.

Выявлено, что гипотиреоз приводит к уменьшению в 1,2 раза объемной плотности гранулярного эндоплазматического ретикула при избыточности коллоида (см. табл. 1; рис. 1). В восстановительный период после отмены мерказолила объемная плотность гранулярного эндоплазматического ретикула продолжает уменьшаться на 30–40 % к 7-м суткам, но с 14-х суток достигает уровня показателя при эутиреоидном статусе (см. табл. 1). Проводимая фитонутриентная поддержка обеспечивает раннее восстановление объемной плотности гранулярного эндоплазматического ретикула, начиная с 7-х суток и до конца исследования.

Прием мерказолила приводит к обеднению органеллами цитоплазмы тиреоцита в среднем

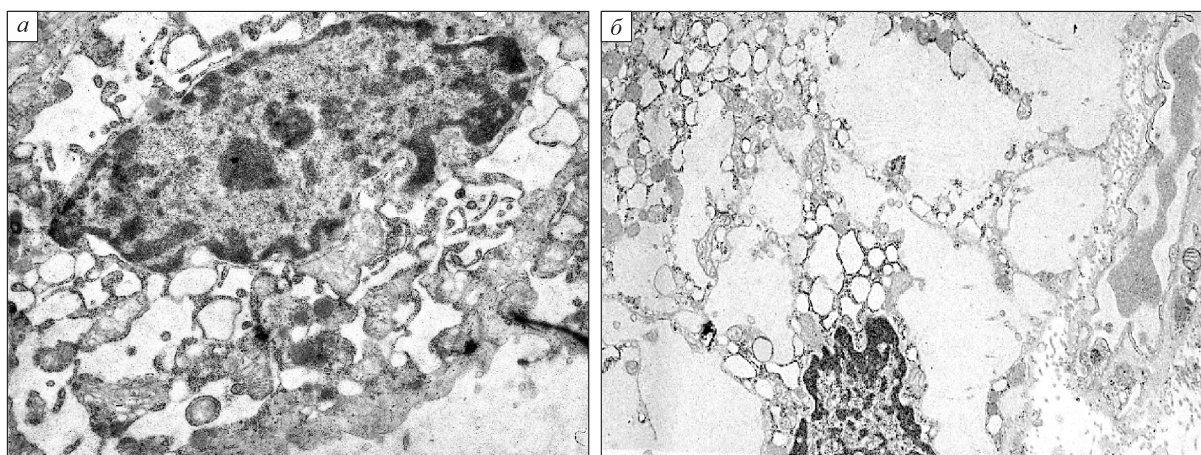


Рис. 1. Ультраструктурная организация тиреоцита при гипотиреозе (а) и на 7-е сутки реабилитации без фитонутриентной поддержки (б). Разная плотность органоидов, расширенный эндоплазматический ретикулум, избыточность накопления коллоида в цитоплазме тиреоцита. Электронограммы. Увеличение $\times 8000$

Fig. 1. Ultrastructural organization of thyrocyte in hypothyroidism (a) and on the 7th day of rehabilitation without phytonutrient support (b). Different density of organoids, expanded endoplasmic reticulum, excessive colloid accumulation in thyrocyte cytoplasm. Electronograms. Magnification $\times 8000$

на 25–40 % и сохранению этой закономерности на протяжении всего периода восстановления (см. табл. 1, рис. 1). Прием фитопрепарата, начиная с 7-х суток, статистически значимо увеличивает объемную плотность лизосом (в 2 раза), митохондрий (в 1,6–1,8 раза). Эндоцитозные пузырьки и лизосомы становятся более многочисленными, что косвенно свидетельствует об активности ферментов, участвующих в модификации тиреоглобулина до тиреоидных гормонов с выбросом их в кровь. Объемная плотность митохондрий находится на уровне контрольных значений во все сроки исследования (см. табл. 1), органеллы соприкасаются с мембранами эндоплазматического ретикула [16]. После приема фитонутриентов митохондрии увеличиваются и приобретают вытянутую форму, демонстрируя повышенное потребление энергии в данном участке клетки (рис. 2). Претерпевает изменения коллоидная система тиреоцитов. В их апикальной части прослеживается увеличение объемной плотности капель коллоида к концу эксперимента в результате фитокоррекции, как свидетельство функциональной активности тиреоцитов [17].

В характеристике стромально-паренхиматозных взаимоотношений большое внимание уделяется интерстицию, сосудам в межфолликулярном пространстве щитовидной железы (см. табл. 1). При гипотиреозе увеличивается размер интер-

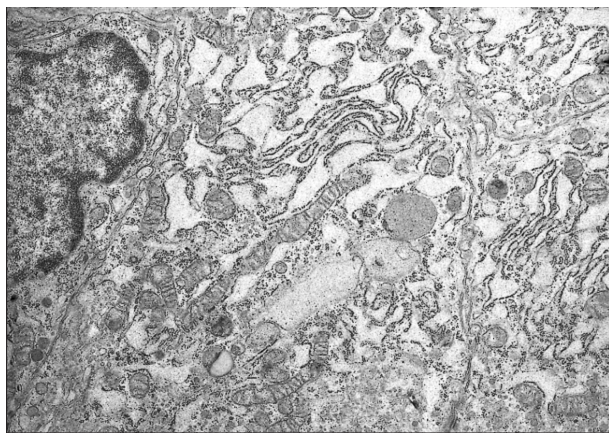


Рис. 2. Ультраструктурная организация тиреоцита на 7-е сутки фитореабилитации. Удлиненные формы митохондрий возле гранулярного эндоплазматического ретикула в цитоплазме тиреоцита. Электронограмма. Увеличение $\times 8000$

Fig. 2. Ultrastructural organization of thyrocyte on the 7th day of phytotherapy. There are elongated forms of mitochondria near the granular endoplasmic reticulum in the cytoplasm thyrocyte. Electronogram. Magnification $\times 8000$

стиция при уменьшении объемной плотности кровеносных и лимфатических сосудов. Происходит аккумуляция тканевой жидкости в межфолликулярном пространстве из-за ингибирования лимфатического дренажа в результате действия мерказолила. Фитонутриентная поддержка способствует нормализации циркуляции жидкости между интерстицием и сосудами, статистически значимо уменьшая его размер во все сроки исследования в сравнении с показателем при гипотиреозе (см. табл. 1). Одновременно возрастает почти в 2 раза объемная плотность лимфатического русла, демонстрируя активный лимфодренаж в отношении интерстициальной жидкости, постепенно увеличивается объемная плотность кровеносного русла (с $1,40 \pm 0,06$ % при гипотиреозе до $2,01 \pm 0,11$ % (7-е сутки фитонутриентной поддержки) и $3,01 \pm 0,21$ % (21-е сутки) ($p < 0,05$).

Наряду со щитовидной железой лимфоузел является важной составляющей частью лимфотиреостата. Нельзя рассматривать изолированно лимфоэндокринные взаимоотношения между органами при тиреоидной дисфункции и в период реабилитации. Прием мерказолила, оказывая антитиреоидное действие, одновременно угнетает работоспособность лимфоузла, уменьшая размеры компартментов – межфолликулярной области коры (корковое плато) (в 1,7 раза), лимфоидных узелков (фолликулов) (в 1,6 раза), паракортикальной области (1,5 раза) при увеличении в 2,1 раза мозгового лимфатического синуса (см. табл. 1, $p < 0,05$). Отмена мерказолила и фитонутритивная поддержка ускорили восстановление размерности интранодулярных компартментов. Межфолликулярная область и паракортекс рассматриваются как тимусзависимая область (Т-зона), отвечающая за клеточный иммунитет [12]. Фитонутриентная поддержка увеличивает в 1,9–1,7 раза паракортикальную область, начиная с 14-х суток исследования (табл. 2, $p < 0,05$), без фитотерапии интенсивность ее увеличения меньше. Корковое плато меняет свой размер поразному: без фитокоррекции оно увеличивается в 2,3 раза на 7-е и 21-е сутки и в 1,6 раза на 14-е сутки ($p < 0,05$), при фитонутриентной поддержке – соответственно в 1,7 и 2,3 раза ($p < 0,05$).

Наиболее реактивной структурой в ответ на фитостимуляцию оказались вторичные лимфоидные узелки, размеры их возросли в 2,6–2,7 раза после отмены мерказолила. Без фитонутритивной поддержки площадь вторичных узелков увеличилась в 1,4–2,4 раза, будучи статистически значимо меньше, чем при приеме фитосбора, во все сроки исследования (см. табл. 2). Имеют место однонаправленные изменения площади лимфоидных узелков и мозговых тяжей на фоне

Таблица 2. Результаты морфометрического анализа лимфатических узлов

Table 2. Lymph node morphometric analysis results

Структура	Эутиреоз (контроль)	Гипотиреоз (мерказолил)	Период после отмены мерказолила					
			7-е сутки		14-е сутки		21-е сутки	
			Без фитонутриентной поддержки	С фитонутриентной поддержкой	Без фитонутриентной поддержки	С фитонутриентной поддержкой	Без фитонутриентной поддержки	С фитонутриентной поддержкой
Субкапсулярный синус, %	0,70 ± 0,08	0,27 ± 0,06*	0,82 ± 0,07 [#]	0,55 ± 0,08	0,82 ± 0,11 [#]	0,74 ± 0,08 [#]	0,74 ± 0,13 [#]	0,66 ± 0,05 [#]
Корковое плато, %	2,34 ± 0,13	1,37 ± 0,16	3,20 ± 0,34 [#]	2,27 ± 0,17 ^{#,^}	2,19 ± 0,21 [#]	3,13 ± 0,17 ^{#,^}	3,16 ± 0,13 ^{*,#}	2,30 ± 0,08 ^{*,^}
Вторичный лимфоидный узелок, %	2,42 ± 0,11	1,48 ± 0,34*	2,89 ± 0,34 [#]	3,91 ± 0,25 ^{*,#,^}	2,11 ± 0,25	3,95 ± 0,13 ^{*,#,^}	3,55 ± 0,17 ^{*,#}	4,04 ± 0,30 ^{*,#,^}
Паракортекс, %	5,57 ± 0,26	3,76 ± 0,47*	6,29 ± 0,76 [#]	4,38 ± 0,25 ^{*,^}	5,27 ± 0,40 [#]	7,27 ± 0,38 ^{*,#,^}	4,10 ± 0,31*	6,58 ± 0,36 ^{*,^}
Мозговые тяжи, %	7,11 ± 0,38	6,80 ± 0,25	5,35 ± 0,21 ^{*,#}	8,21 ± 0,52 ^{*,^}	6,73 ± 0,38	7,81 ± 0,46	8,19 ± 0,39 [#]	7,58 ± 0,45
Мозговой синус, %	2,03 ± 0,17	4,30 ± 0,21*	2,38 ± 0,13 [#]	3,98 ± 0,21 ^{*,^}	3,55 ± 0,21*	4,86 ± 0,33 ^{*,^}	3,43 ± 0,24*	3,57 ± 0,25*

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей ($p < 0,05$): * – группы контроля, # – группы гипотиреоза (назначение мерказолила в течение 30 дней), ^ – группы без фитонутриентной поддержки.

фитонутриентной поддержки на 7-е сутки после отмены мерказолила. Увеличение площади, занимаемой лимфоидными узелками и мозговыми тяжами, отражает усиление пролиферативных процессов в результате фитотерапии. Лимфоидные узелки и мозговые тяжи входят в В-зону, отвечающую за гуморальный иммунитет [12].

Площадь мозгового лимфатического синуса характеризуется увеличением размера в сравнении с эутиреоидным статусом. Применение фитонутриентной поддержки не меняет ситуацию с расширением синусной системы и выполнением дренажной функции лимфоузла. Величина просвета мозгового синуса близка к значениям при гипотиреозе и превышает аналогичный показатель при эутиреозе (см. табл. 2).

Полученные результаты доказывают существование лимфоэндокринных взаимоотношений на уровне лимфотиреостата. Прием анти тиреоидного средства приводит к одновременным изменениям щитовидной железы и лимфоузла, демонстрирующих морфологические эквиваленты угнетения функций. Восстановить структуру и функцию обоих органов лимфотиреостата позволяет использование фитонутриентной поддержки.

В состав фитонутриентов входят биоактивные вещества – флавоноиды, биоэлементы, способные модифицировать структуру органов,

усиливая обратимость изменений, обусловленных гипотиреозом. Свидетельством этого могут быть нормированные индексы лимфотиреостата (рис. 3). Суммарный ОНИ для лимфотиреостата составляет –0,89 при гипотиреозе, который приводит также к уменьшению нормированных значений для щитовидной железы и лимфоузла как отражение однонаправленности структурных изменений. При этом степень их выраженности разная и связана с угнетающим действием мерказолила на тиреоидную паренхиму и лимфоидную ткань [4, 9]. Имеет место регуляторный дисбаланс в лимфотиреостате. Без фитокоррекции величина суммарного ОНИ для лимфотиреостата становится положительной только к 21-м суткам исследования. Фитонутриентная поддержка повышает величину суммарного ОНИ для лимфотиреостата в целом, делая его положительным, начиная с 14-х суток реабилитации (см. рис. 3). Величина суммарного ОНИ лимфотиреостата во многом зависит от состояния щитовидной железы и лимфоузла, реагирующих на фитореабилитацию. Лимфоузлу принадлежит существенная роль в обеспечении гомеостаза в лимфотиреостате. Важно, что составляющие лимфатический регион структуры функционируют как единое целое, и это функционирование может быть скорректировано посредством фитотерапии.

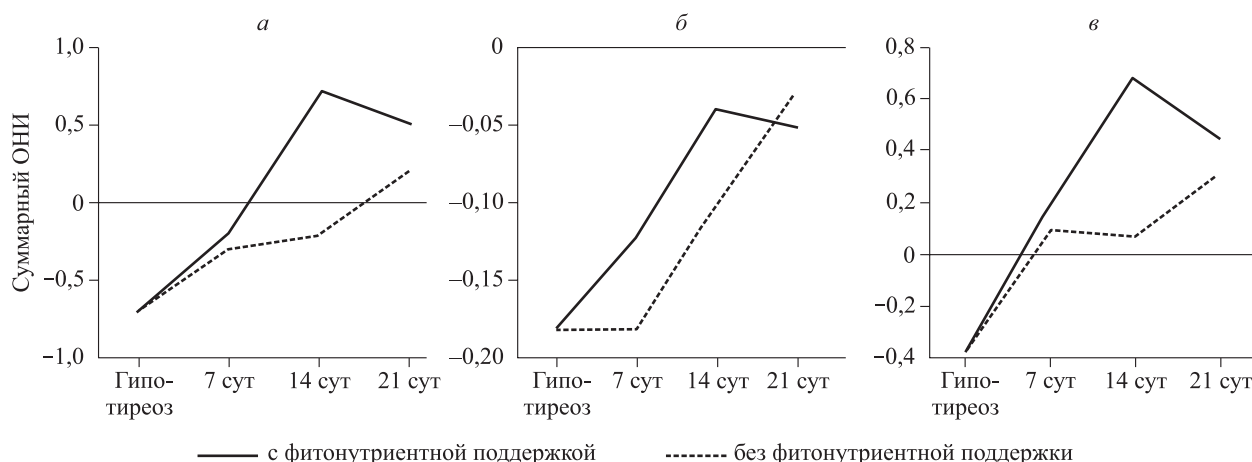


Рис. 3. Величина ОНИ для лимфотиреостата в целом (а), а также щитовидной железы (б) и лимфатического узла (в) в условиях гипотиреоза и после отмены мерказолила на фоне фитонутриентной поддержки и без нее

Fig. 3. Total normalized index (TNI) for the lymphothyrastat in general (а), as well as the thyroid gland (б) and the lymph node (в) under hypothyroidism and after mercazolil cancellation on the background of nutritional support and without it

Закключение

Понятие о лимфотиреостате позволило понять необходимость изучения одновременных изменений, происходящих в щитовидной железе и регионарном лимфоузле при нарушенном тиреоидном статусе. По данным интегральной оценки установлена однонаправленная дестабилизация обоих органов с выявлением морфологических эквивалентов снижения их функций при гипотиреозе. Восстановление работоспособности достигается применением фитонутриентной поддержки, что подтверждают нормированные индексы лимфотиреостата. Прием фитосбора нивелирует последствия гипотиреоза для щитовидной железы и лимфоузла после отмены мерказолила, приближая их к эутиреоидному состоянию. Фитотерапия – это модификатор структуры и функции лимфотиреостата с положительным эффектом при тиреопатии.

Список литературы

1. Medical management of thyroid disease. Ed. D.S. Cooper. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, 2009. 474 p. doi: 10.3109/9781420070651
2. Калашникова С.В. Гормональная дисрегуляция как компонент хронического эндотоксикоза: автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2009.
3. Бородин Ю. Концепция лимфатического региона в профилактической лимфологии. Саарбрюккен: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. 80 с.
4. Аухатова С.Н. Морфофизиологическое обоснование применения биостимуляторов для свиней в биогеохимической провинции с недостаточностью йода: автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2009.
5. Андросов В.Н. «Фоновые» лимфотропные средства курортной реабилитации пациентов с гипотиреозом. *Бюл. СО РАМН*. 2005;(1):102–104.
6. Gorchakova O., Kolmogorov Yu., Gorchakov V., Demchenko G. Interrelation of trace elements and the structural organization of lymph nodes at young and senile age. *Archiv Euromedica*. 2020;10(2):22–25. doi: 10.35630/2199-885X/2020/10/2.6
7. Основы общеклинической лимфологии и эндозкологии. Практическому врачу новые идеи и технологии доказательной медицины. Ред. Ю.М. Левин. М.: Щербинская типография, 2003. 464 с.
8. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия). М.: Медицина, 1990. 464 с.
9. Васильева Л.С., Изатулин В.Г., Семенов А.А., Манюк Е.С. Структура щитовидной железы при коррекции экспериментального гипо- и гипертиреоза препаратом «Баякон». *Морфол. ведомости*. 2004;(1-2):19–26.
10. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. СПб.: СОТИС, 2002. 284 с.
11. Никишин Д.В. Морфология и методы исследования щитовидной железы: Методические рекомендации. Пенза: ПТУ, 2008. 64 с.
12. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. СПб.; Казань, 1999. 328 с.
13. Златев С.П., Димитров И.Д. Анализ и оценка иммунного статуса при помощи матричного статистического метода. *Иммунология*. 1991;(2):46–49.
14. Калинин А.В. Системные нарушения метаболизма при синдроме длительного сдавления: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 1998.
15. Мавраева М.А. Функциональная морфология щитовидной железы при воздействии

бальнеологических факторов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Махачкала, 2007.

16. Csordas G., Renken C., Varnai P. Walter I., Weaver D., Buttle K.F., Balla T., Mannella C.A., Hájnočzky G. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J. Cell. Biol.* 2006;174(7):915–921. doi: 10.1083/jcb.200604016

17. Silverstein S.C., Steinman R.M., Cohn Z.A. Endocytosis. *Annu. Rev. Biochem.* 1977;46:699–722. doi: 10.1146/annurev.bi.46.070177.003321

References

1. Medical management of thyroid disease. Ed. D.S. Cooper. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, 2009. 474 p. doi: 10.3109/9781420070651

2. Kalashnikova S.V. Hormonal dysregulation as a component of chronic endotoxemia: abstract of thesis... doct. med. sci. Moscow, 2009. [In Russian].

3. Borodin Yu. The concept of lymphatic region in preventive lymphology. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. 80 p. [In Russian].

4. Aukhatova S.N. Morphophysiological justification for the use of biostimulants for pigs in a biogeochemical province with iodine failure: abstract of thesis... doct. biol. sci. Moscow, 2009. [In Russian].

5. Androsov V.N. "Background" lymphotropic means of resort rehabilitation of patients with hypothyroidism. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences.* 2005;(1):102–104. [In Russian].

6. Gorchakova O., Kolmogorov Yu., Gorchakov V., Demchenko G. Interrelation of trace elements and the structural organization of lymph nodes at young and senile age. *Archiv Euromedica.* 2020;10(2):22–25. doi: 10.35630/2199-885X/2020/10/2.6

7. Basics of general clinical lymphology and endocology. To a practical doctor new ideas and technologies of evidence-based medicine. Ed. Yu.M. Levin.

Moscow: Shcherbinskaia tipografiya, 2003. 464 p. [In Russian].

8. Sokolov S.Ya., Zamotaev I.P. Handbook on medicinal plants (phytotherapy). Moscow: Meditsina, 1990. 464 p. [In Russian].

9. Vasilyeva L.S., Isatulin V.G., Semenov A.A., Manyuk E.S. Thyroid structure in correction of experimental hypo- and hyperthyroidism by preparation "Bayakon." *Morfologicheskiye vedomosti = Morphological Newsletter.* 2004;(1-2):19–26. [In Russian].

10. Khmelnytsky O.K. Cytological and histological diagnosis of thyroid diseases. Saint-Petersburg: SOTIS, 2002. 284 p. [In Russian].

11. Nikishin D.V. Morphology and thyroid research methods: Methodological recommendations. Penza: PTU, 2008. 64 p. [In Russian].

12. Belyanin V.L., Tsyplakov D.E. Diagnosis of reactive lymph node hyperplasias. Saint-Petersburg; Kazan, 1999. 328 p. [In Russian].

13. Zlatev S.P., Dimitrov I.D. Analysis and evaluation of immune status using a matrix statistical method. *Immunologiya = Immunology.* 1991;(2):46–49. [In Russian].

14. Kalinichenko A.V. Systemic metabolic disorders in long-term compression syndrome: abstract of thesis... doct. med. sci. Novosibirsk, 1998. [In Russian].

15. Mavraeva M.A. Functional morphology of the thyroid gland when exposed to balneological factors: abstract of thesis... cand. med. sci. Makhachkala, 2007. [In Russian].

16. Csordas G., Renken C., Varnai P. Walter I., Weaver D., Buttle K.F., Balla T., Mannella C.A., Hájnočzky G. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J. Cell. Biol.* 2006;174(7):915–921. doi: 10.1083/jcb.200604016

17. Silverstein S.C., Steinman R.M., Cohn Z.A. Endocytosis. *Annu. Rev. Biochem.* 1977;46:699–722. doi: 10.1146/annurev.bi.46.070177.003321

Сведения об авторах:

Горчаков Владимир Николаевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-8135-7842, e-mail: vgorchak@yandex.ru
Николайчук Кирилл Михайлович, ORCID: 0000-0001-8364-6066, e-mail: k.nikolaichuk@g.nsu.ru
Демченко Георгий Анатольевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-9906-2700, e-mail: georgiidemchenko@mail.ru
Нурмаханова Баян Абдисаламкызы, ORCID: 0000-0002-5923-3496, e-mail: bayan.nurmakh@mail.ru
Горчакова Ольга Владимировна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-7732-7587, e-mail: vgorchak@yandex.ru

Information about the authors:

Vladimir N. Gorchakov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-8135-7842, e-mail: vgorchak@yandex.ru
Kirill M. Nikolaychuk, ORCID: 0000-0001-8364-6066, e-mail: k.nikolaichuk@g.nsu.ru
Georgy A. Demchenko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-9906-2700, e-mail: georgiidemchenko@mail.ru
Bayan A. Nurmakhanova, ORCID: 0000-0002-5923-3496, e-mail: bayan.nurmakh@mail.ru
Olga V. Gorchakova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-7732-7587, e-mail: vgorchak@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.05.2023

После доработки 09.07.2023

Принята к публикации 09.07.2023

Received 21.05.2023

Revision received 09.07.2023

Accepted 09.07.2023

Влияние новых противоопухолевых соединений на основе производных азолазинов на уровень повреждений ДНК нормальных клеток линии Vero в тесте ДНК-комет

А.Х. Хумаири^{1,2}, Д.Л. Сперанский¹, М.Ю. Минакова², Н.В. Чердынцева³, В.В. Удут²

¹ Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России
400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

² НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга
Томского национального исследовательского медицинского центра РАН
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

³ НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

Резюме

Цель работы – изучить влияние новых производных азолазинов на уровень ДНК-повреждений клеток линии Vero *in vitro* методом щелочного гель-электрофореза (тест ДНК-комет). **Материал и методы.** Объекты исследования – 8-(пиперидинокарбонил)-3-циклогексимидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин-4(3*H*)-он (**1**), диэтиловый эфир 4-аминоимидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазин-3,8-дикарбоновой кислоты (**2**), 4-амино-8-этоксикарбонилимидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазин-3-*N*-(*n*-толуил)карбоксамида (**3**). Препаратом сравнения выбран эпирубицин. Соединения применялись в дозах 1/2, 1/10 и 1/50 IC₅₀. В качестве клеточной модели выбрана линия клеток Vero, культивируемая согласно стандартному протоколу. Для оценки генотоксичности применялся щелочной вариант метода ДНК-комет, обладающий высокой чувствительностью и позволяющий выявлять повреждения ДНК. **Результаты и обсуждение.** Анализ полученных данных свидетельствует, что тестируемые соединения **1–3** увеличивают количество повреждений ДНК в неопухолевых клетках. Наиболее выраженным генотоксическим действием обладает соединение **1**. Так, использование этого вещества в дозе 1/2 IC₅₀ привело к достоверному возрастанию длины хвоста кометы в 1,5 раза. Отмечено, что количество повреждений ДНК при действии соединения **1** в исследуемых дозах и эпирубицина находилось на одном уровне. **Заключение.** Полученные результаты доказывают, что соединения **1–3** могут обладать потенциально канцерогенным действием. Однако это предположение требует дальнейших углубленных экспериментальных исследований.

Ключевые слова: азолазины, генотоксичность, Vero, канцерогенное действие.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Хумаири А.Х., e-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com

Для цитирования: Хумаири А.Х., Сперанский Д.Л., Минакова М.Ю., Чердынцева Н.В., Удут В.В. Влияние новых противоопухолевых соединений на основе производных азолазинов на уровень повреждений ДНК нормальных клеток линии Vero в тесте ДНК-комет. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):117–124. doi: 10.18699/SSMJ20230614

Effect of new antitumor compounds based on azoloazine derivatives on the level of DNA damage in normal Vero cells in the DNA comet test

A.H. Al-Humairi^{1,2}, D.L. Speranskiy¹, M.Yu. Minakova², N.V. Cherdyntseva³, V.V. Udut²

¹ Volgograd State Medical University of Minzdrav of Russia
400131, Volgograd, Pavshikh Bortsov ave., 1

² Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg
of Tomsk National Research Medical Center of RAS
634028, Tomsk, Lenina ave., 3

³ Research Institute of Oncology of Tomsk National Research Medical Center of RAS
634009, Tomsk, Kooperativny In., 5

Abstract

The aim of the work is to study the effect of new azoloazine derivatives on the level of DNA damage to Vero cells (DNA comet test) in vitro by alkaline gel electrophoresis. **Material and methods.** The objects of the study are 8-(piperidinocarbonyl)-3-cyclohexylimidazo[5,1-*d*][1,2,3,5]tetrazine-4(3*H*)-one (**1**), diethyl ether 4-aminoimidazo[5,1-*c*][1,2,4]triazine-3,8-dicarboxylic acid (**2**), 4-amino-8-ethoxycarbonylimidazo[5,1-*c*][1,2,4]triazine-3-*N*-(*p*-toluyl)carboxamide (**3**). Epirubicin was chosen as a comparison drug. The compounds were used in doses of 1/2, 1/10 and 1/50 IC₅₀. The Vero cell line cultured according to the standard protocol was selected as the cell model. To assess genotoxicity, an alkaline version of the DNA comet method was used, which has a high sensitivity and allows detecting DNA damage. **Results.** Analysis of the data obtained indicates that the tested compounds **1-3** enhance DNA damage in non-tumor cells. Compound **1** has the most pronounced genotoxic effect. Thus, the use of this substance in a dose of 1/2 IC₅₀ led to a significant increase in the length of the comet's tail by 1.5 times. It was noted that DNA damage under the action of compound **1** in the studied doses and of epirubicin was on the same level. **Conclusions.** The results obtained prove that compounds **1-3** may have a potentially carcinogenic effect. However, this assumption requires further in-depth experimental studies.

Key words: azoloazines, genotoxicity, Vero, carcinogenic effect.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Al-Humairi A.H., e-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com

Citation: Al-Humairi A.H., Speranskiy D.L., Minakova M.Yu., Cherdyntseva N.V., Udut V.V. Effect of new antitumor compounds based on azoloazine derivatives on the level of DNA damage in normal Vero cells in the DNA comet test. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):117–124. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230614

Введение

В современной клинической онкологии значение химиотерапевтических препаратов остается обязательным для лечения пациентов со злокачественными новообразованиями [1]. В арсенал современной химиотерапии входят цитостатики, различающиеся по химическому строению, механизмам действия и источникам происхождения [1, 2]. Интересными в этом плане могут быть химические вещества, относящиеся к производным азолоазинов. Яркий представитель данной группы – темозоломид, одно из успешных противоопухолевых средств [3], который назначают с 2000 г. для лечения различных опухолей головного мозга. Он широко используется под торговыми названиями Temodal или Temodar [4, 5]. В настоящее время синтезированы различные аналоги темозоломида, например, производные имидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазинов [6] и имидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин-4-онов [7], которые представляют интерес для возможного их изучения в экспериментальной онкофармакологии в качестве перспективных противоопухолевых средств.

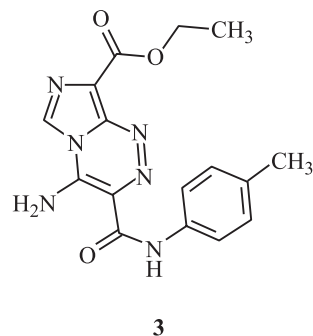
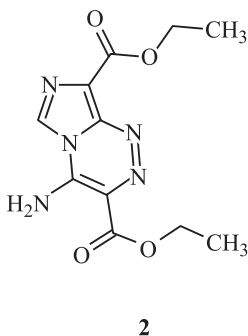
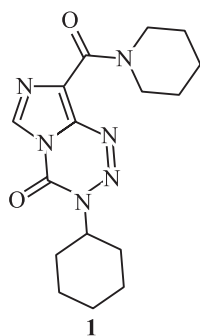
Известно, что нарушение структуры ДНК может стать одной из основных причин появления вторичных опухолей [8]. Особенно это актуально у пациентов со злокачественными новообразованиями, которым назначаются противоопухолевые препараты, в частности, темозоломид. В связи с этим актуальным является изучение возможных мутагенных свойств его аналогов – производных азолоазинов [9]. Ранее

показано, что 8-(пиперидинокарбонил)-3-циклогексилимидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин-4(3*H*)-он (**1**), диэтиловый эфир 4-аминоимидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазин-3,8-дикарбоновой кислоты (**2**), 4-амино-8-этоксикарбонилимидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазин-3-*N*-(*n*-толуил)карбоксамид (**3**) (рисунок) обладают цитотоксическим и генотоксическим действием в отношении опухолевых клеток MCF-7 [10].

В настоящее время в спектр обязательных краткосрочных тестов по выявлению мутагенных и канцерогенных свойств различных веществ входит анализ повреждений ДНК (метод ДНК-комет) [11]. Оценка генотоксичности новых производных азолоазинов в этом тесте на нормальных клетках ранее не проводилась. Целью настоящей работы является изучение влияния азолоазинов **1–3** на уровень повреждений ДНК клеток линии Vero *in vitro* методом ДНК-комет.

Материал и методы

Клеточной моделью являлась линия клеток Vero, полученная из почек африканской зеленой обезьяны [12]. После размораживания клетки дважды отмывали в растворе Хенкса, ресуспендируя и центрифугируя в течение 5 минут при 500g, рассеивали во флакон и культивировали в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °C и контроле 5 % CO₂ на полной питательной среде (9 мл MEM + 1 мл FBS + 100 мкл антибиотиков) до формирования монослоя. Для пересева на 96-луночный планшет удаляли питательную среду и переводили клетки в раствор дезинтегратора



Химическая структура соединений 1–3
Chemical structure of compounds 1–3

(трипсин-ЭДТА 0,25 %), после чего центрифугировали 5 мин при 500g. Осадок ресуспендировали в 2 мл полной питательной среды и готовили суспензию из расчета 10^6 клеток в 10 мл среды. В каждую лунку планшета помещали 100 мкл суспензии (10^4 клеток) и сразу добавляли исследуемые вещества в необходимых конечных концентрациях (см. ниже). Помимо этого на планшете был отрицательный (без добавления веществ) и положительный (добавление эпирубицина) контроль. Эпирубицин выбран в качестве позитивного контроля в связи с тем, что он, согласно клиническим рекомендациям Ассоциации онкологов России, а также метаанализу клинических обзоров за последние 5 лет, включен во многие схемы химиотерапии, где играет решающую роль при лечении пациентов как с ранним, так и прогрессирующим/метастатическим раком молочной железы. Планшеты инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °C, затем отделяли клетки от поверхности с помощью 0,25%-го раствора трипсин/ЭДТА, центрифугировали, ресуспендировали осадок в растворе Хенкса.

Соединения 1–3 синтезированы и любезно предоставлены сотрудниками Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина. Ранее для них и эпирубицина были определены IC_{50} в опухолевой клеточной культуре MCF-7: эпирубицин – 9,37 мкмоль/л; соединение 1 – 0,85 мкмоль/л; соединение 2 – 2,98 мкмоль/л; соединение 3 – 3,95 мкмоль/л [10, 13]. В настоящей работе вещества применялись в дозах 1/2, 1/10 и 1/50 IC_{50} .

Для оценки генотоксичности использовали щелочной вариант метода ДНК-комет, обладающий высокой чувствительностью и позволяющий выявлять повреждения ДНК [14]. Критерием положительного результата теста является статистически значимое увеличение основных показателей поврежденности ДНК. Для проведения кометного анализа вносили 20 мкл клеточной суспензии в 180 мкл 1%-го раствора ага-

розы в фосфатном буфере ($pH\ 7,5 \pm 1,0$), смесь помещали на предметные стекла, инкубировали в щелочной камере (10 M NaOH + 200 mM ЭДТА, $pH > 13,0$) и проводили горизонтальный электрофорез, используя камеры CSL-COM20 (Cleaver Scientific, Великобритания), в течение 20 мин при напряженности поля 1 В/см и силе тока ~ 300 мА. Стекла фиксировали 70%-м раствором этанола и оставляли при комнатной температуре на 1–2 ч до полного высыхания. Полученные микропрепараты окрашивали раствором SYBR Green I и анализировали на флуоресцентном микроскопе Axio Imager (Carl Zeiss, Германия) при 530 нм с помощью цифровой камеры NX3000 (Samsung, Южная Корея). Краситель выбран согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [15], так как он позволяет получить с микропрепаратов яркие высококонтрастные изображения.

Результаты проведенного ДНК-кометного анализа оценивали по следующим параметрам: доля ДНК в хвосте (%), момент хвоста (произведение длины хвоста кометы и доли ДНК в хвосте, условные единицы) [14], длина хвоста кометы (расстояние миграции ДНК от центра или края головы до конца хвоста, пиксели). Анализ перечисленных параметров ДНК-комет осуществляли с помощью программы CometScore 2.0.0.38 (TriTek Corp., США). С каждого микропрепарата рандомизированно анализировали состояние ДНК не менее 100 клеток. Индекс повреждения ДНК (условные единицы) рассчитывали по формуле:

$$\text{Индекс ДНК-комет} = \frac{0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4}{\Sigma},$$

где $n_0 - n_4$ – число ДНК-комет каждого типа; Σ – сумма проанализированных ДНК-комет. Для вычисления индекса генотоксичности ДНК-кометы были ранжированы на пять условных типов с соответствующим для каждого числовым значением от 0 до 4 [15].

При статистической обработке результатов эксперимента предварительно была проверена нормальность распределения данных по критерию Шапиро – Уилка. Внутригрупповой сравнительный анализ проводился по критерию Краскала – Уоллиса (непараметрический вариант) с последующими множественными сравнениями по Бонферрони – Данну. Различия считались статистически значимыми при уровне доверительной вероятности $p < 0,05$.

Результаты

При изучении влияния азолазинов **1–3** и эпирубина на генетический аппарат неопухолевых клеток Vero установлено, что культивирование данной клеточной линии с эпирубицином в дозе $1/10 IC_{50}$ оказало наиболее выраженное канцерогенное действие по сравнению с дозами $1/2$ и $1/50 IC_{50}$: доля ДНК в хвосте кометы оказалась максимальной, в то время как момент хвоста – минимальным. Влияние препарата на длину хвоста в указанных концентрациях варьировало незначительно (таблица).

При изучении влияния соединения **1** на долю ДНК в хвосте комет неопухолевых клеток зафиксированы статистически значимые различия между дозами $1/10 IC_{50}$ и $1/50 IC_{50}$. Следует отметить, что использование имидазотетразина **1** в дозе $1/2 IC_{50}$ привело к достоверному увеличению данного показателя в 1,5 раза относительно

такового при использовании меньших доз. Кроме того, эффект соединения **1** в исследуемых дозах и эпирубина в отношении показателя «момент хвоста» находился на одном уровне. При внутригрупповом сравнении статистически значимые различия наблюдались между дозами $1/10 IC_{50}$ и $1/2 IC_{50}$ изучаемого вещества (см. таблицу).

Использование соединения **2** в дозе $1/50 IC_{50}$ привело к увеличению доли ДНК в хвосте кометы в 52,1 раза ($p < 0,05$) относительно отрицательного контроля и достигло значения в группе эпирубина. После культивирования неопухолевой клеточной линии Vero с имидазотриaziном **2** получены статистически значимые различия между дозами $1/10 IC_{50}$ и $1/50 IC_{50}$, с одной стороны, и дозой $1/2 IC_{50}$, с другой ($p < 0,05$), в отношении показателя «момент хвоста», величина которого была соответственно в 1,5 и 1,7 раза больше, чем в группе максимальной дозы вещества. При внутригрупповой оценке длины хвоста кометы под воздействием соединения **2** не обнаружено статистически значимых различий между использованными дозами (см. таблицу).

Введение в неопухолевую клеточную линию соединения **3** в трех концентрациях привело к статистически значимому увеличению доли ДНК в хвосте кометы для всех доз по сравнению с величиной показателя в отрицательном контроле. Внутригрупповой анализ показал, что при введении субстанции **3** наблюдались статистически

Генотоксическое действие соединений 1–3 и эпирубина на неопухолевую клеточную культуру Vero, зарегистрированное методом ДНК-комет

Genotoxic effect of compounds 1–3 and epirubicin on a non-tumor Vero cell culture recorded by the DNA comet method

Группа наблюдения, концентрация	Доля ДНК в хвосте кометы, %	Длина хвоста кометы, пиксель	Момент хвоста, усл. ед.
Отрицательный контроль	1,0 [0,8 ÷ 1,4]	14,0 [12,5 ÷ 16,1]	0,05 [0,03 ÷ 0,07]
Эпирубицин, $1/50 IC_{50}$	52,9 [47,0 ÷ 55,29] *	287,1 [227,3 ÷ 335,5] *	149,6 [151,0 ÷ 194,4] *
Эпирубицин, $1/10 IC_{50}$	64,9 [55,4 ÷ 70,9] *	228,6 [226,6 ÷ 231,1] * [#]	107,9 [103,9 ÷ 118,7] *
Эпирубицин, $1/2 IC_{50}$	51,2 [48,2 ÷ 53,3] *	279,9 [263,4 ÷ 271,1] * [^]	148,6 [135,8 ÷ 156,0] *
Соединение 1 , $1/50 IC_{50}$	59,9 [57,9 ÷ 61,2] * [#]	284,2 [259,8 ÷ 334,4] *	143,1 [136,8 ÷ 186,0] *
Соединение 1 , $1/10 IC_{50}$	65,1 [61,2 ÷ 70,9] * [‡]	284,9 [235,8 ÷ 301,8] * [^]	103,9 [101,4 ÷ 111,3] *
Соединение 1 , $1/2 IC_{50}$	57,2 [53,2 ÷ 59,3] * [†]	402,5 [367,3 ÷ 421,2] * ^{†‡•}	200,9 [182,0 ÷ 205,2] * ^{†•}
Соединение 2 , $1/50 IC_{50}$	52,1 [36,3 ÷ 56,6] *	348,5 [312,6 ÷ 357,0] *	191,8 [184,3 ÷ 208,7] *
Соединение 2 , $1/10 IC_{50}$	49,8 [38,5 ÷ 54,8] *	367,1 [320,3 ÷ 378,9] *	172,2 [169,7 ÷ 184,7] *
Соединение 2 , $1/2 IC_{50}$	35,8 [32,4 ÷ 39,8] *	330,6 [309,6 ÷ 338,6] *	116,6 [108,1 ÷ 121,6] * ^{‡•}
Соединение 3 , $1/50 IC_{50}$	41,0 [28,3 ÷ 49,3] *	227,1 [184,3 ÷ 290,8] *	365,6 [307,6 ÷ 391,6] *
Соединение 3 , $1/10 IC_{50}$	37,8 [27,6 ÷ 41,1] * [‡]	203,7 [168,4 ÷ 251,6] * [‡]	341,5 [315,7 ÷ 373,3] * [‡]
Соединение 3 , $1/2 IC_{50}$	35,6 [27,9 ÷ 42,8] * [•]	303,9 [251,6 ÷ 330,3] * [•]	355,1 [346,9 ÷ 358,4] * [•]

Примечание. Результаты представлены в виде медианы и межквартильного интервала. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – отрицательного контроля; # – эпирубицин в дозе $1/50 IC_{50}$; ^ – эпирубицин в дозе $1/10 IC_{50}$; † – эпирубицин в дозе $1/2 IC_{50}$; ‡ – того же соединения в дозе $1/50 IC_{50}$; • – того же соединения в дозе $1/10 IC_{50}$.

значимые различия (в 1,2 раза) длины хвоста кометы между дозами $1/2 IC_{50}$ и $1/50 IC_{50}$ относительно дозы $1/10 IC_{50}$. При действии имидазотриазина **3** на клеточную линию Vero в концентрации $1/2 IC_{50}$ и $1/50 IC_{50}$ показатель «момент хвоста» оставался на одном уровне, доза $1/10 IC_{50}$ привела к его снижению относительно минимальной и максимальной дозы (см. таблицу).

Установлено следующее распределение значений показателя индекса повреждения после введения эпирубина в клеточную линию Vero по дозам: для $1/2 IC_{50}$ – 54,4, для $1/10 IC_{50}$ – 48,8, для $1/50 IC_{50}$ – 55,1. Статистически значимые различия зафиксированы при внутригрупповом сравнении эффекта эпирубина. Индекс повреждения клеточной линии Vero после введения соединения **1** был наибольшим и в среднем составил 60 %, наименьшее значение показателя получено от соединения **3** в дозе $1/2 IC_{50}$.

Обсуждение

Согласно данным виртуального скрининга и различным экспериментальным исследованиям, азолазины обладают противовоспалительным, противодиабетическим и противовирусным действием [16]. Также известно о наличии у них противоопухолевой активности. Так, начиная с 1980-х годов, химические соединения, в основе которых лежит имидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин, начали широко применяться в качестве противоопухолевых агентов [3–5]. На сегодняшний день синтезировано несколько сотен новых производных азолазинов, которые отличаются по химическому составу, что делает их перспективными для изучения в экспериментальной онкологии [6, 17].

Ранее в скрининговых экспериментах нами изучено 11 новых производных азолазинов. Показано их умеренное цитотоксическое действие в отношении опухолевых клеток MCF-7. По результатам этого исследования были выбраны соединения **1–3** как наиболее перспективные, с потенциально сильным противоопухолевым действием [10, 13]. Показано, что наибольшую цитотоксическую активность имеет соединение **1**. Далее следует соединение **2**. Менее токсично для опухолевых клеток соединение **3** [10, 13].

Согласно рекомендациям по проведению доклинических исследований для малых молекул, обладающих каким-либо видом фармакологической активности, должна быть выполнена оценка повреждения ДНК с помощью метода ДНК-комет [15]. В настоящее время с использованием этого метода изучено влияние трех перспективных соединений, относящихся к производным азолазина, на повреждения ДНК опухолевых клеток

MCF-7. Выявлено, что изучаемые вещества обладают выраженным генотоксическим действием. Наиболее токсичным в отношении генетического аппарата опухолевых клеток оказалось соединение **1** [18].

Известно, что цитостатические препараты, ингибирующие развитие злокачественных новообразований, обладают рядом побочных действий в отношении здоровых клеток. В связи с этим были проведены эксперименты для оценки влияния новых производных азолазинов на неопухолевые клетки с целью определения у этих веществ соотношения «риск/польза». Ранее при оценке цитотоксической активности выбранных соединений **1–3** на неопухолевые клетки показано достаточно слабое токсическое действие, что является позитивным моментом в случае их использования в качестве противоопухолевых средств [10]. Известно, что все современные противоопухолевые препараты негативно влияют на ДНК как опухолевых, так и неопухолевых клеток. Поломка генома под воздействием каких-либо факторов может провоцировать канцерогенез [19]. С целью оценки риска возможного образования вторичных опухолей при назначении новых производных азолазинов необходимо дальнейшее их исследование в отношении неопухолевых клеток. Анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует, что соединения **1–3** приводят к возрастанию повреждения ДНК в неопухолевых клетках. Наиболее выраженное генотоксическое действие оказало соединение **1**, что согласуется с ранее полученными данными о мутагенных свойствах этого вещества в отношении опухолевых клеток.

Препараты на основе производных азолазинов достаточно токсичны и обладают выраженным повреждающим действием на здоровые клетки, например, клетки крови. В связи с этим повышенное содержание повреждений ДНК в клетках Vero может быть расценено как один из возможных механизмов проявления цитотоксического эффекта этих соединений, которое характерно для этой группы веществ в целом. Также полученные результаты доказывают, что соединения **1–3** потенциально канцерогенны и способны приводить к образованию вторичных опухолей. Основным механизмом повреждения ДНК является метилирование в положении N_7 и O_6 гуанина и O_3 аденина. При возникшей поломке в ДНК встраивается тимидин вместо цитозина. Следствием таких изменений является нарушение синтеза белка и репарации ДНК, что ведет к гибели клетки, т.е. к цитотоксичности [20, 21].

В дальнейшем, несомненно, научный и практический интерес представляет изучение соеди-

нений 1–3 в других обязательных тестах по выявлению повреждений ДНК, таких как тест Эймса, цитогенетические тесты хромосомных повреждений, для поиска однозначного ответа на вопрос о возможном мутагенном действии и канцерогенном потенциале этих веществ.

Заключение

Изучение влияния соединений 1–3 на генетический аппарат неопухолевой клеточной культуры Vero показало, что соединение 1 приводит к наиболее выраженным повреждениям ДНК. Полученные результаты свидетельствуют в пользу возможного канцерогенного действия данного вещества. Однако это предположение требует дальнейших углубленных экспериментальных исследований.

Список литературы

1. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Ред. Н.И. Переводчикова, В.А. Горбунова. М.: Практическая медицина, 2005, 704 с.
2. Чу Э., де Вита-младший В. Химиотерапия злокачественных новообразований. М.: Практика, 2009. 455 с.
3. Juarez-Moreno K., Gonzalez E.B., Girón-Vazquez N., Chávez-Santoscoy R.A., Mota-Morales J.D., Perez-Mozqueda L.L., Garcia-Garcia M.R., Pestryakov A., Bogdanchikova N. Comparison of cytotoxicity and genotoxicity effects of silver nanoparticles on human cervix and breast cancer cell lines. *Hum. Exp. Toxicol.* 2017;36(9):931–948. doi: 10.1177/0960327116675206
4. Синайко В.В., Артемова Н.А., Юркштович Т.Л., Бычковский П.М., Фроленков К.А. Сравнительная эффективность препаратов темобел и темодал в комплексном лечении высокзлокачественных (GRADE III–IV) глиальных опухолей головного мозга. *Рос. биотерапевт. ж.* 2015;14(2):59–64. doi: 10.17650/1726-9784-2015-14-2-59-64
5. Abdel-Rahman O., Fouad M. Temozolomide-based combination for advanced neuroendocrine neoplasms: A systematic review of the literature. *Future Oncol.* 2015;8(11):1275–1290. doi: 10.2217/fon.14.302
6. Садчикова Е.В., Мокрушин В.С. Взаимодействие 3,8-дизамещенных имидазо[5,1-с][1,2,4]триазинов с нуклеофилами. *Химия гетероцикл. соед.* 2014;(7):1100–1106.
7. Садчикова Е.В. Синтез новых азола[5,1-с][1,2,3,5]тетразин-4-онов – аналогов противоопухолевого препарата темозоломид. *Изв. РАН. Сер. хим.* 2016;(7):1867–1872.
8. Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Летягин А.Ю., Боровская Т.Г., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В., Королев М.А., Котлярова А.А., Попова Т.В., Рачковский Э.Э., Вычужанина А.В., Машанова В.А. Исследование ДНК-повреждающего действия нового нормотимического лекарственного средства на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия методом ДНК-комет *in vivo*. *Сиб. науч. мед. ж.* 2018;38(4):5–10. doi: 10.15372/SSMJ20180401
9. Тюкавин А.И., Сучков С.В. Опухолевый рост – современный взгляд на патогенез и фармакотерапию (лекция). *Формулы фармации.* 2021;3(2):86–96. doi: 10.17816/phf65284
10. Хумаири А.Х., Сперанский Д.Л., Садчикова Е.В. Синтез и цитотоксическая активность новых производных азолотриазина при изучении на клеточных культурах. *Хим.-фармац. ж.* 2022;56(6):17–22. doi: 10.1007/s11094-022-02704-0
11. Гайдай Е.А., Дорофеева А.А., Крышень К.Л., Гайдай Д.С. Методические аспекты проведения ДНК-комет-теста в условиях *in vivo* в доклинических исследованиях. *Лаб. живот. для науч. исслед.* 2020;(3):16–24. doi: 10.29296/2618723X-2020-03-03
12. Andreani N.A., Renzi S., Piovani G., Marsan P.A., Bomba L., Villa R., Ferrari M., Dotti S. Potential neoplastic evolution of Vero cells: *in vivo* and *in vitro* characterization. *Cytotechnology.* 2017;69(5):741–750. doi: 10.1007/s10616-017-0082-7
13. Хумаири А.Х., Островский О.В., Зыкова Е.В., Сперанский Д.Л., Алексеева Д.Л., Садчикова Е.В. Цитотоксическая активность производных азолотриазина при изучении в культуре клеток рака молочной железы человека MCF. *Вестн. ВолгГМУ.* 2022; 19(1):133–141. doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-133-141
14. Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет *in vitro*: Методические рекомендации МР 4.2.0014-10. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011, 16 с.
15. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013, 944 с.
16. Саватеев К.В., Уломский Е.Н., Буторин И.И., Чарушин В.Н., Русинов В.Л., Чупахин О.Н. Азолазины – антагонисты A2α-рецептора. Структура и свойства. *Успехи химии.* 2018;87(7):636–669. doi: 10.1070/RCR4792
17. Garza-Morales R., Gonzalez-Ramos R., Chiba A., Montes de Oca-Luna R., McNally L.R., McMaster K.M., Gomez-Gutierrez J.G. Temozolomide enhances triple-negative breast cancer virotherapy *in vitro*. *Cancers (Basel).* 2018;10(5): e144. doi: 10.3390/cancers10050144
18. Хумаири А.Х., Сперанский Д.Л., Рыбалкина О.Ю., Садчикова Е.В., Булдаков М.А., Фролова А.А., Чердынцева Н.В., Удуд В.В. Генотоксические эффекты новых производных азолазинов с противоопухолевой активностью в культуре клеток MCF-7. *Хим.-фармац. ж.* 2023;57(6):24–29. doi: 10.30906/0023-1134-2023-57-6-24-29
19. Свириновский А.И. Резистентность опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям

как медико-биологическая проблема. *Мед. новости*. 2011;9:30–38.

20. Ramis G., Thomàs-Moyà E., de Mattos S.F., Rodríguez J., Villalonga P. EGFR inhibition in glioma cells modulates rho signaling to inhibit cell motility and invasion and cooperates with temozolomide to reduce cell growth. *PLoS One*. 2012;7(6):e38770. doi: 10.1371/journal.pone.0038770

21. Tatar Z., Thivat E., Planchat E., Gimberques P., Gadea E., Abrial C., Durando X. Temozolomide and unusual indications: Review of literature. *Cancer Treat. Rev*. 2013;39(2):125–135. doi: 10.1016/j.ctrv.2012.06.002

References

1. Guidelines for the chemotherapy of neoplastic diseases. Eds. N.I. Perevodchikova, V.A. Gorbunova. Moscow: Practical medicine, 2005. 704 p. [In Russian].

2. Chu E, de Vita V. Jr. Cancer chemotherapy. Moscow: Practice, 2009. 455 p. [In Russian].

3. Juarez-Moreno K., Gonzalez E.B., Girón-Vazquez N., Chávez-Santoscoy R.A., Mota-Morales J.D., Perez-Mozqueda L.L., Garcia-Garcia M.R., Pestryakov A., Bogdanchikova N. Comparison of cytotoxicity and genotoxicity effects of silver nanoparticles on human cervix and breast cancer cell lines. *Hum. Exp. Toxicol*. 2017;36(9):931–948. doi: 10.1177/0960327116675206

4. Sinaiko V.V., Artemova N.A., Yurkshtovich T.L., Bychkovsky P.M., Frolenkov K.A. Comparative efficacy of temobel and temodal drugs in multimodality treatment of high-grade (III–IV). *Rossiyskiy bioterpvticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*. 2015;14(2):59–64. [In Russian]. doi: 10.17650/1726-9784-2015-14-2-59-64

5. Abdel-Rahman O., Fouad M. Temozolomide-based combination for advanced neuroendocrine neoplasms: A systematic review of the literature. *Future Oncol*. 2015;8(11):1275–1290. doi: 10.2217/fon.14.302

6. Sadchikova E.V., Mokrushin V.S. Interaction of 3,8-disubstituted imidazo[5,1-c][1,2,4]triazines with nucleophiles. *Khimiya geterotsiklicheskiikh soedineniy = Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2014;50(7):1014–1020. doi: 10.1007/s10593-014-1557-5

7. Sadchikova E.V. Synthesis of new azolo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazin-4-ones – analogs of antitumor agent temozolomide. *Russ. Chem. Bull*. 2016; 65(7): 1867–1872. doi: 10.1007/s11172-016-1522-9

8. Konenkov V.I., Rachkovskaya L.N., Letyagin A.Yu., Borovskaya T.G., Shurlygina A.V., Robinson M.V., Korolev M.A., Kotlyarova A.A., Popova T.V., Rachkovsky E.E., Vychuzhanina A.V., Mashanova V.A. Study of the DNA-damage by new normothymic medicinal on the basis of the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and aluminum oxide by DNA comet assay *in vivo*. *Sibirskiy nauchnyy medicinskiy zhurnal =*

Siberian Scientific Medical Journal. 2018;38(4):5–10. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20180401

9. Tyukavin A.I., Suchkov S.V. Tumor growth – a modern view of pathogenesis and pharmacotherapy (lecture). *Formuly farmatsii = Pharmacy Formulas*. 2021;3(2):86–96. [In Russian]. doi: 10.17816/phf65284

10. Al-Humairi A.H., Speransky D.L., Sadchikova E.V. Synthesis and cytotoxic activity on cell cultures of new azolotriazines. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(6):742–747 [In Russian]. doi: 10.1007/s11094-022-02704-0

11. Gaidai E.A., Dorofeeva A.A., Kryshen K.L., Gaidai D.S. Methodological aspects of DNA comet assay *in vivo* in preclinical research. *Laboratornyye zhivotnyye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science*. 2020;(3):16–24. [In Russian]. doi: 10.29296/2618723X-2020-03-03

12. Andreani N.A., Renzi S., Piovani G., Marzan P.A., Bomba L., Villa R., Ferrari M., Dotti S. Potential neoplastic evolution of Vero cells: *in vivo* and *in vitro* characterization. *Cytotechnology*. 2017;69(5):741–750. doi: 10.1007/s10616-017-0082-7

13. Al-Humairi A.H., Ostrovsky O.V., Zykova E.V., Speransky D.L., Alekseeva D.L., Sadchikova E.V. Cytotoxic activity of azolotriazine derivatives in the study of MCF human breast cancer cells. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Volgograd State Medical University*. 2022;19(1):133–141. [In Russian]. doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-133-141

14. Evaluation of genotoxic properties by *in vitro* DNA comet method. Methodological recommendations MR 4.2.0014-10. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2011, 16 p. [In Russian].

15. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Moscow: Grif i K, 2013, 944 p.

16. Savateev K.V., Ulomsky E.N., Butorin I.I., Charushin V.N., Rusinov V.L., Chupakhin O.N. Azoloazines as A2α-receptor antagonists. Structure and properties. *Uspekhi khimii = Russian Chemical Reviews*. 2018; 87(7):636–669. [In Russian]. doi: 10.1070/RCR4792

17. Garza-Morales R., Gonzalez-Ramos R., Chiba A., Montes de Oca-Luna R., McNally L.R., McMaster K.M., Gomez-Gutierrez J.G. Temozolomide enhances triple-negative breast cancer virotherapy *in vitro*. *Cancers (Basel)*. 2018;10(5): e144. doi: 10.3390/cancers10050144

18. Al-Humairi A.H., Speransky D.L., Rybalkina O.Yu., Sadchikova E.V., Buldakov M.A., Frolova A.A., Cherdyntseva N.V., Udut V.V. Genotoxic effects of new azoloazine derivatives with antitumor activity in mcf-7 tumor cell culture. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57(6):24–29. [In Russian]. doi: 10.30906/0023-1134-2023-57-6-24-29

19. Svirnovsky A.I. Resistance of tumor cells to therapeutic effects as a biomedical problem. *Medsinskije novosti = Medical News*. 2011;9:30–38. [In Russian].
20. Ramis G., Thomàs-Moyà E., de Mattos S.F., Rodríguez J., Villalonga P. EGFR inhibition in glioma cells modulates rho signaling to inhibit cell motility and invasion and cooperates with temozolomide to reduce cell growth. *PLoS One*. 2012;7(6):e38770. doi: 10.1371/journal.pone.0038770
21. Tatar Z., Thivat E., Planchat E., Gimberques P., Gadea E., Abrial C., Durando X. Temozolomide and unusual indications: Review of literature. *Cancer Treat. Rev*. 2013;39(2):125–135. doi: 10.1016/j.ctrv.2012.06.002

Сведения об авторах:

Хумаири Ахмед Хамид, PhD фармакология, клиническая фармакология, и онкология, лучевая терапия, ORCID: 0000-0001-7545-8567, e-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com
Сперанский Дмитрий Леонидович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-4362-1603, e-mail: d_speransky@mail.ru
Минакова Мария Юрьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-3385-3662, e-mail: nii@pharmso.ru
Чердынцева Надежда Викторовна, д.б.н., проф., член-корр. РАН, ORCID: 0000-0003-1526-9013, e-mail: nvch@tnimc.ru
Удут Владимир Васильевич, д.м.н., проф., член-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-3829-7132, e-mail: udutv@mail.ru

Information about the authors:

Ahmed H. Al-Humairi, PhD in Pharmacology, Clinical Pharmacology, and Oncology, Radiation Therapy, ORCID: 0000-0001-7545-8567, e-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com
Dmitry L. Speransky, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-4362-1603, e-mail: d_speransky@mail.ru
Maria Yu. Minakova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3385-3662, e-mail: nii@pharmso.ru
Nadezhda V. Cherdyntseva, doctor of biology sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0003-1526-9013, e-mail: nvch@tnimc.ru
Vladimir V. Udut, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0002-3829-7132, e-mail: udutv@mail.ru

Поступила в редакцию 02.06.2023
После доработки 04.09.2023
После повторной доработки 03.11.2023
Принята к публикации 03.11.2023

Received 02.06.2023
Revision received 04.09.2023
Second revision received 03.11.2023
Accepted 03.11.2023

Профиль антибиотикорезистентности изолятов золотистого стафилококка, выделенных от больных и бактерионосителей Астраханского региона, как основа выбора штаммов-продуцентов бактериофагов для дальнейшей комбинированной фаготерапии

Р.О. Абдрахманова, Э.Г. Тазова, Г.Н. Генатуллина, Г.Р. Баева, А.Д. Даудова,
Ю.З. Демина, А.Л. Ясенявская, О.В. Рубальский

Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

Резюме

Золотистый стафилококк имеет высокий уровень устойчивости к антибиотикам и является распространенной причиной внутрибольничных инфекций, что первостепенно требует разработки новых терапевтических стратегий. Цель работы – анализ уровня и спектра антибиотикорезистентности изолятов *Staphylococcus aureus* для дальнейшего выделения вирулентных бактериофагов. **Материал и методы.** В исследовании использованы пробы клинического материала, полученные на базе Городской клинической больницы № 3 им. С.М. Кирова (г. Астрахань). Выделенные от больных бактериальные штаммы идентифицировали на основании морфологических, культуральных, биохимических и молекулярно-генетических признаков, их резистентность определяли диско-диффузионным методом с использованием стандартизированных коммерческих дисков с антибиотиками, в соответствии с методическими указаниями. **Результаты.** Оценка антибиотикорезистентности золотистого стафилококка, выделенного при исследовании клинического материала от больных, и анализ уровня чувствительности изолированных штаммов *S. aureus* позволяют сделать вывод, что все выделенные от пациентов изоляты *S. aureus* резистентны по крайней мере к одному антибиотику, а большинство штаммов характеризуется множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам. **Заключение.** Наличие мультирезистентных штаммов свидетельствует о необходимости поиска новых подходов при лечении стафилококковой инфекции и разработке эффективных средств для комбинированной терапии на основе вирулентных стафилококковых бактериофагов.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, бактериофаги, антибиотики, метициллин-резистентный золотистый стафилококк.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации в части проведения НИР по теме «Разработка композиций для персонализированной антибактериальной терапии на основе вирулентных стафилококковых бактериофагов с контролируемой литической активностью» № 122022200191-4.

Автор для переписки: Абдрахманова Р.О., e-mail: radmilaazo@mail.ru

Для цитирования: Абдрахманова Р.О., Тазова Э.Г., Генатуллина Г.Н., Баева Г.Р., Даудова А.Д., Демина Ю.З., Ясенявская А.Л., Рубальский О.В. Профиль антибиотикорезистентности изолятов золотистого стафилококка, выделенных от больных и бактерионосителей Астраханского региона, как основа выбора штаммов-продуцентов бактериофагов для дальнейшей комбинированной фаготерапии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):125–129. doi: 10.18699/SSMJ20230615

Profile of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and bacterial carriers of the Astrakhan region as the basis for the selection of bacteriophage producing strains for further combined phage therapy

R.O. Abdrakhmanova, E.G. Tazova, G.N. Genatullina, G.R. Baeva, A.D. Daudova,
Yu.Z. Demina, A.L. Yaseniyavskaya, O.V. Rubalsky

Astrakhan State Medical University of Minzdrav of Russia
41400, Astrakhan, Bakinskaya st., 121

Abstract

Staphylococcus aureus has a high level of antibiotic resistance and is a common cause of nosocomial infections, which primarily requires development of new therapeutic strategies. Aim of the study was to investigate the level and spectrum of antibiotic resistance of *S. aureus* isolates for further isolation of virulent bacteriophages. **Material and methods.** The study used samples of clinical material obtained on the basis of the City Clinical Hospital No. 3 named after S.M. Kirov (Astrakhan). Bacterial strains isolated from patients were identified on the basis of morphological, cultural, biochemical and molecular genetic characteristics. The determination of the resistance of the isolated cultures was carried out by the disco-diffusion method using standardized commercial discs with antibiotics, in accordance with the guidelines. **Results.** Evaluation of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated during the study of clinical material from patients and analysis of sensitivity level of isolated strains of *S. aureus* allow us to conclude that all *S. aureus* isolated from patients are resistant to at least one antibiotic, and most strains are characterized by multidrug resistance to antibiotics. **Conclusions.** The presence of multi-resistant strains indicates the need to search for new approaches in the treatment of staphylococcal infection and to develop effective means for combination therapy based on virulent staphylococcal bacteriophages.

Key words: antibiotic resistance, bacteriophage, antibiotics, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing: The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation regarding research on the topic "Development of compositions for personalized antibacterial therapy based on virulent staphylococcal bacteriophages with controlled lytic activity" No. 122022200191-4.

Citation: Abdrakhmanova R.O., Tazova E.G., Genatullina G.N., Baeva G.R., Daudova A.D., Demina Yu.Z., Yasenyavskaya A.L., Rubalsky O.V. Profile of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and bacterial carriers of the Astrakhan region as the basis for the selection of bacteriophage producing strains for further combined phage therapy. *Sibirskiy nauchnyy medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):125–129. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230615

Введение

Staphylococcus aureus является значимым патогеном в современном мире в связи с его способностью вызывать широкий спектр инфекционных заболеваний, от незначительных кожных до тяжелых тканевых инфекций, а также сепсиса. Данный патоген имеет высокий уровень устойчивости к антибиотикам и служит распространенной причиной внутрибольничных инфекций, что первостепенно требует разработки новых терапевтических стратегий [1, 2]. В XIX в. британский бактериолог Флеминг открыл пенициллин, используя его в клинике для борьбы с инфекцией, вызванной, в том числе, *S. aureus*. Позже на фоне данного глобального для медицины открытия и появления в последующем различных антибактериальных препаратов формировалась скрытая опасность для человечества, приведшая к широкому, иногда неконтролируемому и необоснованному, использованию антибиотиков и развитию бактериальной резистентности, способствуя появлению полирезистентных штаммов *S. aureus* [3–5]. По чувствительности к антибактериальным препаратам *S. aureus* можно разделить на метициллин-чувствительный (MSSA) и метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA) [6]. В последние десятилетия в связи с эволюцией

бактерий и необоснованно избыточной терапией антибиотиками лекарственная устойчивость *S. aureus* и уровень инфицирования MRSA постепенно растут, требуя изменений терапевтических стратегий по применению антибактериальных препаратов, основными аспектами которых является исключение необоснованного назначения антибиотиков и применение принципа минимальной достаточности в отношении выбора препаратов, определения приоритета их назначения на основе идентификации бактериального агента и его чувствительности с учетом данных по региональной антибиотикорезистентности [7, 8].

Одним из вариантов совершенствования схем лечения и разработки новых противомикробных препаратов, который снова набирает популярность, является фаготерапия [9, 10]. Однако известно, что штаммы золотистого стафилококка, резистентные к метициллину (MRSA) и к производным ванкомицина, могут быть устойчивы и к действию одиночных фагов, а при обработке биопленок тех же штаммов комбинациями фага с антибиотиком повторный рост бактерий предотвращается [11]. Следовательно, создание коллекции фагов с бактерицидной активностью и восприимчивостью к патогенам открывает новые вопросы, касающиеся эффективности комбинированной фаготерапии, и требует комплексного подхода в

разработке системы, повышающей чувствительность бактериальных клеток к антибиотикам.

Цель исследования – изучить резистентность изолятов *S. aureus*, выделенных из клинического материала больных и бактерионосителей, к антибактериальным препаратам различных химических групп.

Материал и методы

Материалом для исследования служили штаммы *S. aureus*, выделенные из гнойных ран, от больных хирургического отделения и со слизистой оболочки носоглотки лиц, проходивших медицинский осмотр в Городской клинической больницы № 3 им. С.М. Кирова (г. Астрахань). Изолятов выделяли путем посева клинического материала на желточно-солевой агар с маннитом, приготовленный на основе сухой коммерческой среды bioMerieux (Франция). Микроорганизмы вида *S. aureus* идентифицировали на основе положительных результатов тестов на коагулазную и лецитоветиллазную активность, ферментации маннита и способности продуцировать каротиноидный пигмент при культивировании на молочно-солевом агаре. Генетическая принадлежность к виду *S. aureus* определена при помощи набора «ДНК-Экспресс» (НПФ «Литех», Россия) с последующей постановкой ПЦР в реальном времени с использованием набора «СТАФИПОЛ» (НПФ «Литех», Россия) согласно протоколу производителя.

Определение резистентности выделенных культур к антибактериальным препаратам различных химических групп проводили диско-диффузионным методом с учетом фенотипических свойств [12] на плотной агаровой среде, представленной сухим питательным агаром Гивентала – Ведыминой (АГВ), с использованием стандартизированных коммерческих дисков с антибиотиками. Для приготовления бактериальной суспензии взвеси использовали предварительно выделенную чистую агаровую культуру каждого изолята *S. aureus* с концентрацией $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Контроль точности концентраций приготовленных инокулятов проводили по стандарту мутности McFarland 0,5. В течение 15 минут после приготовления бактериальных суспензий 1 мл каждой из них наносили стерильной пипеткой на поверхность чашек Петри с питательной средой АГВ, равномерно распределяя по поверхности покачиванием. После подсушивания при комнатной температуре по истечении 15 минут стерильным пинцетом выполняли аппликацию дисков, оставляя стандартные интервалы 15–20 мм от края чашки до диска и между дисками. Посевы инкубировали в термостате при 37 °C в течение

24 часов. Результаты учитывали путем измерения зоны задержки роста микроорганизмов вокруг бумажных дисков с антибиотиками. Полученные результаты сравнивали по пограничным значениям этих параметров, отделяющих чувствительные изоляты от промежуточных и промежуточные – от устойчивых.

Нормально распределенные количественные показатели описывали средними значениями и стандартными отклонениями ($M \pm SD$).

Результаты и их обсуждение

В ходе выполнения работ выделено 167 изолятов стафилококков, имеющих лецитиназную активность, все они идентифицированы при помощи ПЦР как вид *S. aureus*, 21 изолят проявлял лизогенные свойства. Результаты определения резистентности выделенных культур *S. aureus* к антимикробным препаратам (фосфомицин, ванкомицин, гентамицин, клиндамицин, азитромицин, цефепим, ампициллин, норфлоксацин, оксациллин и ципрофлоксацин, цефоперазон, амоксициллин, линезолид, цефокситин, цефоперазона сульбактам и меропенем) представлены в таблице. Наличие метициллинрезистентных стафилококков наглядно демонстрирует их низкую чувствительность к оксациллину. Установлено, что штаммы золотистого стафилококка были наименее устойчивы к ципрофлоксацину. Их резистентность к гентамицину, ампициллину, ванкомицину, цефепиму, азитромицину, клиндамицину, норфлоксацину и оксациллину преобладала над чувствительностью к данной группе антимикробных препаратов. Высокая чувствительность культуры *S. aureus* отмечена к линезолиду, меропенему, амоксиклаву, цефоперазона сульбактаму, фосфомицину, амоксициллину (см. таблицу).

Заключение

Оценка антибиотикорезистентности *S. aureus*, выделенного при исследовании клинического материала от больных, и анализ установленных уровней чувствительности изолированных штаммов *S. aureus* позволяют сделать вывод, что среди выделенных культур большинство являются метициллин-резистентными. Лечение инфекций, вызванных MRSA, проводят гликопептидами (ванкомицин, тейкопланин) или оксазолидинонами (линезолид, тедизолид). В результатах работы представлена резистентность и к ванкомицину, и к линезолиду. Кроме того, все выделенные от пациентов изоляты *S. aureus* резистентны по крайней мере к одному антибиотику, а большинство штаммов характеризуется множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам. Наличие мультирезистентных штаммов свидетель-

Чувствительность выделенных культур золотистого стафилококка к отдельным антибиотикам различных групп

Susceptibility of isolated cultures of *S. aureus* to individual antibiotics of various groups

Антибиотик	Резистентные	Слабочувствительные	Высокочувствительные
Ципрофлоксацин	44,00 ± 0,33	56,00 ± 0,83	0,25 ± 0,03
Оксациллин	75,25 ± 0,33	0,75 ± 0,11	4,75 ± 0,03
Норфлоксацин	62,75 ± 0,36	29,25 ± 0,20	8,00 ± 0,36
Ампицилин	64,48 ± 1,86	32,33 ± 1,14	4,50 ± 0,58
Цефепим	54,50 ± 0,40	40,00 ± 0,33	5,25 ± 0,21
Азитромицин	78,69 ± 2,04	17,42 ± 0,23	6,14 ± 0,86
Клиндамицин	70,00 ± 0,13	23,25 ± 0,36	7,00 ± 0,88
Гентамицин	63,00 ± 1,42	32,25 ± 0,36	4,50 ± 0,08
Ванкомицин	67,00 ± 0,08	0,75 ± 0,11	32,75 ± 0,38
Фосфомицин	56,00 ± 0,08	24,80 ± 5,42	19,30 ± 1,45
Меропенем	40,25 ± 1,08	31,00 ± 1,08	29,00 ± 3,11
Цефоперазон сульбактам	24,75 ± 0,36	50,25 ± 1,36	25,00 ± 0,58
Цефокситин	41,75 ± 1,86	40,25 ± 0,86	17,75 ± 0,36
Линезолид	0,25 ± 0,03	50,25 ± 2,36	50,25 ± 2,36
Амоксиклав	37,75 ± 1,36	37,75 ± 3,03	24,25 ± 2,53
Амоксициллин	42,00 ± 0,75	43,50 ± 2,13	14,00 ± 1,08
Цефоперазон	37,75 ± 0,20	42,25 ± 0,45	20,00 ± 0,58

ствуется о необходимости поиска новых подходов при лечении стафилококковой инфекции и разработке эффективных средств для комбинированной терапии на основе вирулентных стафилококковых бактериофагов с целью предупреждения возрастания уровня циркуляции антибиотикорезистентных штаммов *S. aureus*.

Список литературы / References

1. Plumet L., Ahmad-Mansour N., Dunyach-Remy C., Kissa K., Sotto A., Lavigne J.P., Costechareyre D., Molle V. Bacteriophage therapy for *Staphylococcus aureus* infections: a review of animal models, treatments, and clinical trials. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:907314. doi: 10.3389/fcimb.2022.907314
2. Ahmad-Mansour N., Loubet P., Pouget C., Dunyach-Remy C., Sotto A., Lavigne J.P., Molle V. *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. *Toxines (Basel)*. 2021;13(10):677. doi: 10.3390/toxins13100677
3. Токаева Б.Т., Кималыкова Х.Х., Угушева Д.Х., Шихова Т.С. Анализ чувствительности золотистого стафилококка к антибиотикам. *Наука и здравоохранение*. 2014;(2):92–94.
4. Tokaeva B.T., Kimalyakova Kh.Kh., Ugusheva D.Kh., Shikhova T.S. Analysis of sensitiveness of *Staphylococcus aureus* to the antibiotics. *Nauka i zdravookhraneniye = Science and Healthcare*. 2014;(2):92–94. [In Russian].

4. Roca I., Akova M., Baquero F., Carlet J., Cavaleri M., Coenen S., Cohen J., Findlay D., Gyssens I., Heuer O.E., ... Vila J. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes New Infect.* 2015;6:22–29. doi: 10.1016/j.nmni.2015.02.007

5. Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А. Антибиотикорезистентность в современном мире. *Педиатр. фармакол.* 2017;14(5):341–354. doi: 10.15690/pf.v14i5.1782

6. Namazova-Baranova L.S., Baranov A.A. Antibiotic resistance in the modern world. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*. 2017;14(5):341–354. [In Russian]. doi: 10.15690/pf.v14i5.1782

6. Kwiecinski J.M., Horswill A.R. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. *Curr. Opin. Microbiol.* 2020;53:51–60. doi: 10.1016/j.mib.2020.02.005

7. King D.T., Sobhanifar S., Strynadka N.C.J. One ring to rule them all: Current trends in combating bacterial resistance to the beta-lactams. *Protein Science*. 2016;25(4):787–803. doi: 10.1002/pro.2889

8. Turner N.A., Sharma-Kuinkel B.K., Maskarinec S.A., Eichenberger E.M., Shah P.P., Carugati M., Holland T.L., Fowler V.G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: overview of basic and clinical research. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019;17(4):203–218. doi: 10.1038/s41579-018-0147-4

9. Kolenda C., Medina M., Bonhomme M., Laumay F., Roussel-Gaillard T., Martins-Simoes P., Tristan A.,

Pirot F., Ferry T., Laurent F., PHAGEinLYON Study Group. Phage therapy against *Staphylococcus aureus*: selection and optimization of production protocols of novel broad-spectrum silviavirus phages. *Pharmaceutics*. 2022;14(9):1885. doi: 10.3390/pharmaceutics14091885

10. Atshan S.S., Hamat R.A., Aljaberi M.A., Chen J.S., Huang S.W., Lin C.Y., Mullins B.J., Kicic A. Phage therapy as an alternative treatment modality for resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(2):286. doi: 10.3390/antibiotics12020286

11. Kebriaei R., Lehman S.M., Shah R.M., Stampfer K.C., Kunz Coyne A.J., Holger D., El Ghali A.,

Rybak M.J. Optimization of phage-antibiotic combinations against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbiol. Spectr.* 2023;11(3): e0491822. doi: 10.1128/spectrum.04918-22

12. Шепелин А.П., Домотенко Л.В. Диск-диффузионный метод для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. *Поликлиника*. 2019;4(1):2–5.

Shepelin A.P., Domotenko L.V. Disk diffusion method for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. *Poliklinika = Polyclinic*. 2019;4(1):2–5 [In Russian].

Сведения об авторах:

Абдрахманова Радмила Охасовна, ORCID: 0000-0003-0536-8149, e-mail: radmilaazo@mail.ru
Тазова Эльмира Галиевна, ORCID: 0009-0006-7011-4267, e-mail: ametist07@mail.ru
Генатуллина Гузель Наилевна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-5417-4477, e-mail: genatullina@mail.ru
Баева Гузель Ренатовна, ORCID: 0009-0008-8578-7303, e-mail: guzel.baeva@mail.ru
Даудова Адилья Джигангировна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-8607-2395, e-mail: адаудова@mail.ru
Демина Юлия Заурбековна, ORCID: 0000-0003-0428-2570, e-mail: j_d_79@mail.ru
Ясенявская Анна Леонидовна, к.м.н., ORCID ID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen_9@mail.ru
Рубальский Олег Васильевич, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0002-2904-9276, e-mail: rubalsky6@mail.ru

Information about the authors:

Radmila O. Abdrakhmanova, ORCID: 0000-0003-0536-8149, e-mail: radmilaazo@mail.ru
Elmira G. Tazova, ORCID: 0009-0006-7011-4267, e-mail: ametist07@mail.ru
Guzel N. Genatullina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5417-4477, e-mail: genatullina@mail.ru
Gyuzel R. Baeva, ORCID: 0009-0008-8578-7303, e-mail: guzel.baeva@mail.ru
Adilya D. Daudova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8607-2395, e-mail: адаудова@mail.ru
Yulia Z. Demina, ORCID: 0000-0003-0428-2570, e-mail: j_d_79@mail.ru
Anna L. Yasyavskaya, candidate of medical sciences, ORCID ID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen_9@mail.ru
Oleg V. Rubalsky, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0002-2904-9276, e-mail: rubalsky6@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2023
После доработки 04.07. 2023
После повторной доработки 15.09.2023
Принята к публикации 18.09.2023

Received 16.06.2023
Revision received 04.07. 2023
Second revision received 15.09.2023
Accepted 18.09.2023

Исследование фунгицидного действия химерной формы интерферона альфа-2б в отношении грибов-патогенов растений и животных

В.С. Масленникова^{1,2}, С.М. Мирошниченко¹, Е.В. Шелихова^{1,2}, К.А. Табанюхов^{1,2}, И.Ю. Деулин¹, М.Б. Пыхтина¹

¹ ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный аграрный университет

630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

Резюме

Цель настоящего исследования – оценить фунгицидное действие химерной формы рекомбинантного интерферона альфа-2б, слитого с аполипопротеином А-I человека, полученного биосинтезом в дрожжах *Pichia pastoris*, в отношении значимых грибных патогенов – возбудителей заболеваний человека и растений. **Материал и методы.** Оценка фунгицидной активности химерного цитокина проводили с использованием метода агаровых блоков против грибных патогенов: *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp. Фунгицидное действие оценивали визуально и микроскопированием участка тела гриба, окрашенного метиленовым синим, всхожесть спор грибов – методом пересева, цитотоксичность препаратов интерферонов – на культуре клеток Vero. **Результаты и их обсуждение.** Исследуемые рекомбинантные интерфероны подавляют рост и размножение грибов-патогенов. Наибольшим эффектом обладает химерный интерферон в отношении патогенных грибов *A. alternata*, *Penicillium* в концентрации 15 нг/мл, ингибирование спорообразования грибов *F. oxysporum* и *Aspergillus* до 87 % достигается при концентрации 150 нг/мл. Цитотоксичность химерного цитокина составляет 5,8 мкг/мл, что значительно больше токсичных концентраций для грибов. **Заключение.** Новый химерный интерферон альфа-2б может быть использован в качестве иммунотерапевтического средства, обладающего фунгицидной активностью.

Ключевые слова: рекомбинантный интерферон, аполипопротеин А-I, патогенные грибы, фунгицидное действие, цитотоксичность.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Пыхтина М.Б., e-mail: pykhtina_maria@mail.ru

Для цитирования: Масленникова В.С., Мирошниченко С.М., Шелихова Е.В., Табанюхов К.А., Деулин И.Ю., Пыхтина М.Б. Исследование фунгицидного действия химерной формы интерферона альфа-2б в отношении грибов-патогенов растений и животных. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):130–137. doi: 10.18699/SSMJ20230616

Study of the fungicidal effect of the chimeric form of interferon alpha-2b in relation to fungi-pathogens of plants and animals

V.S. Maslennikova^{1,2}, S.M. Miroshnichenko¹, E.V. Shelikhova^{1,2}, K.A. Tabanyukhov^{1,2}, I.Yu. Deulin¹, M.B. Pykhtina¹

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine

630117, Novosibirsk, Timakova st., 2

² Novosibirsk State Agrarian University

630039, Novosibirsk, Dobrolyubova st., 160

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the fungicidal effect of a chimeric form of recombinant interferon alpha-2b, fused with human apolipoprotein A-I, obtained by biosynthesis in the yeast *Pichia pastoris*, against significant fungal

pathogens – pathogens of human and plant diseases. **Material and methods.** The fungicidal activity of the chimeric cytokine was assessed using the agar block method against fungal pathogens: *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. The fungicidal effect was assessed visually and by microscopy of a section of the fungal body stained with methylene blue, the germination of fungal spores – by subculture, the cytotoxicity of interferon preparations – on Vero cell culture. **Results and discussion.** The studied recombinant interferons suppress the growth and reproduction of pathogenic fungi. Chimeric IFN has the greatest effect against pathogenic fungi *A. alternate*, *Penicillium* at a concentration of 15 ng/ml; inhibition of sporulation of fungi *F. oxysporum* and *Aspergillus* up to 87 % is achieved at a concentration of 150 ng/ml. The cytotoxicity of the new chimeric cytokine is 5,8 µg/ml, which is significantly more than toxic concentrations for fungi. **Conclusions.** The chimeric form of interferon alpha-2b can be used as an immunotherapeutic agent with fungicidal activity.

Key words: recombinant interferon, apolipoprotein A-I, pathogenic fungi, fungicidal effect, cytotoxicity.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Pykhtina M.B., e-mail: pykhtina_maria@mail.ru

Citation: Maslennikova V.S., Miroshnichenko C.M., Shelikhova E.V., Tabanyukhov K.A., Deulin I.Yu., Pykhtina M.B. Study of the fungicidal effect of the chimeric form of interferon alpha-2b in relation to fungi-pathogens of plants and animals. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):130–137. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230616

Введение

Системные грибковые инфекции представляют серьезную угрозу для человека, особенно для лиц с ослабленным иммунитетом, и по некоторым оценкам ежегодно являются причиной смерти 1,6 млн человек [1]. За последние десятилетия распространенность грибковых инфекций возросла с связи с увеличением использования иммунодепрессантов в онкологии или трансплантации, а также у пациентов с различными иммунодефицитами.

Грибковые патогены у людей вызывают широкий спектр инфекций, а воздействие грибковых компонентов, включая споры, в помещениях является фактором развития респираторной аллергии (аллергического ринита и бронхиальной астмы), а также атопического дерматита [2]. Высокой сенсибилизирующей способностью обладают грибки рода *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* [3]. К примеру, *Asp. fumigatus* за последнее десятилетие стал одним из наиболее клинически значимых грибковых патогенов. Попадая через носовые пазухи в легкие, данный возбудитель может стать причиной развития серьезных легочных заболеваний, особенно у пациентов с иммунодефицитом [4]. Повышенная чувствительность к *A. alternata* зачастую приводит к развитию аллергической астмы и атопического дерматита [5]. Виды рода *Fusarium* являются значимыми патогенами растений, но также вызывают широкий спектр поверхностных (кератит, онихомикоз) или дессиминированных инфекций, причем последние встречаются ис-

ключительно у пациентов с тяжелым иммунодефицитом [6].

На фармацевтическом рынке доминируют четыре основных класса противогрибковых средств: азолы, ингибирующие синтез эргостерина; полиены, взаимодействующие со стеролами мембран грибов; эхинокандины, ингибирующие синтез глюканов; и фторированные пиримидины, нарушающие метаболизм пиримидинов, что приводит к ингибированию биосинтеза ДНК и РНК [7]. Однако высокая смертность от грибковых инвазий, длительный курс лечения, узкий спектр активности и высокая токсичность противогрибковых агентов определяют необходимость разработки новых терапевтических стратегий борьбы с грибковыми инфекциями. Иммуномодулирующая терапия в сочетании с существующей противогрибковой терапией является все более признанной стратегией в их лечении. Существующие методы иммунотерапии, включающие применение рекомбинантного интерферона-γ и GM-CSF, широко используются для лечения микозов у пациентов с ослабленным иммунитетом [8, 9].

Интерфероны I типа играют решающую роль в противовирусной защите хозяина, и противовирусные препараты на их основе широко представлены на фармацевтическом рынке. Однако в последнее время появляется все больше доказательств важной роли интерферонов I типа в защите от инфекций, вызванных грибковыми патогенами [10, 11]. Целью настоящей работы являлось изучение возможности использования пролонгированной формы ИФН альфа-2б, слитого с аполипопротеином А-I человека, в качестве противогрибкового агента в отношении ряда возбудителей заболеваний у растений и человека.

Материал и методы

Выделение патогенных грибов

Фунгицидное действие препаратов интерферона исследовали в отношении патогенных грибов *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. Грибы *A. alternata* (Fr.) Keissl. и *F. oxysporum* Schlecht., которые были выделены из пораженных клубней картофеля сорта Розара (г. Новосибирск, Дзержинский район) в 2022 г. стандартным методом [12], *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp. – из почвенных образцов Новосибирской области стандартным посевом на чашки Петри на среду Чапека и выращиванием при 25 °C.

Оценка фунгицидного действия рекомбинантных интерферонов

Исследование фунгицидной активности проводили на препаратах рекомбинантных интерферонов альфа-2б, полученных биосинтезом в *Pichia pastoris* – как аутентичного интерферона (рИФН), так и его химерной формы с аполипопротеином А-I (рИФН-АI) [13]. Первоначально проводили раститровку концентраций рИФН для выяснения рабочего диапазона его фунгицидной активности. Фунгицидное действие рекомбинантных интерферонов против выделенных патогенов изучали с использованием методики агаровых блоков. В питательную среду Чапека вносили рИФН в концентрациях 1,5, 15 и 150 нг/мл и разливали в чашки Петри. Предварительно готовили чашки с *A. alternate* и *F. oxysporum*, доращивая до состояния полного покрытия мицелием гриба поверхности агара. На одинаковом расстоянии от центра колонии по окружности вырезали кусочки мицелия размером 1×1 см² и помещали в центр каждой чашки (опытных и контрольных образцов). Все патогены оценивали в пяти повторях. Фунгицидное действие интерферонов оценивали по величине диаметра колонии гриба в сравнении с контролем (среда Чапека без цитокина). Выбранную рабочую концентрацию рИФН использовали далее для оценки фунгицидной активности химерного цитокина в отношении *A. alternata*, *F. oxysporum*, *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp. В качестве положительного контроля использовали коммерческий препарат ИФН альфа-2б «Альтевир» («Фармстандарт», РФ) (далее – ИФН). Учет проводили на 2-е, 4-е, 7-е и 10-е сутки. Фунгицидное действие препаратов оценивали по величине диаметра колонии и количеству колоний. На 10-е сутки выполняли микроскопирование стандартно окрашенных метиленовым синим фитопатогенных грибов (Axio Lab.A1, Zeiss AG, Германия), оценивая состояние мицелия и конидий. На

10-е сутки пересеивали спорообразующие грибы из контрольных и опытных чашек на среды без добавок цитокинов. Подсчитывали количество новых колоний.

При выполнении статистической обработки полученных результатов определяли значения медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]). Достоверность различий с контролем вычисляли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Оценка цитотоксичности препаратов интерферона на клетках Vero

Исследование цитотоксичности рекомбинантных ИФН проводили в сравнении с препаратом «Альтевир». Клетки Vero культивировали в 48-луночных планшетах до монослойной культуры, вносили цитокины в концентрациях 1, 3, 6, 9 и 27 мкг/мл и культивировали в течение 24 ч. Клетки с планшета снимали TrypLE, ресуспендировали в 100 мкл фосфатно-солевого буфера и подсчитывали общее количество в каждой лунке с использованием проточного цитометра CytoFlex S100 (Beckman Coulter, США). Анализ проводили в трех повторях. Данные выражали в виде среднего арифметического и ошибки среднего ($M \pm m$).

Результаты и их обсуждение

Фунгицидное действие

На 5-е сутки прединкубации патогенных грибов *F. oxysporum* и *A. alternate* с рИФН его ингибирующее действие наблюдалось при концентрациях 150 и 15 нг/мл (рис. 1). В дальнейшем для анализа влияния фунгицидной активности рИФН-АI использовали дозу 15 нг/мл – меньшую из концентраций, оказывающих значимый эффект. В качестве положительного контроля использовали ИФН.

На 2-е сутки прединкубации *A. alternate* с 15 нг/мл рИФН-АI происходило сокращение площади мицелия по сравнению с контролем, однако диаметр колонии не изменился. На 4-е сутки инкубации с ИФН диаметр колонии составил 2,61 [2,5; 2,73] мм и имел статистически значимое отличие от контроля – 2,95 [2,78; 3,2] мм и рИФН-АI – 2,93 [2,9; 3,03] мм. Химерная форма незначительно замедляла рост колонии, что видно на рис. 2, однако существенно ингибировала спорообразование. Для полного ингибирования требуется, видимо, не только повышение дозы цитокина до 150 нг/мл, но и, возможно, комбинация с препаратами, замедляющими и ингибирующими рост колоний. Цитокины, особенно рИФН-АI, на 7-е сутки роста существенно угнетали репродуктивную эффективность гриба: если в контроле ко-

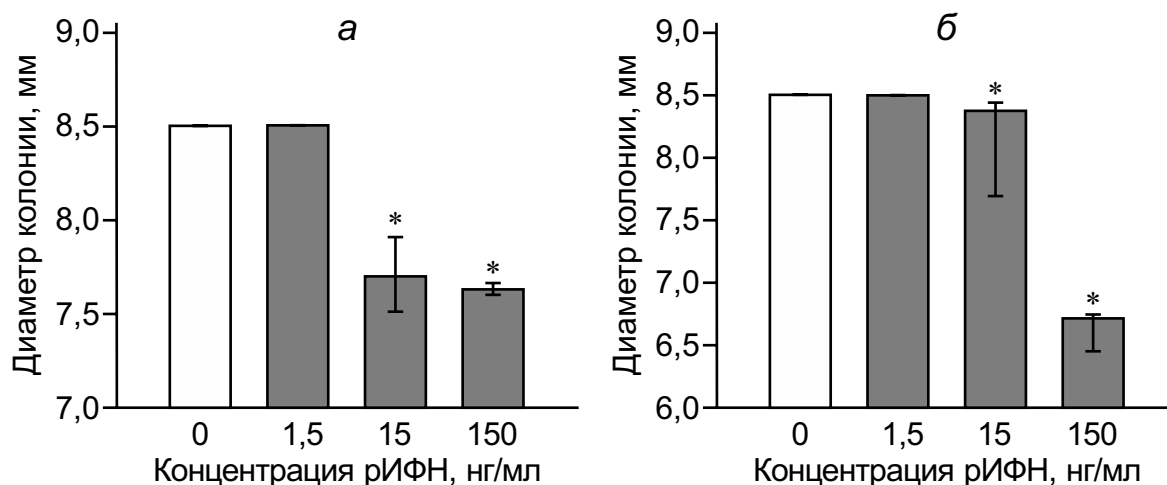


Рис. 1. Диаметр колоний грибов *A. alternata* (а) и *F. oxysporum* (б) на 5-е сутки роста; * – отличие от величины показателя группы контроля статистически значимо при $p < 0,05$

Fig. 1. Diameter of colonies of *A. alternata* (а) and *F. oxysporum* fungi (б) on the 5th day of growth; * $p < 0.05$ compared to control

личество колоний составляло 195,5 [177,2; 205,5], то в присутствии 15 нг/мл ИФН – 62,5 [58,0; 66,5], в присутствии 15 нг/мл рИФН-А1 – 24,0 [22,0; 26,5]. После 10 суток роста гриба на средах с цитокинами был произведен пересев гриба на среду, не содержащую добавок, для уточнения ингибирующего действия препаратов. Результаты микроскопирования грибов *A. alternata* также выявили фунгистатический эффект рИФН-А1: в опытных вариантах наблюдались разрушенные гифы мицелия, сниженное количество конидий и уменьшение размеров спор (см. рис. 2.).

При предынкубации *F. oxysporum* с исследуемыми цитокинами на 2-е сутки эксперимента диаметр колоний значительно уменьшался относительно контроля (3,4 [3,4; 3,5] мм) только в случае рИФН-А1 – 3,2 [3,2; 3,2] мм, $p < 0,05$; для рИФН соответствующее значение составило 3,6 [3,4; 3,6] мм, $p > 0,05$; на 4-е сутки достоверных различий по диаметру колоний для цитокинов, взятых в концентрации 15 нг/мл, не наблюдалось. На 7-е сутки мицелий заполнял весь объем чашки Петри в контрольных образцах; в образцах, содержащих цитокины, мицелий был частично редуцирован. Также в случае с рИФН-А1, взятым в концентрации 150 нг/мл, наблюдалась значительная редукция спорообразования *F. oxysporum* – на 87 % относительно контроля (соответственно 41,5 [32,75; 52,5] и 325 [301; 378,25] спор, $p < 0,05$; для рИФН – 279,5 [268,0; 288,8], $p > 0,05$). Пересев спор с образцов, растущих в присутствии 15 нг/мл цитокинов, несмотря на 10-кратное снижение их концентрации в питательной среде, вызвал ингибирование роста колоний гриба (рис. 3).

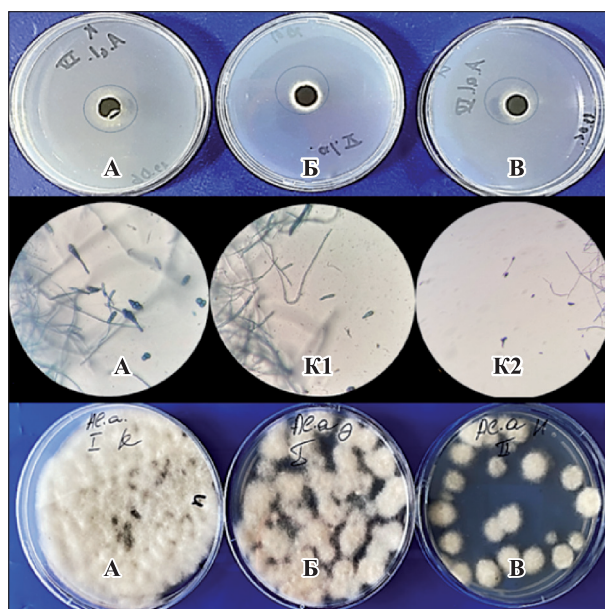


Рис. 2. Репрезентативные фотографии *A. alternata*: А – контроль, Б – ИФН, В – рИФН-А1; верхний ряд – рост в течение двух суток; средний ряд – мицелий и споры гриба в контроле и в присутствии 15 (K1) и 150 нг/мл рИФН-А1 (K2); нижний ряд – пересев 10-суточного гриба на среду, не содержащую добавок

Fig. 2. Representative photographs of *A. alternata*: A – control, Б – IFN, В – rIFN-A1; top row – growth over 2 days; middle row – mycelium and spores of the fungus in the control and in the presence of rIFN-A1 – K1 (15 ng/ml) and K2 (150 ng/ml); bottom row – re-seeding of a 10-day-old fungus onto a medium without additives

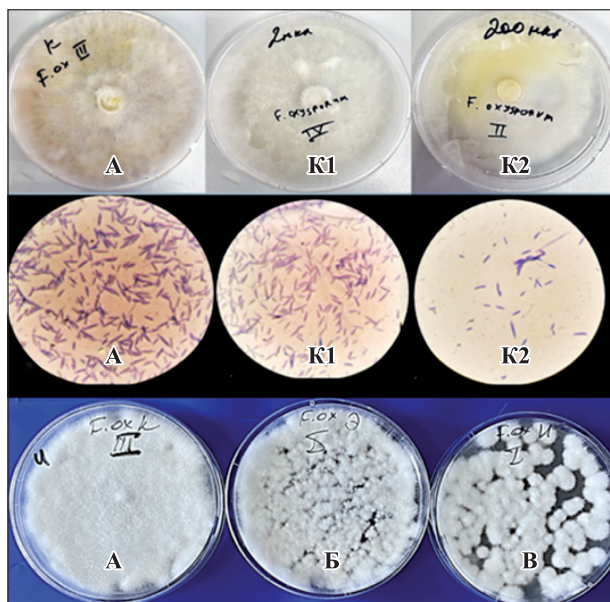


Рис. 3. Репрезентативные фотографии *F. oxysporum*: А – контроль, Б – ИФН, В – рИФН-АИ; К1 – 15 нг/мл рИФН-АИ, К2 – 150 нг/мл рИФН-АИ. Верхний ряд – рост в течение семи суток; средний ряд – споры (640×); нижний ряд – пересев 10-суточного гриба на среду, не содержащую добавок

Fig. 3. Representative photographs of *F. oxysporum*. А – control, Б – IFN, В – rIFN-AI; К1 – 15 ng/ml rIFN-AI, К2 – 150 ng/ml rIFN-AI. Top row – growth over 7 days; middle row – spores, (640x); bottom row – reseeded of a 10-day-old mushroom on a medium that does not contain additives

Фунгицидное действие в отношении *Penicillium* spp.

На 4-е и 7-е сутки прединкубации *Penicillium* с ИФН и рИФН-АИ количество колоний статистически значимо отличалось от контроля, соответственно 32,5 [25,8; 37,0], 23,5 [19,5; 27,5] и 48,5 [45,8; 52,0]; 23,5 [16,5; 32,0], 27,5 [15,0; 38,5], 48,0 [43,5; 59,0]; цитокины подавляют рост колоний *Penicillium*, как видно на рис. 4. Пересев спор на среду, не содержащую цитокинов, выявил существенную разницу в разрастании мицелия гриба. В контроле рост колонии происходил во всех направлениях, заполняя весь объем чашки; в присутствии ИФН образовалась одна сплошная тонкая пленка гриба, рИФН-АИ задерживал рост колоний, уменьшая как их количество, так и размер.

Фунгицидное действие в отношении *Aspergillus* spp.

ИФН и рИФН-АИ статистически значимо ингибировали рост колоний относительно контроля (рис. 5), на 7-е сутки их количество со-

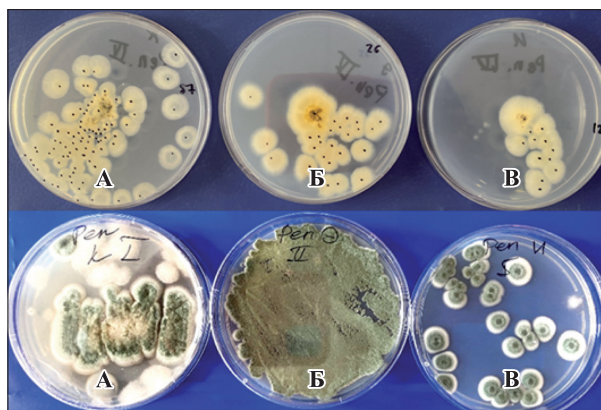


Рис. 4. Репрезентативные фотографии *Penicillium*: А – контроль, Б – ИФН, В – рИФН-АИ. Верхний ряд – рост в течение четырех суток; нижний ряд – пересев 10-суточного гриба на среду, не содержащую добавок

Fig. 4. Representative photographs of *Penicillium*. А – control, Б – IFN, В – rIFN-AI. Top row – growth over 4 days; bottom row – reseeded a 10-day-old mushroom onto a medium that does not contain additives

ставляло 314 [192,2; 352,5], 164,0 [113,0; 200,0] и 472,0 [399,0; 728,0] соответственно. При пересеве 10-суточного гриба в контроле наблюдалось полное и плотное заполнение чашки грибом, в присутствии ИФН и рИФН-АИ ИФН (15 нг/мл) количество колоний уменьшалось, в последнем случае – более выражено.

Известно, что препараты интерферонов наряду с высокой противовирусной активностью про-

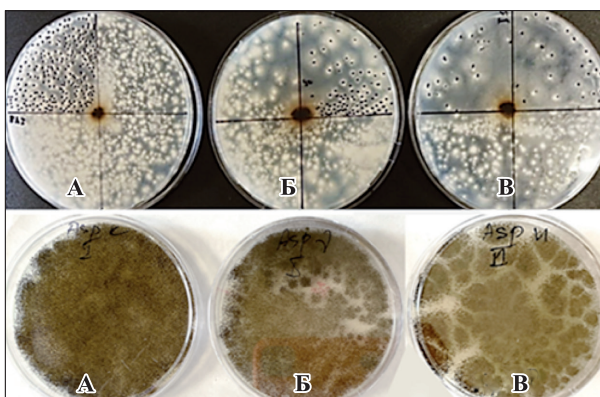


Рис. 5. Репрезентативные фотографии *Aspergillus*: А – контроль, Б – ИФН, В – рИФН-АИ. Верхний ряд – рост в течение семи суток; нижний ряд – пересев 10-суточного гриба на среду, не содержащую добавок

Fig. 5. Representative photographs of *Aspergillus*: А – control, Б – IFN, В – rIFN-AI. Top row – growth over 7 days; bottom row – reseeded of a 10-day-old fungus on a medium not containing additives

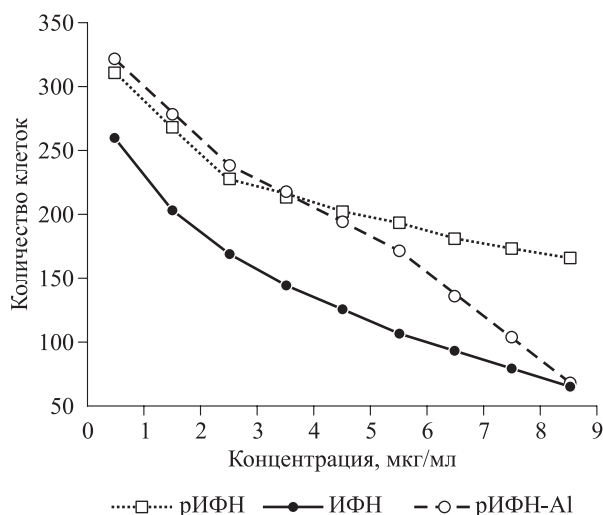


Рис. 6. Цитотоксический эффект рекомбинантных интерферонов на клетках Vero.

Fig. 6. Cytotoxic effect of recombinant interferons on Vero cells.

являют токсическое действие в отношении клеток млекопитающих (рис. 6). Анализ цитотоксичности полученных нами рекомбинантных интерферонов показал, что она проявлялась уже начиная с 1 мкг/мл; 50%-я ингибирующая концентрация для рИФН составила $7,6 \pm 0,45$ мкг/мл, для ИФН — $2,6 \pm 0,4$ мкг/мл, для рИФН-А1 — $5,8 \pm 0,45$ мкг/мл.

Обсуждение

Впервые установлено прямое фунгистатическое действие интерферонов I типа на спорообразующие грибы *A. alternate*, *F. oxysporum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, проявленное в ингибировании разрастания мицелия и нарушении спорообразования. Все эти патогенные грибы являются сильными аллергенами и представляют серьезную опасность при наличии фона иммунодефицита хозяина. В случае *A. alternate* и *Penicillium* концентрация рИФН-А1 15 нг/мл позволяет достичь ингибирование спорообразования до 87 %, для получения аналогичного результата в отношении грибов *F. oxysporum* и *Aspergillus* требовалось 10-кратное превышение концентрации химерного цитокина (150 нг/мл).

В последнее время появляется все больше данных об участии интерферонов I типа в противогрибковом иммунитете. Полиморфизмы генов, связанных с ИФН-I, ассоциированы с повышенной предрасположенностью к кандидозам [14] и аспергиллезу [15]. Обнаружено, что секреция ИФН-I зависит от опосредованного дектином-1 распознавания β -глюкана клеточной стенки *A. fumigatus* [10]. От функционирования

β -глюкансинтазы зависит целостность клеточной стенки грибов, фермент широко распространен среди грибов родов *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* и *Pneumocystis* и является мишенью широко назначаемых противогрибковых препаратов, таких как эхинокандины, угнетающие синтез клеточной стенки гриба путем ингибирования данного фермента [16]. Блокирование β -глюкансинтазы приводит к отрицательной обратной связи, вызывая остановку клеточного цикла. Возможно, что химерная форма интерферона, ингибируя спорообразование, нарушает целостность клеточной стенки гриба. Поскольку естественным свойством апо А-I является способность связывания белков и липидов [17, 18], он может взаимодействовать со сфинголипидами клеточной стенки гриба, которые участвуют в устойчивости гриба против фунгицидных препаратов, а также модулируют иммунный ответ хозяина [19]. Грибковые сфинголипиды связаны с различными липидными микродоменами [20]. Можно предположить, что молекулы химерной формы ИФН с апо А-I, взаимодействуя с мембраной клетки патогенного гриба, вызывают изменения в липидных рафтах, тем самым угнетая его защитные силы. Противогрибковые препараты обладают прямыми фунгицидными или фунгистатическими свойствами, а эффект всех видов интерферонов рассматривают через взаимодействие с клетками иммунной системы хозяина [21, 22]. В данной работе показано значительное прямое влияние химерной формы ИФН на спорообразование четырех исследованных грибов, при этом стоит отметить, что 50%-я токсичность для эукариотических клеток достигается при ее концентрации 5,8 мкг/мл. Таким образом, токсичные концентрации цитокинов для грибных патогенов значительно меньше концентраций, токсичных для клеток млекопитающих, что позволяет рассматривать интерфероны I типа и рИФН-А1 в качестве адъювантных препаратов в сочетании с типичными противогрибковыми препаратами для лечения заболеваний, вызванных этими патогенами.

Заключение

Впервые показано, что интерфероны I типа оказывают прямое ингибирующее влияние на грибы, воздействуя большей частью на стадию спорообразования, при этом химерная форма цитокина проявляет значительно более выраженное фунгистатическое воздействие и, вероятно, может применяться в качестве адъювантной терапии микозов.

Список литературы / References

1. Bongomin F., Gago S., Oladele R.O., Denning D.W. Global and multi-national prevalence of fungal diseases-estimate precision. *J. Fungi (Basel)*. 2017;3(4):57. doi: 10.3390/jof3040057
2. Celakovská J., Josef B., Ettler K., Vaneckova J., Ettlerova K., Jan K. Sensitization to fungi in atopic dermatitis patients 14 year and older – Association with other atopic diseases and parameters. *Indian J. Dermatol.* 2018;63(5):391–398. doi: 10.4103/ijid.IJD_493_17
3. Limon J.J., Skalski J.H., Underhill D.M. Commensal fungi in health and disease. *Cell Host Microbe*. 2018;22(2):156–165. doi: 10.1016/j.chom.2017.07.002
4. Chabi M.L., Goracci A., Roche N., Paugam A., Lupo A., Revel M.P. Pulmonary aspergillosis. *Diagn. Interv. Imaging*. 2015;96(5):435–442. doi: 10.1016/j.diii.2015.01.005
5. Abel-Fernández E., Martínez M.J., Galán T., Pineda F. Going over fungal allergy: alternaria alternata and its allergens. *J. Fungi (Basel)*. 2023;9(5):582. doi: 10.3390/jof9050582
6. Nucci M., Anaissie E. Cutaneous infection by *Fusarium* species in healthy and immunocompromised hosts: implications for diagnosis and management. *Clin. Infect. Dis.* 2002;35(8):909–920. doi: 10.1086/342328
7. Roemer T., Krysan D.J. Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2014;4(5):a019703. doi: 10.1101/cshperspect.a019703
8. Sam Q.H., Yew W.S., Seneviratne C.J., Chang M.W., Chai L.Y.A. Immunomodulation as therapy for fungal infection: Are we closer? *Front. Microbiol.* 2018;9:1612. doi: 10.3389/fmicb.2018.01612
9. Assendorp E.L., Gresnigt M.S., Sprenkel EG.G., Meis J.F., Dors N., van der Linden J.W.M., Henriët S.S.V. Adjunctive interferon- γ immunotherapy in a pediatric case of *Aspergillus terreus* infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2018;7(10):1915–1922. doi: 10.1007/s10096-018-3325-4
10. Dutta O., Espinosa V., Wang K., Avina S., Rivera A. Dectin-1 promotes type I and III interferon expression to support optimal antifungal immunity in the lung. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020;10:321. doi: 10.3389/fcimb.2020.00321
11. Li T., Liu Z., Zhang X., Chen X., Wang S. Therapeutic effectiveness of type I interferon in vulvovaginal candidiasis. *Microb. Pathog.* 2019;134:103562. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103562
12. Масленникова В.С., Цветкова В.П., Бедарева Е.В., Калмыкова Г.В., Дубовский И.М. Ростостимулирующие, антиоксидантные и фунгицидные свойства эндофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* на картофеле при заражении ризоктониозом. *Достиж. науки и техн. АПК*. 2022;36(7):49–55. doi: 10.53859/02352451_2022_36_7_49
13. Масленникова В.С., Тсвetskova В.П., Бедарева Е.В., Калмыкова Г.В., Дубовский И.М. Growth-promoting, antioxidant, and fungicidal properties of endophytic bacteria *Bacillus thuringiensis* on potatoes infected with rhizoctonia root and stem rot. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2022;36(7):49–55. [In Russian]. doi: 10.53859/02352451_2022_36_7_49
14. Беклемишев А.Б., Пыхтина М.Б. Рекомбинантная плазмидная ДНК, кодирующая химерный интерферон alpha-2b, рекомбинантный штамм дрожжей *P. pastoris* X33 – продуцент химерного интерферона alpha-2b и способ получения указанного белка. Пат. 2764787 РФ; опубл. 21.01.2022.
15. Beklemishev A.B., Pykhtina M.B. Recombinant plasmid DNA encoding chimeric interferon alpha2b, recombinant yeast strain *P. pastoris* X33 – producer of chimeric interferon alpha2b and a method for producing the specified protein. Patent 2764787 RF; published 01.21.2022. [In Russian]
16. Smeekens S.P., Ng A., Kumar V., Johnson M.D., Plantinga T.S., van Diemen C., Arts P., Verwiel E.T.P., Gresnigt M.S., Fransen K., ... Xavier R.J. Functional genomics identifies type I interferon pathway as central for host defense against *Candida albicans*. *Nat. Commun.* 2013;4:1342. doi: 10.1038/ncomms2343
17. Wang X., Cunha C., Grau M.S., Robertson S.J., Lacerda J.F., Campos A.Jr, Lagrou K., Maertens J., Best S.M., Carvalho A., Obar J.J. MAVS expression in alveolar macrophages is essential for host resistance against *Aspergillus fumigatus*. *J. Immunol.* 2022;209(2):346–353. doi: 10.4049/jimmunol.2100759
18. Liu J., Balasubramanian M.K. 1,3-beta-Glucan synthase: a useful target for antifungal drugs. *Curr. Drug Targets. Infect. Disord.* 2001;1(2):159–169. doi: 10.2174/1568005014606107
19. Marcel Y.L., Kiss R.S. Structure-function relationships of apolipoprotein A-I: a flexible protein with dynamic lipid associations. *Curr. Opin. Lipidol.* 2003;14(2):151–157. doi: 10.1097/00041433-200304000-00006
20. Kuai R., Li D., Chen Y.E., Schwendeman A. High-density lipoproteins: nature's multifunctional nanoparticles. *ACS Nano*. 2016;10(3):3015–3041. doi: 10.1021/acsnano.5b07522
21. Guimarães L.L., Toledo M.S., Ferreira F.A., Straus A.H., Takahashi H.K. Structural diversity and biological significance of glycosphingolipids in pathogenic and opportunistic fungi. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014;4:138. doi: 10.3389/fcimb.2014.00138
22. Malinsky J., Opekarová M., Grossmann G., Tanner W. Membrane microdomains, rafts, and detergent-resistant membranes in plants and fungi. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013;64:501–529. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120103
23. Schnepf D., Staeheli P. License to kill: IFN- λ regulates antifungal activity of neutrophils. *Sci. Immunol.* 2017;2(17):eaap9614. doi: 10.1126/sciimmunol.aap9614

22. Gil-Lamaignere C., Winn R.M., Simitsopoulou M., Maloukou A., Walsh T.J., Roilides E. Interferon gamma and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor augment the antifungal activity of human polymorphonuclear leukocytes against *Scedosporium* spp.: comparison with *Aspergillus* spp. *Med. Mycol.* 2005;43(3):253–260. doi: 10.1080/13693780412331271072

Информация об авторах:

Масленникова Владислава Сергеевна, ORCID: 0000-0003-4564-6780, e-mail: vladislava.maslennikova@mail.ru
Мирошниченко Светлана Михайловна, ORCID: 0000-0002-6740-8241, e-mail: svmiro@yandex.ru
Шелихова Евгения Владиславовна, ORCID: 0000-0003-1757-8303, e-mail: shelikhova.ev@yandex.ru
Табанюхов Кирилл Александрович, ORCID: 0000-0002-0569-6532, e-mail: tabanyuhov93@mail.ru
Деулин Илья Юрьевич, ORCID: 0000-0001-9470-4153, e-mail: diy@frcftm.ru
Пыхтина Мария Борисовна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-7808-9274, e-mail: pykhtina_maria@mail.ru

Information about the authors:

Vladislava S. Maslennikova, ORCID: 0000-0003-4564-6780, e-mail: vladislava.maslennikova@mail.ru
Svetlana M. Miroshnichenko, ORCID: 0000-0002-6740-8241, e-mail: svmiro@yandex.ru.
Evgeniya V. Shelikhova, ORCID: 0000-0003-1757-8303, e-mail: shelikhova.ev@yandex.ru
Kirill A. Tabanyukhov, ORCID: 0000-0002-0569-6532, e-mail: tabanyuhov93@mail.ru
Ilya Yu. Deulin, ORCID: 0000-0001-9470-4153, e-mail: diy@frcftm.ru
Mariya B. Pykhtina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-7808-9274, e-mail: pykhtina_maria@mail.ru

Поступила в редакцию 05.10.2023

После доработки 18.10.2023

После повторной доработки 01.11.2023

Принята к публикации 01.11.2023

Received 05.10.2023

Revision received 18.10.2023

Second revision received 01.11.2023

Accepted 01.11.2023

Клинические варианты метаболического синдрома у лиц молодого возраста, проживающих в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре

Е.В. Корнеева¹, М.И. Воевода²

¹ Сургутский государственный университет

628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

² ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Резюме

В настоящее время «омоложение» и увеличение количества компонентов метаболического синдрома (МС) определяют его клиническую значимость в более раннем развитии сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний и связанных с ними осложнений. Цель исследования – изучить особенности клинической картины МС в популяции молодых мужчин и женщин, проживающих в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре. **Материал и методы.** В исследование вошли 863 молодых человека в возрасте от 18 до 44 лет, из них 344 – с МС и 519 – группа сравнения. Сформированные подгруппы представлены некоренными мужчинами и женщинами, проживающими в городе и селе, и коренными сельскими жителями. Проведен анализ клинико-лабораторных параметров МС и выделены его клинические варианты для этнических групп. **Результаты и их обсуждение.** Наиболее часто у молодых людей с МС встречалось сочетание абдоминального ожирения и двух компонентов МС (у 50,0 % мужчин и у 55,5 % женщин). В ходе исследования определены регрессионные модели для каждой подгруппы с МС и установлены пороговые значения окружности талии, при которых прогнозировались изменения в липидном и углеводном обмене. **Заключение.** В группах с МС его самым распространенным компонентом определена гипертриглицеридемия. Установлен наиболее частый вариант ассоциации абдоминального ожирения с гиперхолестеринемией липопротеидов низкой плотности и гипертриглицеридемией, в этнических группах данное сочетание распространено чаще у коренных сельских мужчин (53,3 %) и у некоренных городских женщин (54,3 %).

Ключевые слова: метаболический синдром, дислипидемия, гипертриглицеридемия, гипергликемия, артериальная гипертензия, малочисленные народы Крайнего Севера.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Корнеева Е.В., e-mail: evkorneeva39@rambler.ru

Для цитирования: Корнеева Е.В., Воевода М.И. Клинические варианты метаболического синдрома у лиц молодого возраста, проживающих в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):138–147. doi: 10.18699/SSMJ20230617

Clinical variants of the metabolic syndrome in young people living in the Khanty-Mansiysk autonomous region – Yugra

E.V. Korneeva¹, M.I. Voevoda²

¹ Surgut State University

628412, Surgut, Lenina ave., 1

² Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine

630117, Novosibirsk, Timakova st., 2

Abstract

Currently the “rejuvenation” and an increase in the number of components of the metabolic syndrome (MS) determine its clinical significance in the earlier development of diabetes mellitus, cardiovascular diseases and related complications. Aim of the study was to investigate the features of the MS clinic picture in a population of young men and women

living in the Khanty-Mansiysk autonomous region – Yugra. **Material and methods.** The study included 863 young people between 18 and 44 years of age, including 344 men and women with MS and 519 people in the comparison group. Studied subgroups are represented by non-indigenous men and women living in urban and rural areas, and indigenous rural residents. The analysis of MS clinical and laboratory parameters was carried out and its clinical variants in ethnic groups were identified. **Results and its discussion.** According to the results of the survey of young people with metabolic syndrome, it was revealed that the combination of abdominal obesity and two components of MS were most common in young people with MS (in 50.0 % men and in 55.5 % women). The study defined regression models for each MS group and threshold values for waist circumference were set, which changes in lipid and carbohydrate metabolism were predicted. **Conclusions.** In groups with MS, hypertriglyceridemia was determined as its most common component. The study identified the most frequent association of abdominal obesity with hyper-LDL cholesterol and hypertriglyceridemia in patients with metabolic syndrome, in ethnic groups, this combination is more common in indigenous rural men (53.3 %) and in non-indigenous urban women (54.3 %).

Key words: metabolic syndrome, dyslipidemia, hypertriglyceridemia, hyperglycemia, arterial hypertension, indigenous peoples of the Far North.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Korneeva E.V., e-mail: evkorneeva39@rambler.ru

Citation: Korneeva E.V., Voevoda M.I. Clinical variants of the metabolic syndrome in young people living in the Khanty-Mansiysk autonomous region – Yugra. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):138–147. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230617

Введение

В современном представлении метаболический синдром (МС) оценивается как ассоциация неразрывно связанных между собой нарушений липидного, углеводного, пуринового обмена, сопровождающихся развитием артериальной гипертензии (АГ). Составляющие МС являются факторами риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета и сопутствующих кардиоваскулярных осложнений [1, 2]. Сочетание компонентов МС и увеличение их количества способствуют увеличению риска смертности от сердечно-сосудистых осложнений [3].

Ханты-Мансийский автономный округ – Югра (ХМАО – Югра) как любой регион Севера относится к гипокомфортным районам проживания и рассматривается как неблагоприятный с точки зрения экологических и климатогеографических факторов [4]. Вследствие негативного влияния «климатотехногенного стресса» снижается резистентность организма, истощаются его приспособительные резервы, что приводит к развитию заболеваний в молодом возрасте [5, 6]. Такие факторы, как загрязнение окружающей среды, изменение структуры питания, у коренных жителей на Севере отразились на появлении ранее не характерных для них неинфекционных заболеваний (ожирение, атеросклероз, ИБС, АГ, сахарный диабет). За период с 2009 по 2018 г. число ханты и манси с сердечно-сосудистыми заболеваниями выросло на 37,4 %, из них с АГ – в 1,9 раза, с цереброваскулярной болезнью – в 1,7 раза, с ИБС – на 39,6 % [7].

Цель исследования – изучить особенности клинической картины МС в популяции молодых

мужчин и женщин, проживающих в ХМАО – Югре.

Материал и методы

Проведено одномоментное одноцентровое исследование «случай–контроль» в НИИ терапии и профилактической медицины – филиале Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики СО РАН (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН) и в БУ ХМАО – Югре «Сургутская городская клиническая поликлиника № 1», «Федоровская городская больница» и филиале больницы в деревне Русскинская, где наиболее компактно проживают ханты, малочисленный народ Крайнего Севера. Его выполнение одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. Перед началом исследования все участники подписали информированное согласие. С 2015 по 2020 г. по результатам диспансерного наблюдения 863 лиц молодого возраста (18–44 года) сформирована выборка из 344 пациентов с проявлениями МС и 519 человек группы сравнения без МС. С учетом места постоянного проживания и образа жизни сформированы исследуемые подгруппы лиц с МС и без МС (табл. 1).

Коренные мужчины, проживающие в городе, не принимали участие в исследовании (см. табл. 1). Критерии включения: мужчины и женщины, длительно проживающие в условиях, приравненных к Крайнему Северу (ХМАО – Югра) в возрасте 18–44 лет. Критерии исключения: пациенты с хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации, младше 18 и старше 44 лет, беременные и осуществляющие грудное вскармливание. Клинико-лабораторная характеристика лиц

Таблица 1. Схема формирования выборки обследованных лиц молодого возраста, n (%)

Table 1. Scheme for forming a sample of surveyed young people, n (%)

Наличие МС	Мужчины, 283 (32,8 %)			Женщины, 580 (67,2 %)		
	Некоренные, 207 (24,0 %)		Коренные, 76 (8,8 %)	Некоренные, 376 (43,6 %)		Коренные, 204 (23,6 %)
	Городские, 101 (11,7)	Сельские, 106 (12,3)	Сельские, 76 (8,8)	Городские, 138 (16,0)	Сельские, 238 (27,6)	Сельские, 204 (27,6)
Есть	33 (32,7)	40 (37,7)	15 (19,7)	58 (42,0)	106 (44,5)	92 (45,1)
Нет	68 (67,3)	66 (62,3)	61 (80,3)	80 (58,0)	132 (55,5)	112 (54,9)

обследованных представлена в табл. 2, выделенных подгрупп – в табл. 3 и 4. Общеклиническое обследование включало в себя сбор анамнеза, осмотр, антропометрическое исследование (измерение массы тела, роста, окружности талии (ОТ), систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД)), лабораторное – определение в плазме крови уровня общего холестерина (ОХС), ХС липопротеидов низкой (ХС ЛПНП) и высокой (ХС ЛПВП) плотности, триглицеридов (ТГ), глюкозы плазмы натощак (ГПН). Содержание ХС ЛПНП определяли по формуле Фридевальда при концентрации ТГ ниже 4,5 ммоль/л: $\text{ХС ЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ХС ЛПВП} + \text{ТГ}/2,2)$ [8]. Содержание ГПН рассчитывали по формуле:

$\text{ГПН} = -0,137 + 1,047 \times \text{глюкоза сыворотки}$.

Диагноз «Метаболический синдром» устанавливался согласно Рекомендациям экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома, 2009 г. Основным признаком МС является центральный (абдоминальный) тип ожирения – ОТ более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин, дополнительные критерии – артериальная

гипертония (АД $\geq 130/85$ мм рт. ст.), повышение уровня ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л, ХС ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л, снижение содержания ХС ЛПВП ($< 1,0$ ммоль/л у мужчин, $< 1,2$ ммоль/л у женщин), гипергликемия натощак (концентрация глюкозы $\geq 6,1$ ммоль/л), нарушение толерантности к глюкозе (содержание глюкозы в плазме крови через 2 часа после нагрузки глюкозой от 7,8 до 11,1 ммоль/л). Наличие у пациента центрального ожирения и двух дополнительных критериев является основанием для диагностирования у него МС [9].

Непрерывные переменные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения ($M \pm SD$), номинальные данные – в виде относительных частот объектов исследования ($n, \%$). Для оценки различий количественных данных использовали критерий Манна-Уитни, для номинальных данных – точный критерий Фишера. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05. Связь между признаками определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r).

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика обследованных

Table 2. Clinical and laboratory characteristics of the examined people

Параметр	Мужчины		Женщины	
	МС нет, $n = 195$	МС есть, $n = 88$	МС нет, $n = 324$	МС есть, $n = 256$
Возраст, лет	38 ± 6	38 ± 6	38 ± 7	38 ± 7
Масса тела, кг	$78,4 \pm 8,7$	$89,3 \pm 7,0^{***}$	$78,4 \pm 10,5$	$85,3 \pm 7,7^{***}$
ИМТ, кг/м ²	$28,93 \pm 3,48$	$33,52 \pm 2,84^{***}$	$29,56 \pm 3,72$	$33,13 \pm 2,75^{***}$
ОТ, см	$94,0 \pm 12,0$	$99,0 \pm 7,1^{***}$	$88,0 \pm 11,2$	$92,0 \pm 9,3^{***}$
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	$2,64 \pm 0,56$	$3,05 \pm 0,60^{***}$	$2,60 \pm 0,60$	$5,35 \pm 0,63^{***}$
Содержание ОХС, ммоль/л	$5,20 \pm 0,51$	$5,75 \pm 0,45^{***}$	$5,20 \pm 0,54$	$2,50 \pm 0,50^{***}$
Содержание ТГ, ммоль/л	$1,80 \pm 0,70$	$2,80 \pm 0,62^{***}$	$1,75 \pm 0,75$	$2,71 \pm 0,66^{***}$
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	$1,70 \pm 0,40$	$1,10 \pm 0,50^{***}$	$1,70 \pm 0,45$	$1,30 \pm 0,46^{***}$
Содержание ГПН, ммоль/л	$5,20 \pm 1,48$	$6,35 \pm 1,81^{***}$	$5,10 \pm 1,69$	$6,35 \pm 2,21^{***}$
САД, мм рт. ст.	$110,0 \pm 10,1$	$120,0 \pm 11,0^{***}$	$110,0 \pm 9,3$	$120,0 \pm 12,2^{***}$
ДАД, мм рт. ст.	$70,0 \pm 12,2$	$75,0 \pm 8,3^{***}$	$70,0 \pm 7,9$	$75,0 \pm 9,6^{***}$

Примечание. *** – отличие от величины соответствующего показателя лиц без МС статистически значимо при $p < 0,001$.

Таблица 3. Клинико-лабораторная характеристика выделенных подгрупп мужчин
Table 3. Clinical and laboratory characteristics of selected subgroups of men

Параметр	Некоренное городское население, <i>n</i> = 101		Некоренное сельское население, <i>n</i> = 106		Коренное сельское население, <i>n</i> = 76	
	МС есть, <i>n</i> = 33	МС нет, <i>n</i> = 68	МС есть, <i>n</i> = 40	МС нет, <i>n</i> = 66	МС есть, <i>n</i> = 15	МС нет, <i>n</i> = 61
Возраст, лет	38 ± 4	38 ± 6	37 ± 6	40 ± 6	33 ± 7	32 ± 6
Масса тела, кг	93,0 ± 7,9	78,3 ± 9,4	93,8 ± 6,6	76,3 ± 7,1	91,2 ± 5,2	77,3 ± 9,1
ИМТ, кг/м ²	34,11 ± 3,11	28,4 ± 3,9	35,00 ± 2,55	27,43 ± 2,91	34,15 ± 2,51	29,43 ± 3,55
ОТ, см	98,0 ± 6,1***	94,0 ± 9,6	99,5 ± 8,3***	94,5 ± 15,5	98,0 ± 1,9***	92,6 ± 10,0
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	3,30 ± 0,67***	2,95 ± 0,60	3,50 ± 0,39***	2,90 ± 0,45	3,40 ± 0,83***	3,07 ± 0,61
Содержание ОХС, ммоль/л	5,90 ± 0,49	5,20 ± 0,53	5,90 ± 0,44	5,05 ± 0,48	5,80 ± 0,34**	5,19 ± 0,52
Содержание ТГ, ммоль/л	3,00 ± 0,70	1,60 ± 0,47	3,00 ± 0,60	1,60 ± 0,50	2,90 ± 0,40	1,90 ± 0,70
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,30 ± 0,50***	1,60 ± 0,40	1,70 ± 0,60***	1,60 ± 0,50	1,90 ± 0,30***	1,50 ± 0,40
Содержание ГПН, ммоль/л	6,88 ± 2,09	4,99 ± 1,42	5,94 ± 1,56	5,78 ± 1,74	5,20 ± 1,34***	5,30 ± 1,09
САД, мм рт. ст.	117,0 ± 11,1	110,0 ± 10,7	117,5 ± 11,6***	115,0 ± 10,5	120,0 ± 9,1***	115,0 ± 8,9
ДАД, мм рт. ст.	70,0 ± 8,2	75,0 ± 16,3	75,0 ± 7,9***	70,0 ± 9,4	85,0 ± 8,0***	74,5 ± 8,4

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей лиц без МС: ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

Таблица 4. Клинико-лабораторная характеристика выделенных подгрупп женщин
Table 4. Clinical and laboratory characteristics of selected subgroups of women

Параметр	Некоренное городское население, <i>n</i> = 138		Некоренное сельское население, <i>n</i> = 238		Коренное сельское население, <i>n</i> = 204	
	МС есть, <i>n</i> = 58	МС нет, <i>n</i> = 80	МС есть, <i>n</i> = 106	МС нет, <i>n</i> = 132	МС есть, <i>n</i> = 92	МС нет, <i>n</i> = 112
Возраст, лет	37 ± 6	38 ± 6	38 ± 6	37 ± 6	37 ± 7	38 ± 6
Масса тела, кг	89,3 ± 7,0**	76,0 ± 9,9	89,0 ± 7,6***	74,3 ± 10,7	84,0 ± 8,0	74,4 ± 10,7
ИМТ, кг/м ²	33,7 ± 2,6	29,0 ± 3,8	33,5 ± 2,8	28,2 ± 4,0	32,2 ± 2,8	28,7 ± 3,3
ОТ, см	95,5 ± 8,6***	87,0 ± 12,1	95,5 ± 9,7***	87,5 ± 11,4	92,0 ± 9,4***	87,0 ± 10,4
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	3,50 ± 0,56***	2,90 ± 0,55	3,40 ± 0,61***	2,90 ± 0,65	3,20 ± 0,68***	2,90 ± 0,59
Содержание ОХС, ммоль/л	5,75 ± 0,45***	5,10 ± 0,50	5,70 ± 0,50***	5,00 ± 0,57	5,25 ± 0,51***	5,00 ± 0,56
Содержание ТГ, ммоль/л	2,80 ± 0,59***	1,50 ± 0,77	2,80 ± 0,66***	1,50 ± 0,76	2,40 ± 0,46***	1,40 ± 0,75
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,38 ± 0,46***	1,70 ± 0,50	1,60 ± 0,46***	1,59 ± 0,42	1,59 ± 0,46***	1,62 ± 0,44
Содержание ГПН, ммоль/л	5,31 ± 1,99***	4,99 ± 1,65	6,04 ± 2,28***	5,15 ± 1,43	5,41 ± 2,23***	5,20 ± 1,97
САД, мм рт. ст.	120,0 ± 13,5***	110,0 ± 8,6	120,0 ± 11,6***	115,0 ± 9,5	117,0 ± 11,8***	111,0 ± 9,2
ДАД, мм рт. ст.	75,0 ± 11,4***	70,0 ± 6,7	75,0 ± 9,0***	70,0 ± 9,1	75,0 ± 9,2***	70,0 ± 7,0

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей лиц без МС: ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполняли при помощи метода логистической регрессии (расчет отношения шансов (ОШ) с соответствующими 95 % доверительными интервалами (ДИ)). Разделяющее значение количественного признака в отрезной точке определялось по наивысшему значению индекса Юдена [10]. При прогнозировании определенного исхода применялся метод анализа ROC-кривых [10]. Для характеристики силы связи между количественными и качественными переменными применяли шкалу Чеддока: слабая – от 0,1 до 0,3; умеренная – от 0,3 до 0,5; заметная – от 0,5 до 0,7; высокая – от 0,7 до 0,9; весьма высокая (сильная) – от 0,9 до 1,0.

Результаты

Частота нарушений липидного профиля (гиперхолестеринемия (гиперОХС), гиперхолестеринемия ЛПНП (гиперХС ЛПНП), гипохолестеринемия ЛПВП (гипоХС ЛПВП), гипертриглицеридемия (гиперТГ)), гипергликемия (ГГ) и АГ у обследованных лиц молодого возраста представлена в табл. 5.

По результатам обследования молодых людей с МС выявлено, что наиболее часто встречалось сочетание абдоминального ожирения (АО) и двух компонентов МС у 50,0 % мужчин и у 55,5 % женщин, наличие АО и трех компонентов МС установлено у 38,6 % мужчин и 26,6 % женщин, АО и четырех компонентов МС – соответственно у 10,2 и 13,3 %. АГ, дислипидемию, гипергликемию на фоне АО наблюдали у 1,2 % мужчин с МС и у 4,7 % женщин с МС. Распределение по количеству компонентов МС в этнических группах представлено на рисунке.

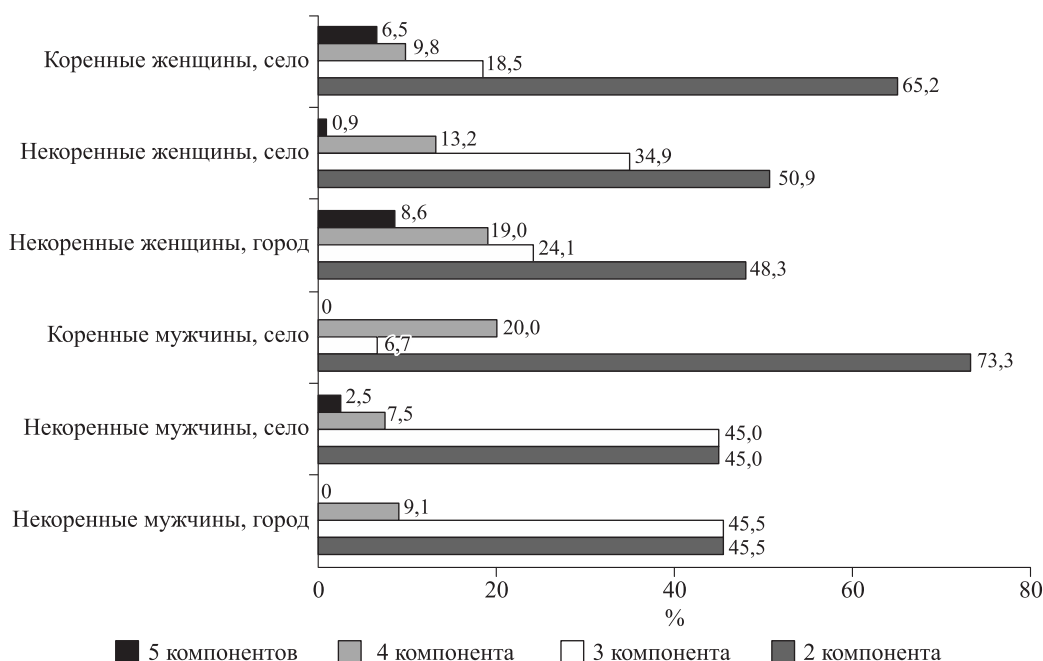
Наиболее распространенные сочетания четырех (АО, гиперХС ЛПНП, ГГ и гиперТГ) (27,3 %) и трех компонентов МС (АО, гиперХС ЛПНП и гиперТГ) (21,2 %) обнаружены у некоренных городских мужчин. При анализе клинико-лабораторных характеристик в этой этнической группе установлено, что при увеличении ОТ на 1 см следует ожидать увеличения уровня ТГ на 0,053 ммоль/л ($r = 0,634$, $p < 0,001$), содержания ОХС – на 0,162 ммоль/л ($r = 0,786$, $p < 0,001$) и снижения концентрации ХС ЛПВП на 0,262 ммоль/л ($r = 0,472$, $p = 0,006$). В полученной

Таблица 5. Частота метаболических нарушений у обследованных, n (%)

Table 5. The frequency of metabolic disorders in the examined people, n (%)

Этническая группа	Наличие МС	ГиперОХС	ГиперХС ЛПНП	ГипоХС ЛПВП	ГиперТГ	ГГ	АГ
Некоренные городские мужчины	Есть, n = 33	24*** (72,7)	20* (60,6)	5** (15,2)	31*** (93,9)	21*** (63,6)	10*** (30,3)
	Нет, n = 68	27 (39,7)	30 (29,4)	5 (7,4)	33 (48,5)	17 (25,0)	19 (27,9)
Некоренные сельские мужчины	Есть, n = 40	35*** (87,5)	35*** (87,5)	5** (12,5)	40** (100,0)	17*** (42,5)	10*** (25,0)
	Нет, n = 66	33 (50,0)	13 (19,7)	10 (15,2)	30 (45,5)	29 (43,9)	13 (19,7)
Коренные сельские мужчины	Есть, n = 15	11* (73,3)	12 (80,0)	15*** (100,0)	15 (100,0)	4*** (26,7)	8*** (53,3)
	Нет, n = 61	29 (47,5)	26 (42,6)	13 (21,3)	33 (54,1)	6 (9,8)	10 (16,4)
Некоренные городские женщины	Есть, n = 58	45*** (77,6)	39*** (67,2)	19*** (32,8)	58*** (100,0)	24*** (41,4)	27*** (46,6)
	Нет, n = 80	64 (80,0)	27*** (33,8)	10** (12,5)	35*** (43,8)	12*** (15,0)	6*** (7,5)
Некоренные сельские женщины	Есть, n = 106	74*** (69,8)	71*** (67,0)	19*** (17,9)	106*** (100,0)	48*** (45,3)	36*** (34,0)
	Нет, n = 132	98 (74,2)	49 (37,1)	21 (15,9)	53 (40,2)	25 (18,9)	28 (21,2)
Коренные сельские женщины	Есть, n = 92	46*** (50,0)	55** (59,8)	20*** (21,7)	92*** (100,0 %)	34*** (37,0)	37*** (40,2)
	Нет, n = 112	21 (18,8)	45 (40,2)	18 (16,1)	41 (36,6)	23 (20,5)	9 (8,0)

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей лиц без МС: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.



Распределение по количеству компонентов МС в этнических группах
Distribution by number of metabolic syndrome components in ethnic groups

регрессионной модели изменения в липидном обмене прогнозировались при ОТ 101,0 см (наивысшее значение индекса Юдена) ($r = 0,580$, $p = 0,010$). Чувствительность и специфичность модели составили 43,2 и 88,0 %, соответственно.

Метаболический портрет некоренного сельского мужчины представлен в 40,0 % случаев сочетанием АО, гиперТГ, гиперХС ЛПНП, в 25,0 % случаев – АО, гиперТГ, гиперХС ЛПНП, ГГ, и 17,5 % случаев – АО, АГ, гиперХС ЛПНП и гиперТГ. Пороговое значение ОТ в отрезной точке, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 103,0 см. Следует ожидать увеличение ОТ на 1,6 см при повышении уровня ТГ на 1 ммоль/л ($r = 0,728$, $p < 0,001$). Чувствительность и специфичность модели составили 35,2 и 89,5 % соответственно.

Наиболее частое сочетание компонентов МС (53,3 % случаев) в виде АО, гиперТГ, гиперХС ЛПНП наблюдалось у коренных сельских мужчин. В равных долях (по 20,0 %) установлены ассоциации АО с АГ, гиперХС ЛПНП, ГГ, гиперТГ и АО с АГ и гиперТГ. Пороговое значение ОТ в отрезной точке, которому соответствовала максимальная величина индекса Юдена, составило 98,0 см, при превышении которого прогнозировалось наличие гиперТГ. При анализе ROC-кривых чувствительность и специфичность модели составили 51,4 и 77,8 % соответственно. Увеличение уровня ТГ в плазме крови на 1 ммоль/л соответствует увеличению ОТ на 1,7 см ($r = 0,747$, $p = 0,021$).

У 54,3 % некоренных городских женщин установлены следующие составляющие МС: АО, гиперХС ЛПНП и гиперТГ (25,9 %). У 15,5 % пациенток данной этнической группы наблюдали сочетание АО с АГ и гиперТГ. При анализе взаимосвязи между значением ОТ у некоренных городских жительниц с МС и наличием дислипидемии, гипергликемии и АГ установлена статистически значимая зависимость между ОТ и наличием гиперТГ ($r = 0,966$, $p < 0,001$). Пороговое значение ОТ в отрезной точке, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 92,0 см, чувствительность и специфичность модели – 84,5 и 95,8 % соответственно. При возрастании уровня ТГ на 1 ммоль/л следует ожидать увеличение ОТ на 15,0 см.

Наиболее распространенные сочетания трех компонентов МС – АО, гиперТГ, гиперХС ЛПНП (31,1 %) – установлены у некоренных сельских женщин с МС. У 11,3 % женщин исследуемой этнической группы с вышеуказанными составляющими МС встречалась гипергликемия. При повышении уровня ХС ЛПНП, ТГ и снижении содержания ХС ЛПВП в группе некоренных женщин села с МС ожидается увеличение ОТ на 15,1, 8,4 и 1,7 см соответственно. Полученная статистически значимая ($p = 0,001$) регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции $r = 0,569$, что свидетельствует о заметной тесноте связи. Пороговое значение ОТ в отрезной точке, которому соответствовало наивысшее значение

индекса Юдена, составило 92,0 см. Чувствительность и специфичность модели составили 98,2 и 81,3 % соответственно. Для прогнозирования гипохС ЛПВП пороговым значением ОТ в отрезной точке была величина 120,0 см. Чувствительность и специфичность модели составили 19,4 и 98,8 % соответственно.

Среди коренных сельских женщин с МС наиболее частым сочетанием (30,4 %) установлено трехкомпонентное, включающее в себя АО, гиперТГ, гиперХС ЛПНП. У 18,5 % женщин на фоне АО встречались АГ и гиперТГ, у 10,0 % – гипергликемия и гиперТГ. Для коренных женщин с МС установлены взаимосвязи между величиной ОТ и наличием гиперХС ЛПНП ($r = 0,344$, $p = 0,054$), гиперХС ($r = 0,948$, $p < 0,001$), гиперТГ ($r = 0,569$, $p < 0,001$). При повышении содержания ХС ЛПНП, ОХС, ТГ на 1 ммоль/л следует ожидать увеличения ОТ на 2,2, 11,78 и 1,3 см соответственно. Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции $r = 0,657$ ($p = 0,001$), что соответствует заметной тесноте связи по шкале Чеддока. Пороговое значение ОТ в отрезной точке, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 91,0 см. Чувствительность и специфичность модели составили 100,0 и 80,0 % соответственно.

Обсуждение

При формировании метаболического профиля молодых пациентов обследованных этнических групп обращает на себя внимание частая ассоциация АО с дислипидемией (гиперХС ЛПНП и гиперТГ). У некоренных жителей изменения в липидном и углеводном обмене развиваются при длительной адаптации к проживанию в условиях Севера [11, 12]. Переключение углеводного обмена на липидный, сезонные колебания в сыворотке крови липидных фракций, повышение активности перекисного окисления липидов в зимнее время являются звеньями долгосрочной адаптации в северных условиях. По мнению Т.И. Кочан и соавт., в начале адаптации чаще развивается гипогликемия в результате усиления анаэробного гликолиза и повышения утилизации глюкозы, а затем основным поставщиком энергетических субстратов является глюконеогенез [13].

Характерное для коренных жителей Севера повышение антиатерогенной защиты организма за счет увеличения уровня ХС ЛПВП и снижения содержания ХС ЛПОНП и ХС ЛПНП наиболее сохранено у кочующих аборигенов [14, 15]. У оседлых коренных жителей вследствие изменения структуры питания, гиподинамии и развития

АО такая защита значительно снижается. Многие авторы связывают это и с нарушением липидного обмена на фоне гипоандрогении у мужчин [14] и гипоестрогемии у женщин [16].

Обращает на себя внимание частая распространенность гиперТГ у обследованных лиц с МС. Показано, что атерогенная дислипидемия в виде снижения содержания ХС ЛПВП (26,9–41,2 %) была наиболее распространенным компонентом МС у молодых людей 18–30 лет, в меньшей степени встречались такие компоненты, как АГ (16,6–26,6 %), АО (6,8–23,6 %), гиперТГ (8,6–15,6 %) и гипергликемия (2,8–15,4 %) [17]. Многие авторы отмечают частыми компонентами МС у молодых людей до 35 лет ожирение и АГ [18]. Согласно литературным данным, среди коренного населения Якутии дислипидемии являются также частым компонентом МС [19, 20]. По программе многоцентрового исследования ЭССЕ-РФ в 2012–2014 гг. гиперТГ обнаруживали у каждого третьего мужчины и у каждой пятой женщины в возрасте 25–64 лет [21].

Заключение

Исследование клинических особенностей метаболического синдрома в популяции молодых мужчин и женщин, проживающих в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре, позволило выявить как наиболее частый вариант ассоциации АО с гиперХС ЛПНП и гиперТГ. В этнических группах данное сочетание распространено чаще у коренных сельских мужчин (53,3 %) и у некоренных городских женщин (54,3 %). Профилактические мероприятия, направленные на снижение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний на фоне МС у лиц молодого возраста, прежде всего включают изменение пищевого поведения в пользу сбалансированного питания, увеличение физической нагрузки, снижение веса, лечение АГ.

Список литературы

1. Воевода М.И., Ковалькова Н.А., Рагино Ю.И., Травникова Н.Ю., Денисова Д.В. Распространенность метаболического синдрома у жителей Новосибирска в возрасте от 25 до 45 лет. *Терапевт. арх.* 2016;88(10):51–56. doi: 10.17116/terarkh2016881051-561
2. Рагино Ю.И., Худякова А.Д., Стрюкова Е.В., Денисова Д.В., Щербакова Л.В. Распространенность заболеваний и патологических состояний у молодых людей до 45 лет с абдоминальным ожирением в Сибири. *Бюл. сиб. мед.* 2021;20(4):39–48. doi: 10.20538/1682-0363-2021-4-39-48

3. Симонова Г.И., Мустафина С.В., Рымар О.Д., Щербакова Л.В., Никитенко Т.М., Бобак М., Малютина С.К. Метаболический синдром, риск общей и сердечно-сосудистой смертности по данным четырнадцатилетнего проспективного когортного исследования в Сибири. *Рос. кардиол. ж.* 2020;25(6):86–94. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3821
4. Корчина Т.Я., Корчин В.И., Лапенко И.В., Ткачева С.В., Гребенюк В.Н. Климатогеографические особенности Ханты-Мансийского автономного округа – Югры и их влияние на здоровье населения. *Вестник угроведения.* 2014;3 (18):166–174.
5. Карпин В.А., Гудков А.Б., Шувалова О.И. Анализ воздействия климатотехногенного прессинга на жителей северной урбанизированной территории. *Экол. человека.* 2018;25(10):9–14. doi: 10.33396/1728-0869-2018-10-9-14
6. Здоровье населения Ханты-Мансийского автономного округа – Югры и деятельность медицинских организаций в 2020 году (статистические материалы). Ч. 1. Югра, 2021. 237 с.
7. Здоровье населения коренных малочисленных народов севера Ханты-Мансийского автономного округа – Югры. Показатели по медицинскому обслуживанию по итогам 2018 года (статистические материалы). Ханты-Мансийск, 2019. 74 с.
9. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972;18(6):499–502.
9. Чазова И.Е., Мычка В.Б., Литвин А.Ю., Мамедов М.Н., Небиеридзе Д.В., Шестакова М.В., Бутрова С.А., Звенигородская Л.А., Кисляк О.А., Кухарчук В.В., ... Шальнова С.А. Диагностика и лечение метаболического синдрома. Российские рекомендации. *Кардиоваскуляр. терапия и профилактик.* 2007;6(6, S2):2–26. doi: 10.15829/1728-8800-2007-0-3-28
10. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. 141 с.
11. Громов А.А., Кручинина М.В., Кручинин В.Н. Особенности состояния гемостаза и липидного профиля на Севере. *Атеросклероз.* 2019;15(3):62–77. doi: 10.15372/ATER20190306
12. Севостьянова Е.В. Особенности липидного и углеводного метаболизма человека на Севере (литературный обзор). *Бюл. сиб. мед.* 2013;12(1):93–100. doi: 10.20538/1682-0363-2013-1-
13. Кочан Т.И., Есева Т.В. Сезонная динамика клинически важных метаболических показателей у жителей севера разных возрастных групп. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2009;147(6):700–703.
14. Бичкаева Ф.А., Типисова Е.В., Волкова Н.И. Соотношение содержания инсулина, половых гормонов, стероидсвязывающего β -глобулина, параметров липидного обмена и глюкозы у мужского населения Арктики. *Пробл. репродукции.* 2016;22(2):99–110. doi: 10.17116/repro201622299-110
15. Осадчук Л.В., Гуторова Н.В., Петрова П.Г., Троев И.П., Остобунаев В.В., Людина А.Ю., Потолицына Н.Н., Солонин Ю.Г., Бойко Е.Р. Гормональный и метаболический статус у мужчин якутской этнической принадлежности с избыточной массой тела и ожирением. *Пробл. репродукции.* 2014;(2):78–83.
16. Корнеева Е.В., Воевода М.И. Гендерные аспекты метаболических процессов среди молодых пациентов с ожирением. *Урал. мед. ж.* 2017;151(7):75–80.
17. Nolan P.B., Carrick-Ranson G., Stinear J.W., Reading S.A., Dalleck L.C. Prevalence of metabolic syndrome and metabolic syndrome components in young adults: A pooled analysis. *Prev. Med. Rep.* 2017;7:211–215. doi: 10.1016/j.pmedr.2017.07.004
18. Сумеркина В.А., Чулков В.С., Головнева Е.С., Чулков В.С. Возрастные особенности липидного, углеводного обмена и показателей системы гемостаза у молодых пациентов с различными компонентами метаболического синдрома. *Артериал. гипертензия.* 2016;22(6):594–609. doi: 10.18705/1607-419X-2016-22-6-594-609
19. Климова Т.М., Егорова А.Г., Захарова Р.Н., Аммосова Е.П., Балтахинова М.Е., Федоров А.И., Романова А.Н. Метаболический синдром среди коренной женской популяции Якутии. *Якут. мед. ж.* 2019;(3):66–70. doi: 10.25789/YMJ.2019.67.19
20. Сивцева Т.М., Климова Т.М., Аммосова Е.П., Захарова Р.Н., Осаковский В.Л. Метаболизм липидов и метаболические нарушения в якутской популяции: обзор литературы. *Экол. человека.* 2021;(4):4–14. doi: 10.33396 / 1728-0869-2021-4-4-14
21. Метельская В.А., Шальнова С.А., Деев А.Д., Перова Н.В., Гомыранова Н.В., Литинская О.А., Евстифеева С.Е., Артамонова Г.В., Гатагонова Т.М., Гринштейн Ю.И.... Бойцов С.А. Анализ распространенности показателей, характеризующих атерогенность спектра липопротеинов, у жителей Российской Федерации (по данным исследования ЭССЕ-РФ). *Профилактик. мед.* 2016;19(1):15–23. doi: 10.17116/profmed201619115-23

References

1. Voevoda M.I., Kovalkova N.A., Ragino Yu.I., Travnikova N.Yu., Denisova D.V. Prevalence of metabolic syndrome in 25–45-year-old Novosibirsk dwellers. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive.* 2016;88(10):51–56. [In Russian]. doi: 10.17116/terarkh2016881051-561
2. Ragino Yu.I., Khudyakova A.D., Striukova E.V., Denisova D.V., Shcherbakova L.V. Prevalence of diseases and pathological conditions in young people under 45 years of age with abdominal obesity in Sibe-

- ria. *Byulleten' sibirskoy meditsiny* = *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021;20(4):39–48. [In Russian]. doi: 10.20538/1682-0363-2021-4-39-48
3. Simonova G.I., Mustafina S.V., Rymar O.D., Shcherbakova L.V., Nikitenko T.M., Bobak M., Malyutina S.K. Metabolic syndrome and the risk of cardiovascular and all-cause mortality: data of 14-year prospective cohort study in Siberia. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal* = *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(6):86–94. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3821
4. Korchina T.Ya., Korchin V.I., Lapenko I.V., Tkacheva S.V., Grebenyuk V.N. Climatic and geographical features of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Yugra and their impact on public health. *Vestnik ugrovedeniya* = *Bulletin of Ugric Studies*. 2014;3(18):166–174. [In Russian].
5. Karpin V.A., Gudkov A.B., Shuvalova O.I. Impact analysis of climate and technogeneous pressing on residents of northern urban land. *Ekologiya cheloveka* = *Human Ecology*. 2018;25(10):9–14. [In Russian] doi: 10.33396/1728-0869-2018-10-9-14
6. The health of the population of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Yugra and the activities of medical organizations in 2020 (statistical materials). Pt. 1. Yugra, 2021. 237 p. [In Russian].
7. Health of the population of the indigenous peoples of the north of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug – Yugra. Indicators for medical care at the end of 2018 (statistical materials). Khanty-Mansiysk, 2019. 74 p. [In Russian].
8. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972;18(6):499–502.
9. Chazova I.E., Mychka V.B., Litvin A.Yu., Mamedov M.N., Nebieridze D.V., Shestakova M.V., Butrova S.A., Zvenigorodskaya L.A., Kislyak O.A., Kukharchuk V.V., ... Shalnova S.A. Diagnosis and treatment of metabolic syndrome. Russian recommendations. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika* = *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2007;6(6, S2):2–26. [In Russian]. doi: 10.15829/1728-8800-2007-0-3-28
10. Petri A., Sabin K. Visual statistics in medicine. Moscow: GEOTAR-MED, 2003. 141 p. [In Russian].
11. Gromov A.A., Kruchinina M.V., Kruchinin V.N. Hemostasis and lipid profile features in the North. *Ateroskleroz* = *Atherosclerosis*. 2019;15(3):62–77. [In Russian]. doi: 10.15372/ATER20190306
12. Sevostyanova Ye.V. Some features of human lipid and carbohydrate metabolism in the North. *Byulleten' sibirskoy meditsiny* = *Bulletin of Siberian Medicine*. 2013;12(1):93–100. [In Russian]. doi: 10.20538/1682-0363-2013-1-
13. Kochan T.I., Eseva T.V. Seasonal dynamics of clinically significant metabolic parameters in Northern residents of different age. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009;147(6):757–759.
14. Bichkaeva F.A., Tipisova E.V., Volkova N.I. The ratio of insulin, sex hormones, sex hormone-binding β -globulin, parameters of lipid metabolism and glucose in the male population of the Arctic. *Problemy reproduksii* = *Russian Journal of Human Reproduction*. 2016;22(2):99–110. [In Russian]. doi: 10.17116/repro201622299-110
15. Osadchuk L.V., Gutorova N.V., Petrova P.G., Troev I.P., Ostobunaev V.V., Liudinina A.Iu., Potolitsyna N.N., Solonin Iu.G., Boiko E.R. Hormonal and metabolic status in men of yakut ethnic group with overweight and obesity of Sciences, Syktyvkar, Russia. *Problemy reproduksii* = *Russian Journal of Human Reproduction*. 2014;(2):78–83. [In Russian].
16. Korneeva E.V., Voevoda M.I. Gender aspects of metabolic processes among young patients with obesity. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal* = *Ural Medical Journal*. 2017;151(7):75–80. [In Russian].
17. Nolan P.B., Carrick-Ranson G., Stinear J.W., Reading S.A., Dalleck L.C. Prevalence of metabolic syndrome and metabolic syndrome components in young adults: A pooled analysis. *Prev. Med. Rep.* 2017;7:211–215. doi: 10.1016/j.pmedr.2017.07.004
18. Sumerkina V.A., Chulkov V.S., Golovneva E.S., Chulkov V.S. Age-related features of lipid and carbohydrate metabolism and hemostasis in young patients with different components of the metabolic syndrome. *Arterial'naya gipertenziya* = *Arterial Hypertension*. 2016;22(6):594–609. [In Russian]. doi: 10.18705/1607-419X-2016-22-6-594-609
19. Klimova T.M., Egorova A.G., Zakharova R.N., Ammosova E.P., Baltakhinova M.E., Fedorov A.I., Romanova A.N. Metabolic syndrome among Yakutia's indigenous female population. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal* = *Yakut Medical Journal*. 2019;(3):66–70. [In Russian]. doi: 10.25789/YMJ.2019.67.19
20. Sivtseva T.M., Klimova T.M., Ammosova E.P., Zakharova R.N., Osakovsky V.L. Lipid metabolism and metabolic disorders in the yakut population: a literature review. *Ekologiya cheloveka* = *Human Ecology*. 2021;(4):4–14. [In Russian]. doi: 10.33396/1728-0869-2021-4-4-14
21. Metelskaya V.A., Shalnova S.A., Deev A.D., Perova N.V., Gomyranova N.V., Litinskaya O.A., Evstifeeva S.E., Artamonova G.V., Gatagonova T.M., Grinshtein Yu.I. ... Boytsov S.A. Analysis of atherogenic dyslipidemias prevalence among population of Russian Federation (results of the ESSE-RF Study). *Profilakticheskaya meditsina* = *The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 2016;19(1):15–23. [In Russian]. doi: 10.17116/profmed201619115-23

Сведения об авторах:

Корнеева Елена Викторовна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0143-982X, e-mail: evkorneeva39@rambler.ru

Воевода Михаил Иванович, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: director@frcftm.ru

Information about the authors:

Elena V. Korneeva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0143-982X, e-mail: evkorneeva39@rambler.ru

Mikhail I. Voevoda, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: director@frcftm.ru

Поступила в редакцию 23.06.2023

После доработки 25.07.2023

После повторной доработки 21.09.2023

Принята к публикации 22.09.2023

Received 23.06.2023

Revision received 25.07.2023

Second revision received 21.09.2023

Accepted 22.09.2023

Уровень белков, вовлеченных в апоптоз и аутофагию, в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени

Я.А. Краснер^{1,2}, В.В. Романов¹, О.Н. Фазуллина¹, М.Ф. Осипенко², В.В. Климонтов¹

¹ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Резюме

Цель исследования – изучить уровень в сыворотке крови молекул, вовлеченных в аутофагию и апоптоз: белка, ассоциированного с микротрубочками LC3alpha (MAP1LC3alpha), беклина-1 (BECN-1), Bcl-2 (BCL-2), каспазы-3 (CASP3) и белка, связанного с аутофагией-5 (ATG-5), и определить его ассоциацию с фиброзом печени у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). **Материал и методы.** Выполнено одноцентровое поперечное наблюдательное исследование. Включено 74 пациента с СД2 и НАЖБП, 23 мужчины и 51 женщина, в возрасте от 18 до 74 лет. Для диагностики фиброза печени применяли фиброэластометрию, его выраженность оценивали по шкале Metavir. Рассчитывали не прямые индексы фиброза печени APRI и FIB-4. Концентрацию MAP1LC3alpha, BECN-1, BCL-2, CASP3 и ATG-5 в сыворотке крови определяли с помощью ИФА. Для оценки ценности данных показателей для диагностики фиброза печени применяли ROC-анализ. **Результаты.** Фиброз печени 1-й стадии диагностирован у 16 человек, 2-й стадии – у 12, 3-й стадии – у 7, 4-й стадии – у 19 человек. У пациентов с выраженным фиброзом печени (стадии 3–4) по сравнению с лицами без выраженного фиброза (стадии 0–2) наблюдалась более высокая концентрация MAP1LC3alpha ($p = 0,01$) и BECN-1 ($p = 0,01$), значимых различий по содержанию BCL-2, ATG-5, CASP3 не выявлено. В ROC-анализе MAP1LC3alpha и BECN-1 показали значимость для диагностики выраженного фиброза печени, которая, однако, не превышала таковую у индекса APRI. **Заключение.** У больных СД2 и НАЖБП уровень MAP1LC3alpha и BECN-1 в сыворотке крови ассоциирован с выраженным фиброзом печени (3–4-я стадия по Metavir).

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени, фиброз печени, биомаркер, апоптоз, аутофагия, фиброэластометрия печени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена за счет средств государственного задания НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН.

Автор для переписки: Климонтов В.В., e-mail: klimontov@mail.ru

Для цитирования: Краснер Я.А., Романов В.В., Фазуллина О.Н., Осипенко М.Ф., Климонтов В.В. Уровень белков, вовлеченных в апоптоз и аутофагию, в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):148–154. doi: 10.18699/SSMJ20230618

Serum level of proteins involved in apoptosis and autophagy in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease

Ya.A. Krasner^{1,2}, V.V. Romanov¹, O.N. Fazullina¹, M.F. Osipenko², V.V. Klimontov¹

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakova st., 2

² Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

Aim of the study was to estimate the blood serum level of microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha (MAP1LC3alpha), beclin-1 (BECN-1), Bcl-2 (BCL-2), caspase-3 (CASP3) and autophagy related 5 (ATG-5) protein as potential markers of liver fibrosis in type 2 diabetes (T2D) patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Material and methods.** A single center cross-sectional observational study was performed. Seventy four patients with T2D and NAFLD were included, 23 men and 51 women, aged 18 to 74 years. Transient elastography was used for the assessment of liver fibrosis. The severity of fibrosis was estimated using the Metavir score. In addition, indirect liver fibrosis indices APRI and FIB-4 were calculated. Serum concentration of MAP1LC3alpha, BECN-1, BCL-2, CASP and ATG-5 was measured by ELISA. We applied ROC analysis to assess the value of studied indicators in diagnosis of liver fibrosis. **Results.** Liver fibrosis stage F1 was verified in 16 subjects, stage F2 in 12, stage F3 in 7, and stage F4 in 19 individuals. Patients with advanced liver fibrosis (stage 3-4) when compared to those without fibrosis (stage 0-2) had higher content of MAP1LC3alpha ($p = 0.01$) and BECN-1 ($p = 0.01$). There were no significant differences in the level of BCL-2, CASP3 and ATG-5 between patients with different severity of fibrosis. In the ROC analysis, MAP1LC3alpha and BECN-1 showed significance for the diagnosis of severe liver fibrosis, which, however, did not exceed that of the APRI index. **Conclusions.** In patients with T2D and NAFLD, serum levels of MAP1LC3alpha and BECN-1 are associated with severe liver fibrosis.

Key words: diabetes mellitus type 2, non-alcoholic fatty liver disease, liver fibrosis, biomarker, apoptosis, autophagy, transient liver elastography.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Financing: The work was carried out at the expense of the state task of the Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS.

Correspondence author: Klimontov V.V., e-mail: klimontov@mail.ru

Citation: Krasner Ya.A., Romanov V.V., Fazullina O.N., Osipenko M.F., Klimontov V.V. Serum levels of proteins involved in apoptosis and autophagy in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):148–154. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230618

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является одним из наиболее распространенных заболеваний печени. В настоящее время продолжается поиск информативных диагностических маркеров, позволяющих выявлять фиброз печени при НАЖБП на ранних стадиях, и активное изучение патогенеза НАЖБП. В последние годы в механизмах развития данного заболевания большую роль отводят процессам аутофагии и апоптоза.

Аутофагия – важный процесс, поддерживающий клеточный гомеостаз. Ее суть заключается в разрушении поврежденных органелл с последующим повторным использованием высвободившегося пластического материала. Проводится изучение роли молекул, вовлеченных в процессы аутофагии, в развитии заболеваний печени. Описаны противоположные эффекты данного процесса в отношении фиброгенеза и развития воспаления в ткани печени [1]. Существуют работы, демонстрирующие протективную роль процессов аутофагии в отношении формирования стеатогепатита и фиброза печени при НАЖБП [2], однако есть сведения и об обратном [3]. Также имеются данные о том, что активность процессов аутофагии может меняться в зависимости от стадии заболевания печени, в частности НАЖБП [4]. В

связи с этим молекулы, участвующие в процессе аутофагии, рассматриваются как потенциальные терапевтические цели, а также диагностические маркеры процессов фиброза и воспаления в печени.

Ряд работ последних лет был посвящен изучению роли белка, связанного с аутофагией-5 (ATG-5), в развитии фиброза печени. Данная молекула играет важную роль в процессе аутофагии, поскольку участвует в формировании аутофагосом. Существуют сведения о возможности применения ATG-5 в качестве терапевтической цели при лечении и профилактике развития фиброза печени, однако данные исследования проводились на мышах или на клеточных культурах [5, 6]. Еще одной молекулой, участвующей в формировании аутофагосом, является белок, ассоциированный с микротрубочками (MAP1LC3alpha) [7]. У мышей с индуцированным стеатозом печени наблюдается снижение экспрессии MAP1LC3alpha [8], однако клиническое значение этого белка остается неясным.

Беклин (BECN-1) также играет важную роль в регуляции аутофагии, а также координации процессов аутофагии и апоптоза, что достигается взаимодействием между BECN-1 и ингибитором апоптоза Bcl-2 (BCL-2). Роль обеих молекул в развитии заболеваний печени активно изучается [9, 10], показана перспективность применения

BEEN-1 как маркера прогноза возможных исходов заболеваний печени. Существует ряд работ, демонстрирующих значение разных уровней экспрессии BEEN-1 в тканях печени в развитии гепатоцеллюлярной карциномы, в том числе у больных циррозом печени [11, 12].

Каспаза-3 (CASP3), как и многие другие представители данного семейства протеолитических ферментов, участвует в процессах апоптоза и относится к группе эффекторных каспаз [13]. Имеются сведения о том, что CASP3 играет существенную роль в активации фиброгенеза и в целом обладает провоспалительным потенциалом при неалкогольном стеатогепатите [14].

Целью работы стало изучение клинического значения определения уровня белков, вовлеченных в процессы аутофагии и апоптоза (MAP1LC3alpha, BEEN-1, BCL-2, CASP3 и ATG-5), в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) с НАЖБП.

Материал и методы

Исследование являлось одноцентровым, одномоментным, поперечным. Включались пациенты с СД2, проходившие лечение в эндокринологическом отделении клиники НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН) в 2022–2023 гг. Критерии включения: возраст от 18 лет, диагноз СД2, диагноз НАЖБП, наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании; критерии исключения: иные диагностированные заболевания печени, в том числе вирусные гепатиты В и С, алкогольная болезнь печени, гемохроматоз, аутоиммунный гепатит, болезнь Вильсона–Коновалова, дефицит альфа-1-антитрипсина, беременность, терминальная стадия хронической болезни почек, злокачественные новообразования.

Участникам исследования проводилось клиническое обследование, лабораторные, инструментальные исследования в соответствии с алгоритмами оказания специализированной медицинской помощи больным СД [15]. Оценка употребления алкоголя выполнялась при помощи опросника AUDIT [16].

Диагноз НАЖБП устанавливался по данным УЗИ печени в соответствии с клиническими рекомендациями Российской гастроэнтерологической ассоциации [17]. В качестве референсного метода оценки стадии фиброза печени применялась фиброэластометрия. Исследование выполнялось на аппарате FibroScan 502 Touch (Echosens, Франция) в ФГБНУ НИИ нейронаук и медицины (г. Новосибирск). Данные фиброэластометрии

интерпретировались в соответствии со степенью фиброза по Metavir с применением референсных значений L. Castera [18]. Клинические данные не были доступны операторам, выполнявшим фиброэластометрию и ИФА уровня маркеров фиброза. Исследование одобрено Этическим комитетом НИИКЭЛ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 172 от 28.04.2022).

Биохимические исследования, такие как определение активности АлАТ и АсАТ, щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), содержания гликированного гемоглобина A1c (HbA1c), компонентов липидного спектра, проводили на анализаторе AU-480 (Beckman-Coulter, Япония) с использованием тест-систем компании-производителя. Образцы крови для определения биомаркеров брали из локтевой вены натощак, полученную сыворотку замораживали и хранили при –30 °С до проведения исследования. Концентрацию CASP-3, MAP1LC3alpha, BEEN-1, BCL-2 и ATG-5 определяли методом ИФА на 8-канальном микропланшетном фотометре «Реал Р» («Вектор-Бест-Балтика», Россия) с помощью тест-систем фирмы Cloud Clone Corp. (Китай) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя тест-систем.

Рассчитывали неинвазивные индексы фиброза печени APRI и FIB-4 в соответствии со следующими формулами [19, 20]:

$$APRI = \frac{\frac{\text{Активность АсАТ (МЕ/л)}}{(\text{Верхняя граница нормы АсАТ})} \times 100}{\text{Количество тромбоцитов (10}^9 \text{/л)}};$$

$$FIB4 = \frac{\text{Возраст (лет)} \times \text{активность АсАТ (МЕ/л)}}{\text{Количество тромбоцитов (10}^9 \text{/л)} \times \text{Активность АлАТ (МЕ/л)}}.$$

При изучении литературы не удалось найти достаточного объема предварительных данных по исследуемой проблеме. В связи с этим минимальный объем выборки рассчитывался в соответствии с методом К.А. Отдельновой [21]. В качестве критического уровня статистической значимости было выбрано значение $p < 0,05$, для которого при проведении пилотных исследований минимальный объем выборки $n = 44$.

При проведении статистического анализа данных распределение значений количественных показателей оценивалось на нормальность. При характере распределения, отличном от нормального, количественные параметры представлены в виде $Me [Q_1-Q_3]$, где Me – медиана, Q_1-Q_3 – межквартильный размах; для их сравнения в разных группах больных применялся критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки

связи количественных показателей применялся корреляционный анализ Спирмена. Ассоциация двух качественных показателей оценивалась при помощи четырехпольных таблиц сопряженности с подсчетом отношения шансов (OR) и 95%-го доверительного интервала (95 % CI), а также критерия Пирсона. Для оценки чувствительности и специфичности сывороточных маркеров в отношении диагностики фиброза печени строились ROC-кривые с определением площади под кривой (AUC).

Результаты и их обсуждение

В исследование включено 74 пациента с СД2, 23 мужчины и 51 женщина, от 18 до 74 лет (медиана – 56 лет). Длительность течения СД с момента постановки диагноза составляла от 1 до 41 года (Me 11 лет). Все больные на момент включения в исследование получали сахароснижающую терапию: 12 человек – только инсулин, 28 – инсулин и пероральные сахароснижающие препараты, 34 – только пероральные сахароснижающие препараты. Терапию метформином получали 64 пациента, препаратами сульфонилмочевины – 20, ингибиторами натрий-глюкозного котранспортера-2 – 18, ингибиторами дипептидилпептидазы – 7, анало-

гами глюкагоноподобного пептида-1 – 3. Уровень HbA1c варьировал от 5,4 до 13,6 % (Me 8,3 %).

У 7 больных отмечалось избыточная масса тела, у остальных – ожирение ($n = 67$). Спектр осложнений и ассоциированных состояний включал диабетическую ретинопатию ($n = 18$), хроническую болезнь почек ($n = 44$), диабетическую нейропатию ($n = 54$), артериальную гипертензию ($n = 67$), ишемическую болезнь сердца ($n = 17$), атеросклероз сосудов нижних конечностей ($n = 11$), дислипидемию ($n = 73$).

У 20 больных, включенных в исследование, не выявлено признаков фиброза печени по данным фиброэластометрии. Фиброз 1-й стадии верифицирован у 16 человек, фиброз 2-й стадии – у 12, фиброз 3-й стадии – у 7, фиброз 4-й стадии – у 19. Между группами больных без выраженного фиброза печени (0-й, 1-й и 2-й стадии) и с выраженным фиброзом (3-й и 4-й стадии) не выявлено достоверных различий по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), соотношению окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ), длительности СД, уровню HbA1c, липидов и мочевой кислоты (табл. 1). Активность АлАТ, АсАТ, ЩФ, ГГПТ, а также значения индексов APRI и FIB4 были достоверно больше у больных с фиброзом.

Таблица 1. Клиническая характеристика больных СД2 и НАЖБП с различной выраженностью фиброза печени

Table 1. Clinical characteristics of patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease depending on liver fibrosis

Параметр	Больные с выраженным фиброзом ($n = 26$)	Больные без выраженного фиброза ($n = 48$)	P
Возраст, лет	53 [44; 61]	57 [52; 63]	0,12
ИМТ, кг/м ²	39,4 [33,8; 49,1]	37,1 [31,9; 44,23]	0,18
ОТ/ОБ	0,9 [0,9; 0,98]	0,98 [0,9; 1,04]	0,26
Длительность СД, годы	8,5 [2,0; 15,0]	12,5 [6,0; 16,0]	0,28
Содержание HbA1c, %	7,9 [7,2; 9,4]	8,3 [6,5; 10,0]	0,76
Содержание общего холестерина, ммоль/л	4,8 [4,15; 5,69]	4,9 [3,8; 6,0]	0,44
Содержание холестерина ЛПНП, ммоль/л	3,1 [2,7; 4,1]	3,3 [2,5; 4,0]	0,8
Содержание холестерина ЛПВП, ммоль/л	1,11 [0,88; 1,36]	1,1 [0,96; 1,31]	0,6
Содержание триглицеридов, ммоль/л	2,4 [1,8; 3,4]	1,8 [1,2; 3,2]	0,17
Содержание мочевой кислоты, мкмоль/л	389 [246; 442]	336 [286; 426]	0,8
рСКФ, мл/мин/1,73 м ²	86 [61; 97]	72 [58; 91]	0,24
Активность АлАТ, ЕД/л	52 [24; 102]	27 [17; 45]	0,006
Активность АсАТ АСТ, ЕД/л	45 [27; 97]	25 [19; 36]	0,0002
Активность ЩФ, ЕД/л	90 [75; 144]	72 [62; 91]	0,003
Активность ГГПТ, ЕД/л	60 [49; 112]	33 [19; 47]	0,0001
Содержание общего билирубина, мкмоль/л	13,7 [11,0; 21,5]	12,3 [10,2; 18,6]	0,14
APRI	0,53 [0,31; 1,41]	0,23 [0,17; 0,40]	0,0007
FIB4	1,80 [1,03; 3,80]	1,13 [0,84; 1,51]	0,004

Примечание: ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации (по CKD-EPI).

В сыворотке больных НАЖБП с выраженным фиброзом печени (стадия 3–4) по сравнению с больными без выраженного фиброза (стадия 0–2) было больше содержание MAP1LC3alpha и BECN1, а также прослеживалась тенденция к более высокому уровню CASP3 (табл. 2). Статистически значимых различий в концентрации BCL-2 и ATG-5 не наблюдалось.

При корреляционном анализе наблюдалась положительная связь между уровнем BCL-2 и BECN-1 ($r = 0,55, p < 0,0001$). Концентрация MAP1LC3alpha и BCL-2 положительно коррелировала с содержанием ЛПВП ($r = 0,36, p = 0,002$ и $r = 0,26, p = 0,003$ соответственно) и отрицательно – с уровнем триглицеридов ($r = -0,30, p = 0,009$ и $r = -0,31, p = 0,007$ соответственно). Также отмечалась отрицательная зависимость между концентрацией MAP1LC3alpha и соотношением ОТ/ОБ ($r = -0,51, p < 0,0001$). Не выявлено корреляций между содержанием исследованных молекул и возрастом пациентов, ИМТ и уровнем HbA1c.

Анализ ROC-кривых (рисунок, табл. 3) ожидаемо продемонстрировал более высокую диагностическую чувствительность традиционно применяемых неинвазивных индексов фиброза FIB-4 и APRI по сравнению с уровнем исследуемых молекул в отношении диагностики выраженного фиброза печени. При этом индекс APRI превосходил данные молекулы и по специфично-

сти. Определенную диагностическую ценность в отношении диагностики выраженного фиброза печени продемонстрировали MAP1LC3alpha и BECN-1.

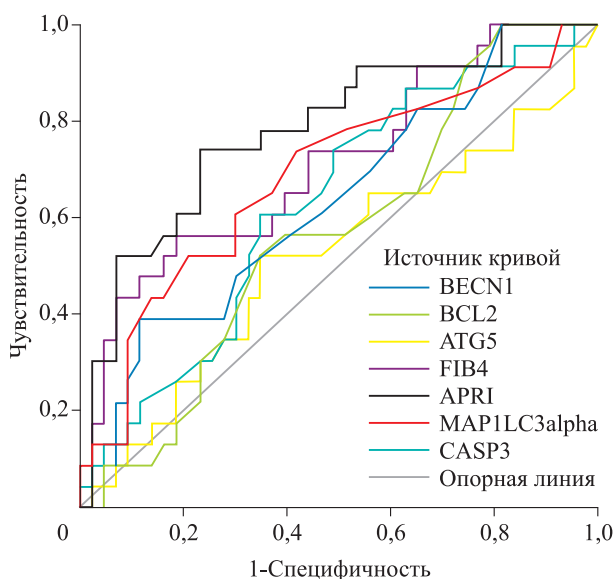
Наше исследование имеет ряд ограничений. Его одномоментный дизайн не позволяет однозначно судить о причинно-следственных связях между признаками. Исследование биомаркеров проведено в гетерогенной по клиническим признакам (включая тяжесть и длительность течения сочетанных заболеваний, качество гликемического контроля) выборке пациентов. Данная разнородность могла оказать определенное влияние на уровень исследованных биомаркеров. Относительно небольшой объем выборки не позволяет исключить вероятность того, что некоторые различия между группами остались невыявленными.

Вместе с тем в данной работе впервые проведено сопоставление уровня в сыворотке крови молекул, вовлеченных в процессы апоптоза и аутофагии, с инструментальными и лабораторными индикаторами фиброза печени у больных СД2 и НАЖБП. Результаты указывают на ассоциацию уровня BECN-1 и MAP1LC3alpha и, возможно CASP-3, с выраженностью фиброза печени. Роль данных молекул в патогенезе НАЖБП и их возможное прогностическое значение нуждаются в дальнейших исследованиях.

Таблица 2. Уровень молекул, ассоциированных с аутофагией и апоптозом, в сыворотке крови у больных СД2 и НАЖБП в зависимости от выраженности фиброза печени

Table 2. Serum level of molecules associated with autophagy and apoptosis in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease depending on liver fibrosis

Молекула, содержание	Больные с выраженным фиброзом (n = 26)	Больные без выраженного фиброза (n = 48)	p
MAP1LC3alpha, нг/мл	3,86 [3,48; 4,18]	3,48 [3,33; 3,79]	0,01
BECN-1, нг/мл	4,62 [4,33; 5,08]	4,37 [4; 4,46]	0,01
CASP3, нг/мл	8,2 [11,6; 22,1]	7,5 [6,36; 9,75]	0,1
BCL-2, нг/мл	3,3 [2,93; 3,83]	3,6 [3,15; 3,83]	0,21
ATG-5, нг/мл	14,8 [11,7; 19,0]	14,8 [11,6; 22,1]	0,48



ROC-анализ не прямых сывороточных маркеров фиброза и молекул, ассоциированных с аутофагией и апоптозом, в диагностике выраженного фиброза печени у больных СД2 и НАЖБП

ROC-analysis of indirect serum markers of fibrosis and molecules associated with autophagy and apoptosis in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease

Таблица 3. Сравнительная характеристика ценности молекул, ассоциированных с аутофагией и апоптозом, и не прямых сывороточных маркеров фиброза в диагностике выраженного фиброза печени у больных СД2 и НАЖБП

Table. 3. Comparative characteristics of the value of molecules associated with autophagy and apoptosis and indirect serum markers of fibrosis in the diagnosis of severe liver fibrosis in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease

Фактор	Значение	Se	Sp	AUC ± SE	95% CI
MAP1LC3alpha	3,51 нг/мл	0,73	0,59	0,680 ± 0,071	0,547 – 0,825
BECN-1	4,49 нг/мл	0,52	0,65	0,630 ± 0,071	0,496 – 0,775
BCL-2	3,26 нг/мл	0,65	0,38	0,570 ± 0,072	0,429 – 0,711
CASP3	8,1 нг/мл	0,60	0,64	0,630 ± 0,071	0,492 – 0,768
ATG-5	16,2 нг/мл	0,52	0,65	0,520 ± 0,078	0,368 – 0,673
APRI	0,38	0,73	0,68	0,782 ± 0,061	0,663 – 0,902
FIB4	1,21	0,73	0,56	0,715 ± 0,068	0,582 – 0,847

Примечание. Представлены результаты ROC-анализа. Se – чувствительность, Sp – специфичность, SE – стандартная ошибка среднего.

Закключение

У больных СД2 с НАЖБП уровень в сыворотке крови молекул, вовлеченных в процессы аутофагии и апоптоза – MAP1LC3alpha и BECN-1 – значимо ассоциирован с выраженным фиброзом печени (3–4-я стадия по шкале Metavir). Диагностическая ценность MAP1LC3alpha и BECN-1 в диагностике фиброза печени, однако, уступает таковой у традиционно используемых не прямых индексов фиброза (APRI, FIB4). Сывороточная концентрация BCL-2 и ATG-5 не показала статистически значимых ассоциаций с выраженностью фиброза печени.

Список литературы / References

- Kouroumalis E., Voumvouraki A., Augoustaki A., Samonakis D.N. Autophagy in liver diseases. *World J. Hepatol.* 2021;13(1):6–65. doi: 10.4254/wjh.v13.i1.6
- Czaja M.J. Function of autophagy in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig. Dis. Sci.* 2016;61(5):1304–1313. doi: 10.1007/s10620-015-4025-x
- Hernández-Gea V., Ghiassi-Nejad Z., Rozenfeld R., Gordon R., Fiel M.I., Yue Z., Czaja M.J., Friedman S.L. Autophagy releases lipid that promotes fibrogenesis by activated hepatic stellate cells in mice and in human tissues. *Gastroenterology.* 2012;142(4):938–946. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.044
- Ding H., Ge G., Tseng Y., Ma Y., Zhang J., Liu J. Hepatic autophagy fluctuates during the development of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann. Hepatol.* 2020;19(5):516–522. doi: 10.1016/j.aohep.2020.06.001
- Tong M., Zheng Q., Liu M., Chen L., Lin Y.H., Tang S.G., Zhu Y.M. 5-methoxytryptophan alleviates liver fibrosis by modulating FOXO3a/miR-21/ATG5 signaling pathway mediated autophagy. *Cell. Cycle.* 2021;20(7):676–688. doi: 10.1080/15384101.2021.1897241
- Lodder J., Denaës T., Chobert M.N., Wan J., El-Benna J., Pawlotsky J.M., Lotersztajn S., Teixeira-Clerc F. Macrophage autophagy protects against liver fibrosis in mice. *Autophagy.* 2015;11(8):1280–1292. doi: 10.1080/15548627.2015.1058473
- He H., Dang Y., Dai F., Guo Z., Wu J., She X., Pei Y., Chen Y., Ling W., Wu C., ... Yu L. Post-translational modifications of three members of the human MAP1LC3 family and detection of a novel type of modification for MAP1LC3B. *J. Biol. Chem.* 2003;278(31):29278–29287. doi: 10.1074/jbc.M303800200
- Wang L., Xu M., Jones O.D., Li Z., Liang Y., Yu Q., Li J., Wu Y., Lei X., He B., ... Xu X. Nonalcoholic fatty liver disease experiences accumulation of hepatic liquid crystal associated with increasing lipophagy. *Cell Biosci.* 2020;10:55. doi: 10.1186/s13578-020-00414-2
- Kotsafti A., Farinati F., Cardin R., Cillo U., Nitti D., Bortolami M. Autophagy and apoptosis-related genes in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *BMC Gastroenterol.* 2012;12:118. doi: 10.1186/1471-230X-12-118
- Teng K.Y., Barajas J.M., Hu P., Jacob S.T., Ghoshal K. Role of B cell lymphoma 2 in the regulation of liver fibrosis in miR-122 knockout mice. *Biology (Basel).* 2020;9(7):157. doi: 10.3390/biology9070157
- Ehsan N.A., Mosbeh A.M., Elkhadry S.W., Gomaa A.I., Elsabaawy M.M., Elazab D.S. Altered protein and gene expression of beclin-1 correlates with poor prognosis of Hcv-Associated hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2021;22(4):1115–1122. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.4.1115
- Zhang S., Xu M., Zhang W., Liu C., Chen S. Natural polyphenols in metabolic syndrome: protective mechanisms and clinical applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):6110. doi: 10.3390/ijms22116110

13. Pop C., Salvesen G.S. Human caspases: activation, specificity, and regulation. *J. Biol. Chem.* 2009;284(33):21777–21781. doi: 10.1074/jbc.R800084200
14. Thapaliya S., Wree A., Povero D., Inzaugarat M.E., Berk M., Dixon L., Papouchado B.G., Feldstein A.E. Caspase 3 inactivation protects against hepatic cell death and ameliorates fibrogenesis in a diet-induced NASH model. *Dig. Dis. Sci.* 2014;59(6):1197–1206. doi: 10.1007/s10620-014-3167-6
15. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., Мокрышева Н.Г., Викулова О.К., Галстян Г.Р., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Смирнова О.М., Старостина Е.Г., ... Шестакова Е.А. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. *Сах. диабет.* 2021;24(1s):1–148. doi: 10.14341/DM12802
- Dedov I.I., Shestakova M.V., Mayorov A.Yu., Mokrysheva N.G., Vikulova O.K., Galstyan G.R., Kuraeva T.L., Peterkova V.A., Smirnova O.M., Starostina E.G., ... Shestakova E.A. Standards of specialized diabetes care. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus.* 2021;24(1s):1–148. [In Russian]. doi: 10.14341/DM12802
16. Bohn M.J., Babor T.F., Kranzler H.R. The Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): validation of a screening instrument for use in medical settings. *J. Stud. Alcohol.* 1995;56(4):423–432. doi: 10.15288/jsa.1995.56.423
17. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Тихонов И.Н., Широкова Е.Н., Буеверов А.О., Драпкина О.М., Шулпекова Ю.О., Цуканов В.В., Маммаев С.Н., Маев И.В., Пальгова Л.К. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2016;(2):24–42. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42
- Ivashkin V.T., Mayevskaya M.V., Pavlov Ch.S., Tikhonov I.N., Shirokova Ye.N., Buyeverov A.O., Drapkina O.M., Shulpekova Yu.O., Tsukanov V.V., Mammayev S.N., Mayev I.V., Palgova L.K. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the Russian gastroenterological association. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2016;(2):24–42. [In Russian]. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42
18. Castéra L., Vergniol J., Foucher J., le Bail B., Chanteloup E., Haaser M., Darriet M., Couzigou P., de Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2005;128(2):343–350. doi: 10.1053/j.gastro.2004.11.018
19. Vallet-Pichard A., Mallet V., Nalpas B., Verkarre V., Nalpas A., Dhalluin-Venier V., Fontaine H., Pol S. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology.* 2007;46(1):32–36. doi: 10.1002/hep.21669
20. Wai C.T., Greenson J.K., Fontana R.J., Kalbfleisch J.D., Marrero J.A., Conjeevaram H.S., Lok A.S. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003;38(2):518–526. doi: 10.1053/jhep.2003.50346
21. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях. *Соц. аспекты здоровья населения.* 2019;65(6):1–10. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10
- Narkevich A.N., Vinogradov K.A. Methods for determining the minimum required sample size in medical research. *Sotsial'nyye aspekty zdorov'ya naseleniya = Social Aspects of Population Health.* 2019;65(6):1–10. [In Russian]. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10

Сведения об авторах:

Краснер Яков Аркадьевич, к.м.н., ORCID: 0000-0003-0091-2299, e-mail: yakov.krasner@yandex.ru
Романов Вячеслав Витальевич, ORCID: 0000-0003-1953-2536, e-mail: slavrom@mail.ru
Фазуллина Ольга Николаевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-5868-579X, e-mail: fazullina.olga@mail.ru
Осипенко Марина Федоровна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5156-2842, e-mail: ngma@bk.ru
Климонтон Вадим Валерьевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5407-8722, e-mail: klimontov@mail.ru

Information about the authors:

Yakov A. Krasner, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0091-2299, e-mail: yakov.krasner@yandex.ru
Vyacheslav V. Romanov, ORCID: 0000-0003-1953-2536, e-mail: slavrom@mail.ru
Olga N. Fazullina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5868-579X, e-mail: fazullina.olga@mail.ru
Marina F. Osipenko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5156-2842, e-mail: ngma@bk.ru
Vadim V. Klimontov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5407-8722, e-mail: klimontov@mail.ru

Поступила в редакцию 27.07.2023
После доработки 25.09.2023
Принята к публикации 08.11.2023

Received 27.07.2023
Revision received 25.09.2023
Accepted 08.11.2023

Сравнительная характеристика профилей ксантиноксидоредуктазы крови при дискоидной и системной красной волчанке

Е.Э. Мозговая, С.А. Бедина, А.С. Трофименко, С.С. Спицина, М.А. Мамус, И.А. Зборовская

*НИИ клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского
400138, г. Волгоград, ул. Землячки, 76*

Резюме

Дискоидная (ДКВ) и системная красная волчанка (СКВ) являются хроническими воспалительными заболеваниями соединительной ткани. Наряду с патогенетическими особенностями они имеют общие черты. В патогенезе ДКВ и СКВ участвуют иммунные нарушения и окислительный стресс, развитие которого тесно связано с активацией ферментной системы ксантиноксидоредуктазы (КОР). Цель исследования – выявить особенности профилей активности КОР крови при ДКВ и СКВ. **Материал и методы.** В исследование включены 31 больной ДКВ, 56 больных СКВ, 35 практически здоровых лиц. В плазме, лизатах лимфоцитов, лизатах эритроцитов изучали активность двух конвертируемых форм КОР: ксантиндегидрогеназы (КСДГ; КФ 1.17.1.4) и ксантиноксидазы (КСО; КФ 1.17.3.2). Уровень мочевой кислоты определяли в плазме. **Результаты и их обсуждение.** В отличие от контроля, при ДКВ в плазме крови наблюдалось повышение активности КСО и снижение активности КСДГ, в лизатах лимфоцитов – уменьшение активности обеих форм КОР. Вне зависимости от активности СКВ, при ДКВ в плазме крови была меньше активность КСО, в лизатах лимфоцитов больше активность КСО, КСДГ. Активность КСДГ в плазме крови и КСО в лизатах эритроцитов при ДКВ была ниже, чем при I степени активности СКВ, но выше, чем при II и III степени. Активность КСДГ в лизатах эритроцитов при ДКВ была больше, чем у больных с I и II степенью активности СКВ, но меньше, чем при III степени активности. Уровень мочевой кислоты в плазме при ДКВ не отличался от контрольных значений, ее содержание увеличивалось при II и III степени активности СКВ. **Заключение.** Сдвиги активности КОР в плазме крови и лизатах лимфоцитов при ДКВ и СКВ носят однонаправленный характер, но более выражены при системной форме заболевания. Таким образом, ДКВ и СКВ характеризуются общностью изменений активности КОР, в то же время профили КОР крови имеют свойственные нозологии отличительные черты.

Ключевые слова: дискоидная красная волчанка, системная красная волчанка, ксантиноксидоредуктаза, ксантиноксидаза, ксантиндегидрогеназа, мочевая кислота, кровь.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Мозговая Е.Э., e-mail: nauka@pebma.org

Для цитирования: Мозговая Е.Э., Бедина С.А., Трофименко А.С., Спицина С.С., Мамус М.А., Зборовская И.А. Сравнительная характеристика профилей ксантиноксидоредуктазы крови при дискоидной и системной красной волчанке. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):155–163. doi: 10.18699/SSMJ20230619

Comparative characteristics of blood xanthine oxidoreductase profiles in discoid and systemic lupus erythematosus

E.E. Mozgovaya, S.A. Bedina, A.S. Trofimenko, S.S. Spitsina, M.A. Mamus, I.A. Zborovskaya

*Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology named after A.B. Zborovskiy
400138, Volgograd, Zemlyachki st., 76*

Abstract

Discoid (DLE) and systemic lupus erythematosus (SLE) are chronic inflammatory diseases of the connective tissue. Along with pathogenetic features, they have common characteristics. Immune disorders and oxidative stress are involved in pathogenesis of DLE and SLE. Development of oxidative stress is closely associated with the activation of xanthine oxidoreductase (XOR) enzyme system. Aim of the study was to reveal the features of XOR activities profiles in blood of DLE and systemic lupus erythematosus (SLE) patients. **Material and methods.** 31 patients with DLE, 56 patients with SLE, 35 apparently healthy individuals were enrolled in study. The activities of two convertible forms of XOR (xanthine dehydrogenase (XDG; EC 1.17.1.4) and xanthine oxidase (XO; EC 1.17.3.2)) were measured in plasma, lysed WBC and lysed RBC. The level of uric acid (UA) was determined in plasma. **Results and discussion.** In contrast to the control, XO activity was higher and XDG activity was lower in plasma of DLE patients; activities of both XOR forms were decreased in lysed lymphocytes. Activity of XO was lower in plasma, XO and XDG activities were higher in lysed lymphocytes in DLE regardless of the SLE activity. XDG activity in plasma of and XO activity in lysed erythrocytes DLE patients was lower than in low activity SLE, but higher than in the subgroup with moderate and high disease activity. XDG activity of lysed erythrocytes in DLE was higher than in patients with low and moderate SLE activities, but lower than in patients with high diseases activity. Uric acid content in plasma of DLE patients was not differ from the control values, its level was increased at II and III degrees of SLE activity. **Conclusions.** Changes in XOR activity in plasma and lysed WBC in DLE and SLE are unidirectional, but are more pronounced in the systemic form of the disease. Thus, DLE and SLE are characterized by some common changes in XOR activity, at the same time, XOR blood profiles have distinctive features, which are characteristic for nosology.

Key words: discoid lupus erythematosus, systemic lupus erythematosus, xanthine oxidoreductase, xanthine oxidase, xanthine dehydrogenase, uric acid, blood.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Mozgovaya E.E., e-mail: nauka@pebma.org

Citation: Mozgovaya E.E., Bedina S.A., Trofimenko A.S., Spitsina S.S., Mamus M.A., Zborovskaya I.A. Comparative characteristics of blood xanthine oxidoreductase profiles in discoid and systemic lupus erythematosus. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):155–163 [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230619

Введение

Системная красная волчанка (СКВ) – хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся широким спектром клинических проявлений, в основе которых лежит иммуновоспалительное повреждение тканей и органов [1]. Около 75 % лиц с СКВ имеют поражения кожи, которые могут как возникать в дебюте заболевания, так и присоединяться по мере его развития [2]. В то же время некоторые варианты кожной красной волчанки (ККВ) нередко являются самостоятельной нозологией. При этом в отличие от СКВ не выявляются признаки поражения внутренних органов и в большинстве случаев не определяются антинуклеарные антитела. Согласно действующим отечественным клиническим рекомендациям, выделяют острую, подострую и хроническую ККВ [3]. За рубежом общепризнанной является классификация J. Gilliam и R. Sontheimer [4].

При большинстве вариантов ККВ гистологически обнаруживается поверхностный дерматит с лимфогистиоцитарной воспалительной инфильтрацией [5–7]. Подробное описание патоморфологической картины ККВ представлено в статье А.А. Шумиловой с соавт. [8]. Наиболее частым

вариантом хронической ККВ является дискоидная красная волчанка (ДКВ), составляющая около 73 % случаев кожных поражений при ККВ [8]. Проявления ДКВ включены в состав используемых в настоящее время критериев диагностики СКВ [1, 9]. При диагностировании в качестве самостоятельного заболевания ДКВ имеет по МКБ-10 код L93.0. Типичные дискоидные элементы в какой-то момент болезни могут возникнуть у 25 % пациентов с СКВ. У 1–15 % пациентов с ДКВ может развиться СКВ [2, 10, 11]. 10–20 % больных ДКВ, имеющих сопутствующие артралгии, со временем начинают соответствовать классификационным критериям СКВ [5]. Распространенная ДКВ связана с риском трансформации в СКВ примерно в 28 % случаев [1]. Несмотря на более оптимистичный по сравнению с СКВ прогноз жизни, хронические кожные поражения при ДКВ примерно в 2–3 % случаев могут малигнизироваться в плоскоклеточную карциному [12].

В литературе представлены сведения, отражающие как общие патогенетические черты ДКВ и СКВ, так и основные их различия. В то время как в возникновении и развитии СКВ важную роль играют эстрогены, ДКВ считается эстроген-независимой патологией. Так, соотношение женщин и мужчин репродуктивного возраста с ДКВ состав-

ляет (2–4):1, что значительно меньше аналогичного соотношения (8–15):1 при СКВ [2]. Воздействие излучения УФ-В (длина волны 290–320 нм) и УФ-А2 (длина волны 320–340 нм) вызывает и усугубляет повреждение кожи как при СКВ, так и при ДКВ [2].

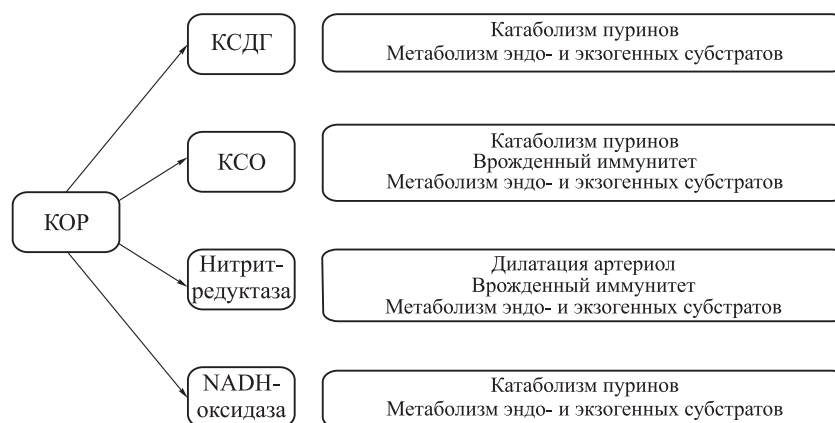
СКВ характеризуется нарушением активации клеточного и гуморального иммунитета, гиперпродукцией органонеспецифических аутоантител к ядерным антигенам, патологической активацией классического пути системы комплемента, формированием иммунных комплексов с нарушением их клиренса, врожденными или индуцированными дефектами программированной гибели клеток (апоптоз, аутофагия, нетоз) [2, 13]. Особенно значимую роль в патогенезе СКВ, как принято считать, играют интерферон-альфа и интерлейкин-6; в противоположность этому, при ДКВ показана важная роль интерферона-лямбда [14–16].

В патогенез хронической ККВ вовлечено множество процессов, опосредованных активацией генов, контролирующих процессы апоптоза, протеолитическую деградацию клеточных белков, интерферонзависимое подавление трансляции и активность иммунного ответа. Обнаружено четыре транскрипционно активных хромосомных региона: 3p21-p21.3 (гены *GLB1*, *CX3CR1*, *CCR2* и *RHOA*), 5q31-q32 (гены *H2AFY*, *CTNNA1* и *CD14*), 15q14-q21.1 (гены *TMEM87A*, *EIF3J* и *SPG11*) и 22q13.1-q13.2 (гены *HMOX1*, *LGALS2*, *LGALS1*, *ATF4* и *APOBEC3G*) [17]. Ведущая роль в развитии данной патологии принадлежит аутореактивным Т-лимфоцитам и натуральным киллерам. При этом на фоне нормального содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови их количество и активность в коже уменьшается, что сопровождается снижением супрессорного влияния на CD4- и CD8-позитивные лимфоциты [14]. Обнаруживаемые в коже Th17, которые в

норме в ней не встречаются, продуцируют ИЛ-17, ИЛ-21, ИЛ-22 с развитием в ткани аутовоспаления [18]. При ДКВ, в отличие от СКВ, в кожных воспалительных инфильтратах преобладают Th1-, а не Th17-клетки [19, 20].

Повышенное содержание антинуклеарных антител, антител к нативной ДНК, наличие антител к ядерному Sm-антигену, антифосфолипидных антител входят в диагностические критерии СКВ. Отрицательные результаты этих иммунологических тестов будут свидетельствовать в пользу ККВ [1, 3, 9]. Для дифференцирования ДКВ и СКВ также предложено использовать уровень антител к Ro/SS-A. Их отсутствие или низкий уровень чаще встречаются при ДКВ [2].

В литературе представлены данные, свидетельствующие, что в развитии СКВ участвует окислительный стресс [21–23]. Отмечена его вовлеченность и в патогенез хронической ККВ [17]. Интенсификация процессов свободнорадикального окисления, наряду со снижением резерва антиоксидантной защиты, приводит к повышению стационарной концентрации в тканях активных форм кислорода и азота (АФКА), которые повреждают биомолекулы и клеточные структуры как непосредственно, так и иницилируя процессы перекисного окисления липидов, стимулируя транскрипционный фактор NF-κB, контролирующий иммунный ответ, клеточный цикл, апоптоз. Будучи одним из общепризнанных источников АФКА, ксантиноксидоредуктаза (КОР) является частью прооксидантной системы организма. КОР представляет собой универсальную многофункциональную энзимную систему, обеспечивающую множество физиологических функций, и в то же время систему, вовлеченную в различные патологические процессы, испытывая влияние цитокинов, гормонов и других биологически активных веществ (рисунок). Продуцируемые в



Каталитическая активность и основные функции КОР [24]
Catalytic activity and main functions of XOR [24]

ходе катализируемых ею реакций АФКА способны вносить свой вклад как в реализацию адаптационно-приспособительных механизмов, так и в формирование патологических изменений.

Немногочисленные работы, посвященные изучению КОР при СКВ, констатируют увеличение активности оксидазной формы фермента в сыворотке крови [22, 25]. С ними согласуются опубликованные нами ранее результаты, описывающие особенности профилей КОР крови в зависимости от активности заболевания [26]. Учитывая, что патогенетические взаимосвязи и особенности ДКВ и СКВ требуют дальнейшего изучения [2], интерес представляет рассмотрение при ДКВ активности КОР, в том числе в сравнительном аспекте с системной формой заболевания. Цель исследования – выявить особенности профилей активностей КОР крови при ДКВ и СКВ.

Материал и методы

Исследование проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. В него включены 31 больной ДКВ, 56 больных СКВ, 35 практически здоровых лиц (контрольная группа). Пациенты с ДКВ наблюдались дерматологом на базе ГБУЗ «Волгоградская областная клиническая больница № 1» амбулаторно. Больные СКВ находились на стационарном лечении в ревматологическом отделении ГУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 25».

Критериями включения служили верифицированный диагноз ДКВ, согласно отечественным клиническим рекомендациям [3], или СКВ по критериям EULAR/ACR [9]; подписанное информированное согласие. Критерии исключения из исследования: возраст до 18 лет или после 65 лет; беременность или лактация; алкогольная и/или наркотическая зависимость; инфицирование вирусом иммунодефицита человека или возбудителями вирусных гепатитов В и С; наличие злокачественного новообразования любой локализации на момент отбора; тяжелые, декомпенсированные или нестабильные соматические заболевания и состояния (сахарный диабет 1 или 2 типа, стероидный; хроническая сердечная недостаточность III–IV функционального класса; 4–5-я стадия хронической болезни почек; хроническая дыхательная недостаточность II–III степени), требующие активного лечения. Характеристика группы больных ДКВ представлена в табл. 1, группы с СКВ – в табл. 2. Средний возраст контрольной группы составлял 39 (34; 46) лет (медиана (первый квартиль; третий квартиль)), она была представлена 19 (54,3 %) мужчинами и 16 (45,7 %) женщинами.

В плазме, лизатах лимфоцитов и лизатах эритроцитов спектрофотометрически измеряли активность двух конвертируемых форм КОР: ксантиндегидрогеназы (КСДГ; КФ 1.17.1.4) при помощи метода Z.J. Devenyi et al. и ксантиноксидазы (КСО; КФ 1.17.3.2) методом Н.М. Kalckar в модификации Е.Г. Дягиной. Детальное описание

Таблица 1. Характеристика больных ДКВ ($n = 31$)

Table 1. Characteristics of DLE patients ($n = 31$)

Показатель		Значение
Пол, n (%)	женский	19 (61,3)
	мужской	12 (38,7)
Средний возраст, лет		39,0 (36,0; 44,0)
Продолжительность болезни, лет		5,0 (3,0; 6,0)
Локализация кожных поражений, n (%)	щеки и спинка носа	10 (32,3)
	спинка носа	8 (25,8)
	лобная часть	3 (9,7)
	область под глазами	3 (9,7)
	ушные раковины	5 (16,1)
	шея	6 (19,4)
	красная кайма губ и/или слизистая оболочка полости рта	9 (29,0)
Кожный зуд, n (%)		23 (74,2)
Следы расчесов, n (%)		6 (19,4)
Артралгии в суставах кистей рук, n (%)		4 (12,9)
Положительный симптом Бенъе – Мещерского, n (%)		31 (100)
Положительный симптом «дамского каблука», n (%)		31 (100)
Признаки поражения внутренних органов, n (%)		0 (0)
Повышение уровня антинуклеарных антител, n (%)		0 (0)
Повышение уровня антител к двуспиральной ДНК, n (%)		0 (0)

Таблица 2. Характеристика больных СКВ ($n = 56$)Table 2. Characteristics of SLE patients ($n = 56$)

Показатель		Значение
Пол, n (%)	женский	51 (91,1)
	мужской	5 (8,9)
Средний возраст, лет		35 (31; 42)
Продолжительность болезни, лет		8 (5; 11)
Лихорадка, n (%)		31 (55,4)
Гематологические нарушения, n (%)	лейкопения	29 (51,8)
	лимфопения	25 (44,6)
	тромбоцитопения	18 (32,1)
	анемия	27 (48,2)
Нейропсихические нарушения, n (%)		15 (26,8)
Поражение кожи и слизистых оболочек, n (%)	безрубцовая алопеция	10 (17,9)
	язвы полости рта	4 (7,1)
	дискоидная ККВ	35 (62,5)
	подострая ККВ	3 (5,4)
	острая ККВ	2 (3,6)
Поражение серозных оболочек, n (%)		9 (16,1)
Мышечно-скелетные проявления, n (%)		33 (58,9)
Поражение почек, n (%)		27 (48,2)
Активность СКВ, n (%)	низкая (SLEDAI-2K = 1–5 баллов)	15 (26,8)
	умеренная (SLEDAI-2K = 6–10 баллов)	26 (46,4)
	высокая (SLEDAI-2K = 11–19 баллов)	15 (26,8)
SLEDAI-2K, баллы		9 (5; 11)
Повышение уровня антител к фосфолипидам, n (%)		14 (25,0)
Гипокомплементемия, n (%)		33 (58,9)
Повышение уровня антинуклеарных антител, n (%)		56 (100)
Повышение уровня антител к двуспиральной ДНК, n (%)		41 (73,2)

Примечание. SLEDAI-2K – systemic lupus erythematosus disease activity index 2000, индекс активности СКВ.

методик измерения активности, технологий выделения клеток крови и нормирование активности энзимов опубликованы нами ранее [26]. Содержание мочевой кислоты определяли методом Мюллера–Зейферта и выражали в ммоль/л [27].

Результаты выражены в виде медианы, первого и третьего квартилей (Me (Q_1 ; Q_3)). Различия количественных данных проанализированы при помощи критерия Манна–Уитни при критическом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Активность ферментов системы КОР изучена в группе практически здоровых лиц. Референтные интервалы включенных в исследование энзимных показателей представлены в работе [28]. Поскольку пол и возраст на них не влияли, эти факторы далее не учитывались. В отличие от контрольных значений, при ДКВ в плазме крови наблюдалось повышение активности КСО, сопровождавшееся снижением активности КСДГ, в лизатах лимфоцитов – уменьшение активности обеих форм КОР

(табл. 3). СКВ, наряду с кожными проявлениями, характеризуется вовлечением в патологический процесс различных органов и тканей. Генерализованное иммунное воспаление сопровождается существенными сдвигами активности ферментов системы КОР [26]. Согласно полученным данным, при ДКВ по сравнению с СКВ (группа в целом) в плазме крови меньше активность КСО и больше активность КСДГ, в лизатах лимфоцитов выше активность КСО и КСДГ, в лизатах эритроцитов больше активность КСДГ (см. табл. 3). Кроме того, установлено, что вне зависимости от активности СКВ при ДКВ в плазме крови меньше активность КСО, в лизатах лимфоцитов больше активность КСО и КСДГ. В то же время активность КСДГ плазмы крови при ДКВ ниже, чем при I степени, но выше, чем при II и III активности СКВ. Аналогичными были различия активности КСО в лизатах эритроцитов. Активность КСДГ в лизатах эритроцитов при ДКВ была больше, чем у больных с I и II степенью, но меньше, чем при III степени активности СКВ (см. табл. 3).

Таблица 3. Активность ферментов в крови больных ДКВ и СКВ

Table 3. Enzymatic activities of blood samples from DLE and SLE patients

Фермент	Здоровые, <i>n</i> = 35	Больные ДКВ, <i>n</i> = 31	Больные СКВ			
			Группа в целом, <i>n</i> = 56	Степень активности		
				I, <i>n</i> = 15	II, <i>n</i> = 26	III, <i>n</i> = 5
КСО-пл	3,28 (3,05; 3,38)	3,45 (3,23; 3,61) **	5,35 (4,37; 5,89) ***,###	3,97 (3,66; 4,09) ***,###	5,36 (5,00; 5,59) ***,###	6,26 (5,95; 6,50) ***,###
КСДГ-пл	5,30 (4,83; 5,41)	4,88 (4,69; 4,96) ***	4,51 (4,24; 5,29) ***,##	5,56 (5,45; 5,71) ***,###	4,46 (4,27; 4,61) ***,###	3,65 (3,44; 4,51) ***,###
КСО-л	20,94 (18,68; 22,67)	18,07 (17,35; 18,94) ***	13,29 (12,22; 15,03) ***,###	17,01 (15,80; 18,27) ***,##	13,29 (12,63; 13,72) ***,###	11,73 (10,97; 12,24) ***,###
КСДГ-л	29,76 (26,56; 33,70)	28,23 (27,49; 28,80) *	13,81 (12,55; 19,62) ***,###	23,16 (21,53; 24,46) ***,###	13,59 (12,96; 14,61) ***,###	11,33 (11,03; 13,45) ***,###
КСО-эр	23,51 (22,35; 24,57)	24,09 (23,55; 24,58)	23,85 (20,97; 26,46)	28,39 (24,75; 31,57) ***,###	23,42 (21,34; 24,88)	16,44 (15,26; 21,45) ***,###
КСДГ-эр	50,13 (47,52; 52,11)	50,01 (48,54; 50,83)	44,54 (38,72; 50,01) ***,###	40,56 (37,95; 41,81) ***,###	43,70 (36,04; 47,65) ***,###	61,85 (50,09; 71,80) ***,###

Примечание. КСО-пл – активность КСО в плазме крови; КСДГ-пл – активность КСДГ в плазме крови; КСО-л – активность КСО в лизатах лимфоцитов; КСДГ-л – активность КСДГ в лизатах лимфоцитов; КСО-эр – активность КСО в лизатах эритроцитов; КСДГ-эр – активность КСДГ в лизатах эритроцитов. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы контроля (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$) и больных ДКВ (## – при $p < 0,01$, ### – при $p < 0,001$).

Следует отметить, что сдвиги энзимной активности КОР в плазме крови и лизатах лимфоцитов при ДКВ и СКВ носили однонаправленный характер, но были более выражены при системной форме заболевания. Активность как оксидазной, так и дегидрогеназной форм фермента в лизатах эритроцитов больных ДКВ не отклонялась от контрольных значений в отличие от подгрупп с разной степенью активности СКВ. Для СКВ было характерно снижение активности КСДГ в лизатах эритроцитов за исключением случаев высокой активности иммунного воспаления, когда данный ферментный показатель превышал контрольные значения. Активность КСО в этих клетках крови была увеличена при минимальной и уменьшена при высокой активности заболевания [26].

Выявленное нами в лизатах лимфоцитов при ДКВ выраженное снижение активности КСО на фоне незначительного уменьшения активности КСДГ может свидетельствовать о преобладании утилизации гипоксантина и ксантина путем дегидрирования. Данная направленность имеет позитивное значение, поскольку сопровождается сокращением внутриклеточной выработки АФКА. Наряду с этим у всех больных ДКВ, включенных в исследование, количество лимфоцитов крови

соответствовало норме. Полученные данные позволяют предположить, что изменения активности лимфоцитарной КОР не имеют существенной значимости для формирования данной патологии. Это согласуется с результатами ряда исследований, которые не подтверждают участие в патогенезе ДКВ циркулирующих клеток воспаления и аутоантител [19, 20].

В отличие от ДКВ, для СКВ был характерен рост соотношения активности КСО/КСДГ лизатов лимфоцитов при увеличении степени активности иммунного воспаления. Как видно из представленных данных, снижение интенсивности конечных этапов катаболизма пуринов в этих форменных элементах сопровождалось возрастающей трансформацией дегидрогеназной формы фермента в оксидазную. Совместно с другими факторами образующиеся в результате реализации каталитической активности КСО АФКА способны повреждать клеточные структуры, участвуя в развитии лимфопении, ассоциированной с активностью СКВ [29, 30]. Также в сравнении с ДКВ обращает на себя внимание прогрессирующее по мере увеличения активности системного волчаночного процесса уменьшение соотношения уровня КСО/КСДГ в лизатах эритроцитов.

Таблица 4. Содержание мочевой кислоты в плазме крови больных ДКВ и СКВ

Table 4. Uric acid activity of plasma samples from DLE and SLE patients

	Здоровые, n = 35	Больные ДКВ, n = 31	Больные СКВ			
			Группа в целом, n = 56	Степень активности		
				I, n = 15	II, n = 26	III, n = 15
Мочевая кислота	0,32 (0,28; 0,35)	0,33 (0,29; 0,35)	0,34 (0,32; 0,37)*	0,32 (0,31; 0,34)	0,34 (0,32; 0,37) *	0,36 (0,33; 0,38) *

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при $p < 0,05$.

Поскольку обе формы КОР могут проявлять в эритроцитах нитритредуктазную активность [31], образующиеся при этом АФКА, вероятно, могут принимать участие в процессах, определяющих продолжительность жизни данных форменных элементов, способствуя развитию анемии.

Полученные нами результаты, свидетельствующие о сдвиге баланса активности компонентов системы КОР в плазме крови больных ДКВ и СКВ в сторону оксидантной формы, согласуются с данными литературы о том, что при этих заболеваниях в сыворотке крови и в коже наблюдается гиперпродукция АФКА, которые могут приводить к аномальным посттрансляционным модификациям белковых молекул, превращая их в мишени для иммунной системы и провоцируя аутоиммунные реакции [17]. Необходимо также отметить, что в результате катализируемых КОР заключительных этапов обмена пуринов образуется такой важный метаболит, как мочевая кислота, обладающая антиоксидантной активностью [32, 33]. В настоящем исследовании установлено, что если при ДКВ ее уровень в плазме крови не отличался от контрольных значений, то в группе больных СКВ содержание мочевой кислоты увеличивалось при II и III степенях активности заболевания (табл. 4). Можно предположить, что увеличение содержания мочевой кислоты на фоне роста активности КСО является одним из механизмов защиты клеточных структур от окислительного повреждения.

Заключение

Болезни соединительной ткани, такие как ДКВ, СКВ, системная склеродермия, характеризуются общностью ряда изменений метаболического уровня в силу универсальности адаптивных и/или защитных реакций организма, реализуемых, в частности, системой КОР [26, 28]. В то же время профили КОР крови имеют свойственные той или иной из вышеперечисленных нозологий отличительные черты. Продолжение исследований в направлении изучения диагностической

ценности определения активности КОР при ревматических заболеваниях может иметь не только теоретическое, но и практическое значение в аспекте поиска дополнительных маркеров, способствующих совершенствованию диагностики.

Список литературы / References

1. Соловьев С.К. Системная красная волчанка. В кн.: *Российские клинические рекомендации. Ревматология*. Ред. Е.Л. Насонов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017; 113–136.
2. Soloviev S.K. Systemic lupus erythematosus. In: *Russian Clinical Guidelines. Rheumatology*. Ed. E.L. Nasonov. Moscow: GEOTAR-Media, 2017; 113–136. [In Russian].
3. Шумилова А.А., Травкина Е.И., Решетняк Т.М. Поражение кожи при системной красной волчанке. Ч. 1: классификация, этиология, патогенез. *Соврем. ревматол.* 2022;16(3):7–13. doi: 10.14412/1996-7012-2022-3-7-13
4. Shumilova A.A., Travkina E.I., Reshetnyak T.M. Skin lesions in systemic lupus erythematosus. P. 1: classification, etiology, pathogenesis. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology Journal*. 2022;16(3):7–13. [In Russian]. doi: 10.14412/1996-7012-2022-3-7-13
5. Поражения кожи при красной волчанке. В кн.: *Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем*. М.: Деловой экспресс, 2016; 395–405.
6. Skin lesions in lupus erythematosus. In: *Federal clinical guidelines. Dermatovenereology 2015: Skin diseases. Sexually transmitted infections*. Moscow: Business Express, 2016; 395–405. [In Russian].
7. Kuhn A., Landmann A. The classification and diagnosis of cutaneous lupus erythematosus. *J. Autoimmun.* 2014;48-49:14–19. doi: 10.1016/j.jaut.2014.01.021
8. McDaniel B., Sukumaran S., Koritala T, Tanner L.S. (2022) Discoid lupus erythematosus. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing, 2022.
9. Udompanich S., Chanprapaph K., Suchonwanit P. Hair and scalp changes in cutaneous and sys-

temic lupus erythematosus. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2018;19(5):679–694. doi: 10.1007/s40257-018-0363-8

7. Dammacco R., Procaccio P., Racanelli V., Vacca A., Dammacco F. Ocular involvement in systemic lupus erythematosus: The experience of two tertiary referral centers. *Ocul. Immunol. Inflamm.* 2018;26(8):1154–1165. doi: 10.1080/09273948.2018.1501495

8. Шумилова А.А., Травкина Е.И., Решетняк Т.М. Поражение кожи при системной красной волчанке. Часть 2: клинические и гистологические особенности. *Соврем. ревматол.* 2022;16(4):7–14. doi: 10.14412/1996-7012-2022-4-7-14

Shumilova A.A., Travkina E.I., Reshetnyak T.M. Skin lesions in systemic lupus erythematosus. Part 2: clinical and histological features. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology Journal.* 2022;16(4):7–14. [In Russian]. doi: 10.14412/1996-7012-2022-4-7-14

9. Aringer M., Costenbader K., Daikh D., Brinks R., Mosca M., Ramsey-Goldman R., Smolen J.S., Wofsy D., Boumpas D.T., Kamen D.L., ... Johnson S.R. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2019;78(9):1151–1159. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-214819

10. Gaüzère L., Gerber A., Renou F., Ferrandiz D., Bagny K., Osdoit S., Yvin J.L., Raffray L. Epidemiology of systemic lupus erythematosus in Reunion Island, Indian Ocean: A case-series in adult patients from a University Hospital. *Rev. Med. Interne.* 2019;40(4):214–219. doi: 10.1016/j.revmed.2018.07.004

11. Oh E.H., Kim E.J., Ro Y.S., Ko J.Y. Ten-year retrospective clinicohistological study of cutaneous lupus erythematosus in Korea. *J. Dermatol.* 2018;45(4):436–443. doi: 10.1111/1346-8138.14233

12. Zaalberg A., Moradi Tuchayi S., Ameri A.H., Ngo K.H., Cunningham T.J., Eliane J.P., Livneh M., Horn T.D., Rosman I.S., Musiek A., Anadkat M.J., Demehri S. Chronic inflammation promotes skin carcinogenesis in cancer-prone discoid lupus erythematosus. *J. Invest. Dermatol.* 2019;139(1):62–70. doi: 10.1016/j.jid.2018.06.185

13. Хакбердиева М.С. Современные взгляды на классификацию, патогенез и лечение системной красной волчанки. *Рос. биомед. исслед.* 2019;4(1):20–30.

Khakberdieva M.S. Modern views on the classification, pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya = Russian Biomedical Research.* 2019;4(1):20–30. [In Russian].

14. Хайрутдинов В.Р., Белоусова И.Э. Современные представления о кожных формах красной волчанки. *Opinion Leader.* 2020;10(39):60–66.

Hajrutdinov V.R., Belousova I.Je. Modern concepts of lupus erythematosus cutaneous forms. *Opinion Leader.* 2020;10(39):60–66. [In Russian].

15. Kahn J.S., Deverapalli S.C., Rosmarin D.M. JAK-STAT signaling pathway inhibition: a role for treatment of discoid lupus erythematosus and dermato-

myositis. *Int. J. Dermatol.* 2018;57(8):1007–1014. doi: 10.1111/ijd.14064

16. Wo A., So J.K., Paravar T. Discoid lupus and human immunodeficiency virus: a retrospective chart review to determine the prevalence and progression of co-occurrence of these conditions at a Single Academic Center. *Indian J. Dermatol.* 2017;62(2):226. doi: 10.4103/0019-5154.201750

17. Dey-Rao R., Sinha A.A. Genome-wide transcriptional profiling of chronic cutaneous lupus erythematosus (CCLE) peripheral blood identifies systemic alterations relevant to the skin manifestation. *J. Genomics.* 2015;105(2):90–100. doi:10.1016/j.ygeno.2014.11.004

18. Трофимов П.Н., Антонова О.В., Швырев Д.Н., Хайрутдинов В.Р., Белоусова И.Э., Самцов А.В. Кожные формы красной волчанки: патогенез, клиника, диагностика, терапия. *Вестн. дерматол. и венерол.* 2015;(5):24–33.

Trofimov P.N., Antonova O.V., Shvyrev D.N., Hajrutdinov V.R., Belousova I.Je., Samtsov A.V. Cutaneous lupus erythematosus: pathogenesis, clinical pattern, diagnostics, therapy. *Vestnik dermatologii i venerologii = Dermatology and Venereology Bulletin.* 2015;(5):24–33. [In Russian].

19. Salah E. Clinical and dermoscopic spectrum of discoid lupus erythematosus: novel observations from lips and oral mucosa. *Int. J. Dermatol.* 2018;57(7):830–836. doi: 10.1111/ijd.14015

20. Drenkard C., Parker S., Aspey L.D., Gordon C., Helmick C.G., Bao G., Lim S.S. Racial disparities in the incidence of primary chronic cutaneous lupus erythematosus in the southeastern US: The Georgia lupus registry. *Arthritis Care Res. (Hoboken).* 2019;71(1):95–103. doi: 10.1002/acr.23578

21. Smallwood M.J., Nissim A., Knight A.R., Whiteman M., Haigh R., Winyard P.G. Oxidative stress in autoimmune rheumatic diseases. *J. Free Radic. Biol. Med.* 2018;125:3–14. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.086

22. Bengtsson A.A., Trygg J., Wuttge D.M., Sturfelt G., Theander E., Donten M., Moritz T., Sennbro C.J., Torell F., Lood C., Surowiec I., Rännar S., Lundstedt T. Metabolic profiling of systemic lupus erythematosus and comparison with primary Sjögren's syndrome and systemic sclerosis. *PLoS One.* 2016;11(7):e0159384. doi: 10.1371/journal.pone.0159384

23. Ильин М.В., Мальцева П.А., Волкова А.С., Романов В.А., Хрусталева О.А. Экспрессия факторов окислительного стресса и апоптоза нейтрофилов при развитии дисфункции миокарда у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией. *Фундам. исслед.* 2011;9(1):73–75.

Ilyin M.V., Maltseva P.A., Volkova A.S., Romanov V.A., Khrustaleva O.A. Expression of oxidative stress factors and neutrophil apoptosis in the development of myocardial dysfunction in patients with systemic lupus erythematosus and systemic scleroderma.

Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research. 2011;9(1):73–75. [In Russian].

24. Battelli M.G., Bortolotti M., Polito L., Bolognesi A. Metabolic syndrome and cancer risk: The role of xanthine oxidoreductase. *Redox Biol*. 2019;21:101070. doi: 10.1016/j.redox.2018.101070

25. Miesel R., Zuber M. Elevated levels of xanthine oxidase in serum of patients with inflammatory and autoimmune rheumatic diseases. *Inflammation*. 1993;17(5):551–561. doi: 10.1007/BF00914193

26. Мозговая Е.Э., Бедина С.А., Трофименко А.С., Спицина С.С., Мамус М.А., Зборовская И.А. Ксантиноксидоредуктаза крови: профиль активностей при системной красной волчанке. *Вопр. биол., мед. и фармац. химии*. 2022;25(11): 36–41. doi: 10.29296/25877313-2022-11-06

Mozgovaya E.E., Bedina S.A., Trofimenko A.S., Spitsina S.S., Mamus M.A., Zborovskaja I.A. Blood xanthine oxidoreductase: activities profile in systemic lupus erythematosus. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2022;25(11): 36–41. [In Russian]. doi: 10.29296/25877313-2022-11-06

27. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 2009. 896 с.

Kamyshnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics. Moscow: MEDpress-inform, 2009. 896 p. [In Russian].

28. Мозговая Е.Э., Бедина С.А., Трофименко А.С., Спицина С.С., Мамус М.А., Зборовская И.А. Активность ксантиноксидоредуктазы: особенности профиля крови при системных заболеваниях соединительной ткани. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2022;1. Режим доступа: <https://science-education.ru/article/view?id=31351>. doi: 10.17513/spno.31351

Mozgovaya E.E., Bedina S.A., Trofimenko A.S., Spitsina S.S., Mamus M.A., Zborovskaja I.A. Xanthine oxidoreductase activity: features of the blood profile

in systemic connective tissue diseases. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2022;1. Available at: <https://science-education.ru/article/view?id=31351>. [In Russian]. doi: 10.17513/spno.31351

29. Алексеева Е.И., Дворяковская Т.М., Никишина И.П., Денисова Р.В., Подчерняева Н.С., Сухоруких О.А., Шубина Л.С. Системная красная волчанка: клинические рекомендации. Часть 1. *Вопр. соврем. педиатрии*. 2018;17(1):19–37. doi: 10.15690/vsp.v17i1.1853

Alekseeva E.I., Dvoryakovskaya T.M., Nikishina I.P., Denisova R.V., Podchernyaeva N.S., Sukhorukikh O.A., Shubina L.S. Systemic lupus erythematosus: clinical guidelines. Part 1. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*. 2018;17(1):19–37. [In Russian]. doi: 10.15690/vsp.v17i1.1853

30. Battelli M.G., Musiani S., Tazzari P.L., Stirpe F. Oxidative stress to human lymphocytes by xanthine oxidoreductase activity. *Free Radic. Res*. 2001;35(6):665–679. doi: 10.1080/10715760100301191

31. Ghosh S.M., Kapil V., Fuentes-Calvo I., Bubb K.J., Pearl V., Milsom A.B., Khambata R., Maleki-Toyserkani S., Yousuf M., Benjamin N., ... Ahluwalia A. Enhanced vasodilator activity of nitrite in hypertension: critical role for erythrocytic xanthine oxidoreductase and translational potential. *Hypertension*. 2013;61(5):1091–1102. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00933

32. Batchu U., Mandava K. Biochemical role of xanthine oxidoreductase and its natural inhibitors: an overview. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*. 2016;8(10):57–65. doi: 10.22159/ijpps.v8i10.13927

33. Battelli M.G., Polito L., Bortolotti M., Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase-derived reactive species: physiological and pathological effects. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2016;2016:3527579. doi: 10.1155/2016/3527579

Сведения об авторах:

Мозговая Елена Эдуардовна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-0373-5072, e-mail: nauka@pebma.org

Бедина Светлана Александровна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-5316-0185, e-mail: clinicalbiochemistry@yandex.ru

Трофименко Андрей Степанович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-1627-8483, e-mail: a.s.trofimenko@mail.ru

Спицина Светлана Сергеевна, ORCID: 0000-0001-5127-611X, e-mail: svetlanahime@yandex.ru

Мамус Мария Анатольевна, ORCID: 0000-0002-5488-1451, e-mail: m.mamus@yandex.ru

Зборовская Ирина Александровна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-3898-7667, e-mail: pebma@pebma.org

Information about the authors:

Elena E. Mozgovaya, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0373-5072, e-mail: nauka@pebma.org

Svetlana A. Bedina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5316-0185, e-mail: clinicalbiochemistry@yandex.ru

Andrew S. Trofimenko, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1627-8483, e-mail: a.s.trofimenko@mail.ru

Svetlana S. Spitsina, ORCID: 0000-0001-5127-611X, e-mail: svetlanahime@yandex.ru

Maria A. Mamus, ORCID: 0000-0002-5488-1451, e-mail: m.mamus@yandex.ru

Irina A. Zborovskaya, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-3898-7667, e-mail: pebma@pebma.org

Поступила в редакцию 03.05.2023

После доработки 03.08.2023

Принята к публикации 11.09.2023

Received 03.05.2023

Revision received 03.08.2023

Accepted 11.09.2023

Эффективность I этапа реабилитации медицинских работников со среднетяжелым течением интерстициального поражения легких, ассоциированного с COVID-19

Л.А. Шпагина, В.А. Дробышев, С.А. Кармановская, Е.М. Локтин, И.С. Шпагин, О.С. Котова, Л.А. Паначева, Т.В. Мусиенко, Е.А. Заикина

Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России

630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Городская клиническая больница № 2

630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

Резюме

Цель исследования – оценить эффективность методов ранней реабилитации медицинских работников с тяжелым или средней степени тяжести поражением легких, вызванным новой коронавирусной инфекцией, находящихся в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии, для улучшения вентиляции легких, газообмена и бронхиального клиренса, коррекции мышечной слабости, повышения общей физической выносливости, мобильности, психоэмоциональной стабильности. **Материал и методы.** Обследованы 53 больных COVID-19 женщины со среднетяжелым течением поражения легких на I этапе реабилитации, разделенных на две группы: основная ($n = 31$, медицинский персонал) и контрольная ($n = 22$, работающие вне контакта с пулмотропными факторами риска, в том числе в отсутствие риска инфицирования SARS-CoV-2). Ранняя реабилитация проводилась в отделении реанимации и интенсивной терапии и в инфекционном госпитале для больных COVID-19 ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» по плану, составленному согласно временным методическим рекомендациям по медицинской реабилитации новой коронавирусной инфекции. **Результаты и их обсуждение.** Установлено, что реабилитация в условиях реанимационного блока и профильного отделения позволяет достоверно снизить степень выраженности одышки, проявления тревоги и депрессии, позитивно влияет на повышение толерантности к физическим нагрузкам, способствует снижению активности системного воспаления. У пациентов, имеющих производственный контакт с больными COVID-19, эффективность реабилитационных мероприятий меньше, чем в группе сравнения. **Заключение.** Для повышения эффективности I этапа реабилитации медицинских работников с COVID-19 и поражением легких необходимо проведение более интенсивной и продолжительной реабилитации, чем указано в актуальных методических рекомендациях.

Ключевые слова: COVID-19, реабилитация, поражение легких, толерантность к физической нагрузке, одышка, качество жизни, медицинские работники.

Автор для переписки: Дробышев В.А., e-mail: doctorvik@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Шпагина Л.А., Дробышев В.А., Кармановская С.А., Локтин Е.М., Шпагин И.С., Котова О.С., Паначева Л.А., Мусиенко Т.В., Заикина Е.А. Эффективность I этапа реабилитации медицинских работников со среднетяжелым течением интерстициального поражения легких, ассоциированного с COVID-19. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):164–169. doi: 10.18699/SSMJ20230620

Efficacy of stage I rehabilitation of medical workers with moderate course of interstitial lung damage associated with COVID-19

L.A. Shpagina, V.A. Drobyshev, S.A. Karmanovskaya, E.M. Loktin, I.S. Shpagin, O.S. Kotova, L.A. Panacheva, T.V. Musienko, E.A. Zaikina

Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia

630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

City Clinical Hospital № 2,

630051, Novosibirsk, Polzunova st., 21

Abstract

Aim of the study was to evaluate the effectiveness of early rehabilitation methods for medical workers with severe or moderate lung damage caused by a new coronavirus infection, who are in intensive care units, to improve lung ventilation, gas exchange and bronchial clearance, correct muscle weakness, increase overall physical endurance, mobility, psycho-emotional stability. **Material and methods.** We examined 53 COVID-19 women with moderate lung injury at stage I of rehabilitation, divided into two groups: main ($n = 31$, medical personnel) and control ($n = 22$, working outside of contact with pulmotropic risk factors, including no risk of SARS-CoV-2 infection). Early rehabilitation was carried out in the intensive care unit and in the infectious diseases hospital of City Clinical Hospital No. 2, for patients with COVID-19 rehabilitation plan was drawn up in accordance with temporary guidelines for the medical rehabilitation of a new coronavirus infection. **Results and discussion.** It was established, that rehabilitation in the conditions of the intensive care unit and the specialized department can significantly reduce the severity of dyspnea, anxiety and depression, positively affects the increase in exercise tolerance, and helps to reduce the activity of systemic inflammation. In patients who have industrial contact with patients with COVID-19, the effectiveness of rehabilitation measures is lower than in the comparison group. **Conclusions.** To increase the effectiveness of stage I of the rehabilitation of medical workers with COVID-19 and lung damage, it is necessary to conduct more intensive and longer rehabilitation than indicated in the current guidelines.

Key words: COVID-19, rehabilitation, lung damage, exercise tolerance, dyspnea, quality of life, medical workers.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Drobyshev V.A., e-mail: doctorvik@yandex.ru

Citation: Shpagina L.A., Drobyshev V.A., Karmanovskaya S.A., Loktin E.M., Shpagin I.S., Kotova O.S., Panacheva L.A., Musienko T.V., Zaikina E.A. Efficacy of stage I rehabilitation of medical workers with moderate course of interstitial lung damage associated with COVID-19. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):164–169. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230620

Введение

Возбудитель заболевания COVID-19, появление которого датируется декабрем 2019 г., представляет собой одноцепочечный РНК-содержащий вирус SARS-CoV-2, относящийся к семейству Coronaviridae, роду *Betacoronavirus* и обладающий тропностью к альвеолярному эпителию и слизистым оболочкам верхних дыхательных путей. Поражение легких при COVID-19, как и при других вирусных инфекциях, представляет собой диффузное альвеолярное повреждение [1, 2]. Появление COVID-19 поставило перед специалистами здравоохранения новые задачи по оказанию медицинской помощи больным [3, 4]. Пандемия COVID-19 создала сложные условия для восстановления здоровья пациентов с различной тяжестью течения инфекции, многообразием клинической симптоматики и развивающимися вследствие как заболевания, так и используемых стратегий интенсивного лечения, функциональных нарушений, изменений активности и участия пациентов в бытовой, социальной и профессиональной жизни. Учитывая особенности патогенеза заболевания, вызванного SARS-CoV-2, стандартное применение общепринятых методов реабилитации после перенесенных респираторных заболеваний может быть небезопасным или неэффективным [5].

Медицинские работники имеют высокий риск инфицирования SARS-CoV-2 и манифестации заболевания с госпитализацией в отделение

реанимации и интенсивной терапии, что определяет практическую потребность в разработке реабилитационных программ, нацеленных на восстановление функции респираторной системы, снижение потребности в анальгоседации, минимизацию вторичного повреждающего эффекта синдрома последствий интенсивной терапии и вероятности развития полинейромиопатии критических состояний [6–8].

Эффективность программ медицинской реабилитации, реализуемых в рамках Временных методических рекомендаций «Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 3 (01.11.2022) [9], у больных с профессиональной COVID-19 недостаточна.

Цель настоящего исследования – оценить эффективность методов ранней реабилитации медицинских работников с тяжелым или средней степени тяжести поражением легких, вызванным новой коронавирусной инфекцией, находящихся в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии, для улучшения вентиляции легких, газообмена и бронхиального клиренса, коррекции мышечной слабости, повышения общей физической выносливости, мобильности, психоэмоциональной стабильности.

Материал и методы

В условиях отделения реанимации и интенсивной терапии или профильного отделения ГБУЗ НСО «Городская клиническая больни-

ца № 2» г. Новосибирска обследовано 53 больных COVID-19 женщины со среднетяжелым течением поражения легких. Возраст пациентов варьировал от 46 до 62 лет ($50,8 \pm 3,6$ года). В числе осммотренных 31 женщина были медицинскими работниками (1-я группа) и 22 работали вне контакта с пневмотропными профессиональными факторами риска (2-я группа). По возрасту, сопутствующим заболеваниям, тяжести поражения легких, получаемой терапии изучаемые группы были однородными. Критерии исключения: снижение уровня сознания, ажитация; нестабильная гемодинамика; отрицательная динамика данных компьютерной томографии и/или маркеров воспаления; высокие кардиологические риски; сатурация крови кислородом (SpO_2) $< 90\%$, снижение SpO_2 более чем на 4 пункта при физической нагрузке. Все пациенты дали согласие на участие в исследовании в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ. На выполнение работы получено разрешение локального этического комитета Новосибирского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол №4 от 07.04.2020).

Все осммотренные находились в отделении реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», среднее время от начала COVID-19 составило $5 \pm 2,4$ дня. Обследование участников исследования включало осмотры терапевта, пульмонолога, невролога, мультиспиральную компьютерную томографию органов грудной клетки, электрокардиографию, клинический и биохимический анализ крови, пульсоксиметрию, термометрию. По результатам клиничко-функционального обследования у пациентов выявлялись интерстициальное поражение легких, дыхательная недостаточность, астенический синдром, повышенная тревожность. У всех больных определяли наличие реабилитационного потенциала, оценка по шкале реабилитационного маршрутизации составила 4–5 баллов.

Индивидуальная программа реабилитации формировалась мультидисциплинарной реабилитационной командой, включающей врача физической и реабилитационной медицины, врача лечебной физкультуры, инструктора-методиста по лечебной физкультуре, врача-физиотерапевта, специалиста по нутритивной поддержке, медицинского психолога, работающих совместно с лечащим врачом. Реабилитационные мероприятия, составленные для первого этапа, базировались на нутритивной поддержке, процедурах респираторного ухода, постуральной коррекции, мероприятиях по антигравитационному позиционированию и ранней мобилизации, вибропневмомассаже, индивидуальных занятиях дыхательной

гимнастикой, циклических тренировках с помощью прикроватного велотренажера, лазерной терапии на сегментарные зоны.

Выраженность одышки анализировали с использованием анкет Medical Research Council (mMRC), Baseline Dyspnea Index – Transition Dyspnea Index (BDI/TDI) [9], SpO_2 измеряли портативным пульсоксиметром (ARMED, Китай), уровень С-реактивного белка и ферритина – с помощью твердофазного иммуноферментного метода (фотометр Expert Plus, ASYS HITECH, Австрия), активность лактатдегидрогеназы – стандартным кинетическим методом. Толерантность к физической нагрузке оценивали у пациентов со среднетяжелым течением заболевания по результатам теста 6-минутной ходьбы [10], с оценкой переносимости физических нагрузок по модифицированной шкале Борга [11]. Выраженность тревоги и депрессии определяли с применением анкеты HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale) [12].

Для оценки нормальности распределения данных использовали метод Колмогорова – Смирнова. Поскольку распределение отличалось от нормального, данные представлены в виде медианы и межквартильных интервалов (Me [25 %; 75 %]). Сравнение результатов до и после реабилитации проводили по критерию Вилкоксона, независимых групп – по критерию Манна – Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

В сравниваемых группах результаты оценки по анкете mMRC к завершению периода наблюдения указывали на снижение выраженности одышки, что свидетельствовало об улучшении вентиляционной функции легких (таблица). Обращал на себя внимание тот факт, что большие сдвиги имели место у пациентов 2-й группы, в которой среднее число баллов mMRC уменьшилось от исходных величин в 1,8 раза ($p = 0,012$), тогда как у обследованных в 1-й – только в 1,4 раза ($p = 0,041$). Следует отметить, что при сопоставлении результатов реабилитации итоговые значения mMRC у обследованных медицинских работников отставали от таковых в группе не контактирующих с пневмотропными профессиональными факторами риска в 1,4 раза ($p = 0,036$).

Однонаправленные изменения были зафиксированы при изучении показателей выраженности исходного и динамического индексов одышки: при оценке функциональных нарушений, трудностей в выполнении повседневных и степени необходимых усилий по шкале BDI оказалось, что после реабилитации в 1-й и 2-й группах среднее число

Клинико-функциональные показатели и психоэмоциональное состояние у обследованных до и после реабилитации

Clinical and functional indicators and psycho-emotional state of the examined before and after rehabilitation

Показатель	1-я группа (n = 31)		2-я группа (n = 22)	
	До реабилитации	После реабилитации	До реабилитации	После реабилитации
Выраженность одышки (mMRC, баллы)	1,5 [1,2; 1,7]	1,1 [0,8; 1,3]*	1,4 [1,1; 1,6]	0,8 [0,5; 1,2]*.^
Исходный уровень одышки (BDI, баллы)	5,2 [5,0; 5,4]	4,1 [3,9; 4,3]*	5,5 [5,3; 5,7]	3,9 [3,7; 4,2]*
Динамический уровень одышки (TDI, баллы)	5,2 [5,0; 5,5]	3,4 [3,2; 3,6]*	5,1 [4,9; 5,3]	3,0 [2,8; 3,2]*
Субъективная оценка физической нагрузки (шкала Борга, баллы)	13,7 [13,4; 13,9]	12,1 [11,8; 12,4]	14,1 [13,8; 14,3]	10,8 [10,5; 11,1]*.^
SpO ₂ , %	93,3 [91,4; 95,7]	97,2 [96,6; 97,4]	93,1 [92,8; 94,2]	97,8 [96,9; 98,1]
Выраженность тревоги/депрессии (шкала HADS, баллы)	8,5 [8,3; 8,7]	7,1 [6,8; 7,3]*	8,3 [8,0; 8,5]	5,5 [5,2; 5,8]*.^
Содержание С-реактивного белка, мг/мл	7,8 [7,6; 8,0]	6,0 [6,2; 6,4]*	6,8 [7,6; 8,0]	6,1 [5,9; 6,3]*
Содержание ферритина, нг/мл	196 [194; 198]	163 [160; 165]*	180 [178; 182]	150 [148; 152]
Активность лактатдегидрогеназы, ЕД/л	546 [544; 548]	354 [352; 356]*	488 [486; 490]	370 [368; 372]*

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – до реабилитации; ^ – 1-й группы.

баллов уменьшилось соответственно в 1,3 раза ($p = 0,041$) и в 1,4 раза ($p = 0,035$), по шкале TDI – в 1,5 раза ($p = 0,026$) и в 1,7 раза ($p = 0,018$).

Сопоставление показателей шкалы субъективной оценки физической нагрузки (шкала Борга) до и после проведенного курса реабилитации у больных с COVID-19 средней тяжести обнаружило следующее: в 1-й группе толерантность к физической нагрузке имела лишь тенденцию к улучшению (изменение по шкале Борга в 1,16 раза, $p = 0,065$), тогда как у пациентов 2-й группы позитивные сдвиги носили значимый характер (в 1,3 раза, $p = 0,039$). Полученные данные свидетельствовали о более медленном темпе восстановления толерантности к физической нагрузке у медицинских работников.

Согласно результатам измерения сатурации кислорода (SpO₂) на фоне I этапа реабилитации у больных COVID-19 средней тяжести в обеих группах отмечалась тенденция к увеличению показателей (см. таблицу).

При изучении психоэмоционального состояния обследованных оказалось, что первоначальная сумма баллов в сравниваемых группах согласно шкале HADS соответствовала субклинически выраженным признакам тревоги/депрессии. К завершению реабилитационного курса у пациентов

1-й группы отмечено снижение суммы баллов в 1,2 раза ($p = 0,045$), тогда как во 2-й группе изменения оказались статистически значимы (в 1,3 раза, $p = 0,034$) большими – в 1,5 раза ($p = 0,018$).

В обеих группах к завершению реабилитационного курса отмечено изменение ряда клинических и биохимических параметров, указывающее на снижение активности системного воспаления: у осмотренных в 1-й группе было выявлено уменьшение концентрации в крови С-реактивного белка в 1,3 раза ($p = 0,035$), ферритина – в 1,2 раза ($p = 0,042$), активности лактатдегидрогеназы – в 1,54 раза ($p = 0,042$), у пациентов 2-й группы изменения изучаемых показателей носили несколько менее выраженный характер (соответственно в 1,1 ($p = 0,062$), в 1,2 и в 1,32 раза ($p = 0,048$)).

Заключение

Курс ранней реабилитации в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии или профильного отделения медицинским работникам с COVID-19 и поражением легких позволяет достоверно снизить степень выраженности дыхательной недостаточности, выраженность одышки, проявления тревоги и депрессии, повысить толерантность к физическим нагрузкам, уменьшить

активность системного воспаления. При этом эффективность реабилитационных мероприятий отличается в меньшую сторону от результатов реабилитации пациентов, не имеющих производственного контакта с больными COVID-19, что определяет необходимость проведения более интенсивных и продолжительных реабилитационных курсов, чем указано во временных методических рекомендациях по реабилитации новой коронавирусной инфекции COVID-19 [9].

Список литературы

1. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., ... China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(18):1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
2. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 7 (03.06.2020). Режим доступа: http://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/MR_COVID-19_v7.pdf
3. Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Чикина С.Ю., Черняк А.В., Калманова Е.Н. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии. *Пульмонология*. 2014;(6):11–24. doi: 10.18093/0869-0189-2014-0-6-11-24
4. Иванова Г.Е., Баландина И.Н., Батышева Т.Т., Бахтина И.С., Белкин А.А., Беляев А.Ф., Бодрова Р.А., Бубнова М.Г., Буйлова Т.В., Валиулина С.А., ... Шмонин А.А. Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (COVID 19). *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация*. 2020;2(2):40–189. doi: 10.36425/rehab34231
5. Иванова Г.Е. Принципы организации медицинской реабилитации больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19: доклад на Всеросс. научно-практ. форуме «Медицинская реабилитация при коронавирусной инфекции» (11.06.2020, онлайн-формат).
6. Постановление Правительства РФ от 15.12.2000 № 967 (ред. от 10.07.2020) «Об утверждении Положения о расследовании и учете профессиональных заболеваний». Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_29577/
7. Приказ Минздрава РФ от 28.05.2001 № 176 (ред. от 15.08.2011) «О совершенствовании системы расследования и учета профессиональных заболеваний в Российской Федерации». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_32716/
8. Приказ Минздрава России от 13.11.2012 № 911н (ред. от 21.02.2020) «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи при острых и хронических профессиональных заболеваниях». Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_140324/
9. Временные методические рекомендации. Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 3 (01.11.2022). Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_358669/76f4d9e5aebc059b3c9a26fb6e57e2951afc8aca/
10. Buland R.J., Pang J., Gross E.R., Woodcock A.A., Geddes D.M. Two-, six, and 12-minute walking tests in respiratory disease. *BMJ*. 1982;284(6329):1607–1608. doi: 10.1136/bmj.284.6329.1607
11. Borg G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1982;14(5):377–381.
12. Prisman J.C., Fiest K.M., Coutts S.B., Patten S., Atta C.A., Blaikie L., Bulloch A.G., Demchuk A., Hill M.D., Smith E.E., Jetté N. Validating screening tools for depression in stroke and transient ischemic attack patients. *Int. J. Psychiatry Med.* 2016;51(3):262–277. doi: 10.1177/0091217416652616

References

1. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., ... China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(18):1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
2. Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19). Version 7 (03.06.2020). Available at: http://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/MR_COVID-19_v7.pdf [In Russian].
3. Chuchalin A.G., Aysanov Z.R., Chikina S.Yu., Chernyak A.V., Kalmanova E.N. Federal guidelines of Russian Respiratory Society on spirometry. *Pulmonology*. 2014;(6):11–24. [In Russian]. doi: 10.18093/0869-0189-2014-0-6-11-24
4. Ivanova G.E., Balandina I.N., Batysheva T.T., Bakhtina I.S., Belkin A.A., Belyaev A.F., Bodrova R.A., Bubnova M.G., Buylova T.V., Valiulina S.A., ... Shmonin A.A. Medical rehabilitation at a new coronavirus infection (COVID-19). *Fizicheskaya i reabilitatsionnaya meditsina, meditsinskaya reabilitatsiya = Physical and Rehabilitation Medicine, Medical Rehabilitation*. 2020;2(2):40–189. [In Russian]. doi: 10.36425/rehab34231
5. Ivanova G.E. Principles of organizing medical rehabilitation of patients with a new coronavirus infection COVID-19: report at All-russian scientific and practical forum «Medical rehabilitation in coronavirus infection» (11.06.2020, on-line). [In Russian].
6. Decree of the Government of the Russian Federation of December 15, 2000 № 967 (as amended on

July 10, 2020) «On approval of the Regulations on the investigation and registration of occupational diseases». Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_29577/ [In Russian].

7. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of May 28, 2001 № 176 «On improving the system for investigating and recording occupational diseases in the Russian Federation». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_32716/ [In Russian].

8. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of November 13, 2012 № 911n. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_140324/ [In Russian].

9. Temporary guidelines. Medical rehabilitation for novel coronavirus infection (COVID-19) Version 3 (01.11.2022). Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_358669/76f4d9e5aebc-059b3c9a26fb6e57e2951afc8aca/ [In Russian].

10. Buland R.J., Pang J., Gross E.R., Woodcock A.A., Geddes D.M. Two-, six, and 12-minute walking tests in respiratory disease. *BMJ*. 1982;284(6329):1607–1608. doi: 10.1136/bmj.284.6329.1607

11. Borg G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1982;14(5):377–381.

12. Prisman J.C., Fiest K.M., Coutts S.B., Patten S., Atta C.A., Blaikie L., Bulloch A.G., Demchuk A., Hill M.D., Smith E.E., Jetté N. Validating screening tools for depression in stroke and transient ischemic attack patients. *Int. J. Psychiatry Med.* 2016;51(3):262–277. doi: 10.1177/0091217416652616

Информация об авторах:

Шпагина Любовь Анатольевна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-0871-7551, e-mail: lashpagina@gmail.com
Дробышев Виктор Анатольевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-7093-3071, e-mail: doctorvik@yandex.ru
Кармановская Светлана Александровна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-3446-8018, e-mail: mkb-2@yandex.ru
Локтин Евгений Михайлович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-7370-6958, e-mail: mkb-2@yandex.ru
Шпагин Илья Семенович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-3109-9811, e-mail: mkb-2@yandex.ru
Котова Ольга Сергеевна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-0724-1539, e-mail: ok526@yandex.ru
Паначева Людмила Алексеевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-8230-8141, e-mail: LAP232@yandex.ru
Мусяенко Татьяна Владимировна, ORCID: 0009-0004-1943-9379, e-mail: tanyamusienko@rambler.ru
Заикина Екатерина Алексеевна, ORCID: 0000-0002-9157-002X, e-mail: zaikina.happy@yandex.ru

Information about the authors:

Lubov A. Shpagina, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-0871-7551, e-mail: lashpagina@gmail.com
Viktor A. Drobyshev, doctor of medical sciences, professor ORCID: 0000-0002-7093-3071, e-mail: doctorvik@yandex.ru
Svetlana A. Karmanovskaya, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-3446-8018, e-mail: mkb-2@yandex.ru
Eugeny M. Loktin, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-7370-6958, e-mail: mkb-2@yandex.ru
Ilya S. Shpagin, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0724-1539, e-mail: ok526@yandex.ru
Olga S. Kotova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0724-1539, e-mail: ok526@yandex.ru
Lyudmila A. Panacheva, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8230-8141, e-mail: LAP232@yandex.ru
Tatiana V. Musienko, ORCID: 0009-0004-1943-9379, e-mail: tanyamusienko@rambler.ru
Ekaterina A. Zaikina, ORCID: 0000-0002-9157-002X, e-mail: zaikina.happy@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.05.2023

После доработки 21.06.2023

Принята к публикации 22.06.2023

Received 03.05.2023

Revision received 21.06.2023

Accepted 22.06.2023

Антирадикальные и иммуномодулирующие эффекты гинекологических капсул, разрабатываемых для комплексного лечения заболеваний женской репродуктивной системы

Ю.В. Шикова¹, А.Д. Куфтерина¹, И.В. Сахаутдинова¹, Ю.Л. Борцова¹, Р.Р. Фагамов², С.Ш. Галимова², Э.Ф. Галимова¹, К.С. Мочалов¹

¹ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России
450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3

² Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского
Минздрава России
117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 27

Резюме

Цель работы – оценка антирадикальных и иммуномодулирующих эффектов гинекологических капсул (овулей), разрабатываемых для комплексного лечения заболеваний женской репродуктивной системы. **Материал и методы.** Антирадикальную активность гинекологических капсул (овулей) оценивали в бесклеточных модельных системах по способности подавлять гиперпродукцию свободнорадикальных агентов, вызываемую введением сернокислого железа. Иммуномодулирующую активность определяли в цельной крови по влиянию на способность фагоцитирующих клеток генерировать активные формы кислорода. **Результаты.** В бесклеточных модельных системах исследуемая лекарственная композиция подавляла активацию свободнорадикальных окислительных процессов, индуцированную введением сернокислого железа, в то же время усиливая продукцию лейкоцитами активных форм кислорода. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о наличии у разрабатываемых гинекологических капсул антирадикальной и иммуномодулирующей активности, что позволяет рассматривать их в качестве перспективного средства для лечения заболеваний женской репродуктивной системы.

Ключевые слова: гинекология, воспаление, хемилюминесценция, окислительный стресс, свободные радикалы, иммуномодуляторы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Мочалов К.С., e-mail: ksmochalov@yandex.ru

Для цитирования: Шикова Ю.В., Куфтерина А.Д., Сахаутдинова И.В., Борцова Ю.Л., Фагамов Р.Р., Галимова С.Ш., Галимова Э.Ф., Мочалов К.С. Антирадикальные и иммуномодулирующие эффекты гинекологических капсул, разрабатываемых для комплексного лечения заболеваний женской репродуктивной системы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):170–176. doi: 10.18699/SSMJ20230621

Antiradical and immunomodulatory effects of gynecological capsules developed for complex treatment of diseases of the female reproductive system

Yu.V. Shikova¹, A.D. Kufterina¹, I.V. Sakhautdinova¹, Yu.L. Bortsova¹, R.R. Fagamov², S.Sh. Galimova², E.F. Galimova¹, K.S. Mochalov¹

¹ Bashkir State Medical University of Minzdrav of Russia
450008, Ufa, Lenina st., 3

² National Medical Research Center for Surgery named after A.V. Vishnevsk of Minzdrav of Russia
117997, Moscow, Bolshaya Serpukhovskaya st., 27

Abstract

Aim of the study was to evaluate the antiradical and immunomodulatory effects of gynecological capsules (ovules) developed for the complex treatment of diseases of the female reproductive system. **Material and methods.** Antiradical activity of gynecological capsules (ovuli) was evaluated in cell-free model systems by the ability to suppress the

hyperproduction of free radical agents caused by the introduction of iron sulfate. Immunomodulatory activity was determined in the whole blood by their effect on the ability of phagocytic cells to generate reactive oxygen species.

Results. In cell-free model systems, the studied drug composition suppressed the activation of free radical oxidative processes induced by the iron sulfate, while at the same time enhancing the production of reactive oxygen species by leukocytes. **Conclusions.** The results obtained may indicate that the developed gynecological capsules have antiradical and immunomodulatory activity, which allows us to consider them as a promising tool for the treatment of diseases of the female reproductive system.

Key words: gynecology, inflammation, chemiluminescence, oxidative stress, free radicals, immunomodulators.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Mochalov K.S., e-mail: ksmochalov@yandex.ru

Citation: Shikova Yu.V., Kufterina A.D., Sakhautdinova I.V., Bortsova Yu.L., Fagamov R.R., Galimova S.Sh., Galimova E.F., Mochalov K.S. Antiradical and immunomodulatory effects of gynecological capsules developed for complex treatment of diseases of the female reproductive system. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):170–176. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230621

Введение

Воспалительные заболевания женского полового тракта являются одной из наиболее актуальных проблем современной гинекологии [1–3]. Значительный вклад в реализацию воспалительных процессов вносят свободнорадикальные метаболиты [4], прежде всего активные формы кислорода (АФК), которые выполняют важные функции, в частности, обеспечивают белковый синтез, способствуют образованию хемоаттрактантов, участвуют в защитных реакциях, направленных на нейтрализацию антигенов, а также выступают в качестве вторичных посредников во внутриклеточных сигнальных путях [5]. АФК играют важную роль на этапах беременности от созревания яйцеклеток до имплантации эмбриона. Вместе с тем АФК, а также липидные радикалы (ЛР), при избыточной продукции обуславливают феномен окислительного стресса, приводящий к патологическим процессам в женских половых путях [6]. В работе J. Lu et al. приводятся данные о том, что дефицит в системе Keap1-Nrf2, активируемой при окислительном стрессе, вызывает развитие заболеваний репродуктивной системы у женщин [7]. Установлена связь между окислительным стрессом и заболеваниями репродуктивной системы, включая эндометриоз, преэклампсию [8, 9]. Гиперпродукция АФК может воздействовать на гранулезные клетки и вызывать аутофагию яйцеклеток [10], усиливать метаболизм раковых клеток в женских половых органах [11]. Развитие окислительного стресса приводит к снижению антиоксидантной активности, что сопровождается патологическими последствиями для системы репродукции. Назначение антиоксидантов является одним из направлений в терапии заболеваний репродуктивной системы и бесплодия [12]. Антиоксиданты обеспечивают нормальное функционирование органов женской репродуктивной системы, в частности, участвуют в регуляции

развития фолликулов, овуляции, оплодотворения, имплантации эмбриона, развития беременности и родов [13].

Широкое распространение заболеваний женского тракта обуславливает потребность в разработке новых гинекологических средств, обладающих антирадикальной, иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью, в том числе благодаря поддержанию редокс-баланса. Сотрудниками кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России разработаны новые лекарственные средства, в том числе в форме капсул (овулей) [14–16], предлагаемые к использованию при комплексном лечении неспецифических заболеваний женской репродуктивной системы. Задачами, которые были поставлены при разработке данных средств, явились повышение биодоступности, контроль высвобождения действующих веществ и увеличение пролонгированного действия.

Развитие воспалительных реакций сопровождается вовлечением фагоцитирующих клеток, прежде всего рекрутированием из сосудистого русла нейтрофилов, имеющих системы кислород-зависимого метаболизма, эффекторным звеном которого являются АФК [17]. Несмотря на то что воспалительные реакции способствуют защите от антигенов и бактериальных факторов, а также поддерживают функциональное состояние эндометрия, гиперпродукция медиаторов воспаления может приводить к негативным последствиям для фертильности – нарушению структуры и функций яйцеклеток [18].

Способность лекарственного средства сочетать в себе свойства препарата, активирующего иммуннокомпетентные клетки и одновременно препятствующего развитию разрушительных проявлений воспаления, обеспечивает его преи-

мущества и делает перспективным для внедрения в клиническую практику. Потребность в прицельном изучении способности разрабатываемых для гинекологии средств воздействовать на разные стороны воспалительного процесса – защитную и разрушительную, обусловленные активацией и подавлением выработки свободнорадикальных кислородных метаболитов, и предопределила цель проводимого исследования.

Цель исследования – оценка антирадикальных и иммуномодулирующих эффектов гинекологических капсул (овулей), разрабатываемых для комплексного лечения заболеваний женской репродуктивной системы

Материал и методы

В исследовании применяли методики, позволяющие *in vitro* оценить антирадикальные и иммуномодулирующие свойства разработанной фармацевтической композиции для терапии в гинекологической практике.

Объектом исследования явились разрабатываемые на кафедре фармацевтической технологии с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России гинекологические капсулы (овули). В состав одной капсулы входят следующие компоненты: сульфадимезин 0,05 г, метронидазол 0,01 г, крахмал картофельный 0,02 г, глюкоза 0,04 г, 5%-й поливиниловый спирт 0,07 г, 15%-й масляный экстракт прополиса 1,0 г, желатин 0,2 г, диметикон 0,04 г, глицерин 0,4 г, вода очищенная 0,37 г. Все компоненты разрешены для медицинского применения. Оболочка овулей состоит из желатина, диметикона, глицерина и очищенной воды и при этом непроницаема для газов, в том числе кислорода воздуха. Высвобождение действующих веществ контролируется и усиливается с течением времени [14].

Изменение интенсивности свободнорадикальных окислительных процессов, отражающее иммуномодулирующие и антирадикальные свойства исследуемого средства, определяли хемилюминесцентным (ХЛ) методом на приборе «ХЛ-003» (УГАТУ, Уфа) [19, 20].

Для анализа антирадикальной активности моделировали генерацию ЛР и АФК в бесклеточных модельных системах при добавлении ионов Fe^{2+} . Система 1: фосфатный буфер (на 20 mM KH_2PO_4 , 105 mM KCl , pH 7,45), 50 mM цитрата натрия, люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион); система 2: фосфатный буфер, липопротеины куриного желтка (1 мг белка/мл); система 3: сыворотка крови, разведенная фосфатным буфером в соотношении 1:40. Люминол растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) из расчета 10^{-4} М (маточ-

ный раствор) и добавляли 0,2 мл в 1 л системы 1. Капсулы помещали в контрольный растворитель (вода очищенная с добавлением 0,1н кислоты хлористоводородной, pH 4,5–5), отбирали образцы через 10 мин (полное растворение капсульной оболочки) и 30 мин (полное высвобождение препаратов из высвободившихся гранул). К образцам модельных систем в объеме 20 мл добавляли растворенные образцы капсул (0,1 мл) и помещали в камеру прибора. Гиперпродукцию АФК и ЛР инициировали добавлением 0,1 мл 50 mM раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и измеряли ХЛ (определяли интегральный параметр свечения – светосумму).

Для оценки иммуномодулирующих свойств капсул моделировали усиление кислород-зависимого метаболизма фагоцитирующих клеток и генерации ими АФК. Цельную венозную кровь с добавлением гепарина (50 ЕД на 1 мл крови) вносили в лунки 96-луночного иммунологического планшета (по 0,1 мл). К образцам крови (0,1 мл) добавляли раствор из капсул (0,01 мл) и 0,01 мл взвеси микросфер латекса в физиологическом растворе (10^{10} /л), инкубировали в термостате при 37 °С. Далее содержимое лунок планшетов добавляли к 2 мл раствора люминола (0,5 мл маточного раствора люминола в 500 мл физиологического раствора), перемешивали и измеряли ХЛ.

Применение критерия Шапиро – Уилка указывало на наличие распределения, отличающегося от нормального. В этой связи результаты представлены в виде медианы (Me) и межквартильного интервала [Q1; Q3], для межгруппового сравнения использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Достоверными считали значения при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Для исследования антирадикальной активности гинекологических капсул создавали условия гиперпродукции свободнорадикальных кислородных метаболитов: использовали бесклеточные модельные системы, в которых происходило интенсивное образование АФК и ЛР, по выраженности его снижения при введении анализируемых субстанций можно оценивать их антиокислительную активность, которая может выступать важным аспектом противовоспалительных эффектов.

Введение исследуемых образцов в модельную систему 1 вызывало снижение интенсивности ХЛ (таблица). Характер действия высвобождаемых веществ носил дозозависимый характер: так, при добавлении образцов, полученных через 10 мин после помещения капсул в растворитель (полное растворение капсульной оболочки) и через 30 мин (полное высвобождение препаратов из высвободившихся гранул) ХЛ уменьшалась

Изменение ХЛ (квант/с) в модельных системах генерации АФК и ЛР при добавлении гинекологических капсул

Change of chemiluminescence (quantum/s) in systems generating ROS and lipid radicals when gynecological capsules are added

Модельная система	Контроль	Образцы капсул через 10 мин растворения	Образцы капсул через 30 мин растворения
Бесклеточная система 1, $n = 10$	45,9 [45,3; 47,1]	26,9 [24,6; 31,7]*	11,7 [11,1; 12,5]*
Бесклеточная система 2, $n = 10$	86,8 [84,2; 90,1]	52,1 [49,5; 55,2]*	34,8 [33,1; 39,3]*
Бесклеточная система 3, $n = 10$	18,0 [16,1; 19,1]	6,8 [5,5; 8,3]*	2,8 [2,3; 3,4]*
Система кислород-зависимого метаболизма лейкоцитов крови	45,2 [43,8; 49,0]	63,4 [60,1; 67,4]*	88,4 [85,1; 90,3]*

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при $p < 0,05$.

соответственно в 1,7 и 4 раза в сравнении с контролем. Полученные данные свидетельствуют о способности содержимого капсул подавлять гиперпродукцию АФК, искусственно вызываемую введением сернокислого железа в модельной системе.

АФК являются важными участниками воспалительных реакций и напрямую ответственны за развитие окислительного стресса, однако в его реализации задействованы и другие свободнорадикальные метаболиты, в частности, ЛР. ЛР интенсифицируют воспалительные реакции и выступают фактором клеточной деструкции, главным образом за счет нарушения структуры и функции мембран клеток [4]. Нейтрализация реакционной способности ЛР под действием различных соединений свидетельствует о возможности наличия у них противовоспалительных свойств. В модельных системах генерации ЛР гинекологические капсулы также проявляли антиокислительную активность (см. таблицу): в модели с добавлением липопротеинов куриного желтка (система 2) содержимое капсул после растворения оболочек овулей (10 минут) вызывало снижение ХЛ относительно контроля в 1,6 раза, при полном высвобождении фармацевтической композиции из капсул (30 минут растворения) – в 2,5 раза, в модельной системе с добавлением сыворотки крови – соответственно в 2,6 и 6,4 раза. Установленные изменения ХЛ отражают способность разрабатываемых капсул ингибировать ЛР, которая усиливалась с увеличением дозы, по мере выхода лекарственных соединений из капсулы.

Исследования на бесклеточных модельных системах гиперпродукции свободнорадикальных агентов показывают, что разрабатываемые капсулы блокируют не только АФК, но и ЛР, и тем самым создают основу для подавления одного из ключевых механизмов развития воспаления – окислительного стресса. Однако, принимая во внимание не только разрушительную, но и защитную сторону воспалительных реакций, при разработке лекарственных соединений необходимо учитывать их иммуномодулирующую активность, в частности, в отношении фагоцитарного звена системы иммунитета. Проведенные на модели активации кислород-зависимого метаболизма гранулоцитов крови исследования показали усиление параметров ХЛ при добавлении содержимого гинекологических капсул (см. таблицу).

Инкубирование образцов крови с образцами растворенных капсул приводило к изменениям функционально-метаболического состояния гранулоцитов: в присутствии объектов фагоцитоза (латекс) последние усиливали интенсивность ХЛ образцов крови в 1,4 раза после растворения оболочек капсул и в 2 раза при полном высвобождении действующих соединений, что характеризует усиление кислород-зависимой активности клеток и генерации АФК. Регистрация ХЛ крови в основном отражает генерацию АФК гранулоцитами, а именно нейтрофилами. Нейтрофилы являются первой линией неспецифического иммунитета. При проникновении чужеродных агентов они устремляются в очаг воспаления и выполняют деструкцию и элиминацию возбудителей, а микробиоценоз органов малого таза воздействует на клетки, усиливая их биоцидность, в частности, вызывая образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET) [22, 23]. Способность гинекологических капсул стимулировать процессы кислород-зависимого метаболизма фагоцитов может свидетельствовать об усилении saniрующей активности клеток, которая в дальнейшем может быть реализована в половом тракте у женщин при клиническом применении.

Воспалительные реакции поддерживают физиологическое состояние эндометрия, однако в

качестве его деструктивных последствий могут отмечаться нарушения репродуктивной функции, в частности функции яйцеклеток [18]. Одним из центральных механизмов в дисбалансе защитной и разрушительных сторон воспаления является нарушение регуляции образования свободнорадикальных кислородных метаболитов. Гиперпродукция АФК и ЛР может явиться одним из факторов нарушения репродуктивной функции [21]. Купирование проявлений окислительного стресса, способность к которому была установлена у гинекологических капсул, является одной из важнейших тактик противовоспалительной терапии. Вместе с тем чрезмерное блокирование окислительных процессов может приводить к хронизации заболеваний репродуктивного тракта и развитию резистентности к проводимому лечению. Не последнюю роль в прекращении выработки свободнорадикальных кислородных метаболитов играет нарушение активности гранулоцитов [22]. При активации кислородзависимого метаболизма, которая также продемонстрирована в наших экспериментах, нейтрофилы успешно фагоцитируют чужеродный материал, устраняют поврежденные клетки.

Закключение

Таким образом, для разрабатываемых гинекологических капсул установлена антирадикальная и иммуномодулирующая активность. Она проявлялась в способности лекарственной композиции подавлять гиперпродукцию свободнорадикальных кислородных метаболитов и одновременно стимулировать фагоцитарное звено системы иммунитета, усиливая кислород-зависимый метаболизм и генерацию АФК гранулоцитами крови. Выявленные свойства гинекологических капсул дают возможность рассматривать их в качестве перспективного средства для лечения заболеваний женской репродуктивной системы. Для подтверждения данной возможности необходимо проведение дальнейших исследований.

Список литературы

1. Тютюнник В.Л., Вересова А.А., Сироткина Е.А., Кан Н.Е. Воспалительные заболевания органов малого таза: основные принципы терапии. *Мед. сов.* 2018;(12):160–163. doi: 10.21518/2079-701X-2018-12-160-163
2. Исоева Б.И. Этиология, патогенез и диагностика, современные принципы и методы лечения острых воспалительных заболеваний придатков матки (обзор литературы). *Биол. и интегратив. мед.* 2022;5(58):157–180.
3. Сковцов В.В., Затонский И.Е., Левитан Б.Н., Сковцова Е.М., Сковцова А.В. Воспалительные

заболевания органов малого таза. *Медицинская сестра.* 2019;21(1):6–9. doi: 10.29296/25879979-2019-01-02

4. Фархутдинов Р.Р., Галимов Ш.Н., Галимова Э.Ф. Свободнорадикальное окисление в норме и патологии. *Практикующий врач сегодня.* 2010;(2):54–61.

5. Basini G., Grasselli F., Bianco F., Tirelli M., Tamanini C. Effect of reduced oxygen tension on reactive oxygen species production and activity of antioxidant enzymes in swine granulosa cells. *Biofactors.* 2004;20(2):61–69. doi: 10.1002/biof.5520200201

6. Agarwal A., Gupta S., Sekhon L., Shah R. Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid. Redox Signal.* 2008;10(8):1375–1403. doi: 10.1089/ars.2007.1964

7. Lu J., Wang Z., Cao J., Chen Y., Dong Y. A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2018;16(1):80. doi: 10.1186/s12958-018-0391-5

8. Matsubara K., Higaki T., Matsubara Y., Nawa A. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16(3):4600–4614. doi: 10.3390/ijms16034600

9. Gupta S., Agarwal A., Krajcir N., Alvarez J.G. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reprod. Biomed. Online.* 2006;13(1):126–134. doi: 10.1016/s1472-6483(10)62026-3

10. Yadav A.K., Yadav P.K., Chaudhary G.R., Tiwari M., Anumegha G., Sharma A., Pandey A.N., Pandey A.K., Chaube S.K. Autophagy in hypoxic ovary. *Cell. Mol. Life Sci.* 2019;76(17):3311–3322. doi: 10.1007/s00018-019-03122-4

11. Kim S.M., Hwang K.A., Choi K.C. Potential roles of reactive oxygen species derived from chemical substances involved in cancer development in the female reproductive system. *BMB Rep.* 2018;51(11):557–562. doi: 10.5483/BMBRep.2018.51.11.056

12. Wang S., He G., Chen M., Zuo T., Xu W., Liu X. The role of antioxidant enzymes in the ovaries. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;2017:4371714. doi: 10.1155/2017/4371714

13. Das A., Roychoudhury S. Reactive oxygen species in the reproductive system: sources and physiological roles. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2022;1358:9–40. doi: 10.1007/978-3-030-89340-8_2

14. Сахаутдинова И.В., Шикова Ю.В., Лиходед В.А., Епифанова А.В., Петрова В.В., Ивакина С.Н., Шиков Н.А., Бахтиярова С.Б., Зарипов Р.А. Способ комплексного лечения неспецифических воспалительных заболеваний женской половой сферы. Пат. 2481102 РФ; опубл. 10.05.2013.

15. Мельников М.В., Лиходед В.А., Шикова Ю.В., Кадырова З.Р. Разработка состава и технологии мази, содержащей бисульфамин и диоксидин, для лечения воспалительных забо-

леваний женской половой сферы. *Мед. альм.* 2011;(2):146–148.

16. Шикова Ю.В., Лиходед В.А., Петрова В.В., Симонян Е.В., Шиков Н.А., Бахтиярова С.Б., Зарипов Р.А. Гинекологические капсулы (овули) для комплексного лечения послеабортного эндометрита. Пат. 2553353 РФ; опубли. 10.06.2015.

17. Kobayashi S.D., Malachowa N., DeLeo F.R. Neutrophils and bacterial immune evasion. *J. Innate Immun.* 2018;10(5-6):432–441. doi: 10.1159/000487756

18. Sheldon I.M., Owens S.E., Turner M.L. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. *J. Reprod. Immunol.* 2017;119:67–73. doi: 10.1016/j.jri.2016.07.002

19. Фархутдинов Р.Р., Тевдорадзе С.И. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003. В кн.: *Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ.* М.: РУДН, 2005. С. 147–154.

20. Галимова Э.Ф., Хайбуллина З.Г., Еникеев Д.А., Борцова Ю.Л., Мочалов К.С., Галимова С.Ш., Травников О.Ю., Асадуллина Т.С., Аверьянова К.С. Влияние бромфенака на свободнорадикальное окисление в модельных системах. *Казан. мед. ж.* 2019;100(4):636–641. doi: 10.17816/KMJ2019-636

21. Hussain T., Murtaza G., Metwally E., Kalhoro D.H., Kalhoro M.S., Rahu B.A., Sahito R.G.A., Yin Y., Yang H., Chughtai M.I., Tan B. The role of oxidative stress and antioxidant balance in pregnancy. *Mediators Inflamm.* 2021;2012:9962860. doi: 10.1155/2021/9962860

22. Ковалева С.В., Пиктурно С.Н., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Крутова В.А., Малиновская В.В., Нестерова И.В. Экспериментальное перепрограммирование *in vitro* трансформированного фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов женщин с хронической рецидивирующей инфекционно-воспалительной патологией генитального тракта. *Рос. иммунол. ж.* 2022;25(4):445–452. doi: 10.46235/1028-7221-1205-EIV

23. Шишкова Ю.С., Долгушина В.Ф., Графова Е.Д., Завьялова С.А., Курносенко И.В., Евстигнеева Н.П., Громакова К.Г., Колесников О.Л., Чукичев А.В., Долгушин И.И. Взаимосвязь функционального статуса нейтрофилов цервикального секрета у беременных женщин с видовым составом лактофлоры. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2018;(4):51–56. doi: 10.36233/0372-9311-2018-4-51-56

References

1. Tyutyunnik V.L., Veresova A.A., Sirotkina E.A., Kan N.E. Pelvic inflammatory disease: basic principles of therapy. *Meditsinskiy sovet = Medical Council.* 2018;(12):160–163. [In Russian]. doi: 10.21518/2079-701X-2018-12-160-163

2. Isoeva B.I. Etiology, pathogenesis and diagnostics, modern principles and methods of treatment of acute inflammatory diseases of the uterine appendages (literature review). *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and Integrative Medicine.* 2022;5(58):157–180. [In Russian].

3. Skvortsov V.V., Zatonsky I.E., Levitan B.N., Skvortsova E.M., Skvortsova A.V. Pelvic inflammatory diseases. *Meditsinskaya sestra = Nurse.* 2019;21(1):6–9. [In Russian]. doi: 10.29296/25879979-2019-01-02

4. Farkhutdinov R.R., Galimov Sh.N., Galimova E.F. Free radical oxidation in health and disease. *Praktikuyushchiy vrach segodnya = Practitioner today.* 2010;(2):54–61. [In Russian].

5. Basini G., Grasselli F., Bianco F., Tirelli M., Tamanini C. Effect of reduced oxygen tension on reactive oxygen species production and activity of antioxidant enzymes in swine granulosa cells. *Biofactors.* 2004;20(2):61–69. doi: 10.1002/biof.5520200201

6. Agarwal A., Gupta S., Sekhon L., Shah R. Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid. Redox Signal.* 2008;10(8):1375–1403. doi: 10.1089/ars.2007.1964

7. Lu J., Wang Z., Cao J., Chen Y., Dong Y. A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):80. doi: 10.1186/s12958-018-0391-5

8. Matsubara K., Higaki T., Matsubara Y., Nawa A. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16(3):4600–4614. doi: 10.3390/ijms16034600

9. Gupta S., Agarwal A., Krajcir N., Alvarez J.G. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reprod. Biomed. Online.* 2006;13(1):126–134. doi: 10.1016/s1472-6483(10)62026-3

10. Yadav A.K., Yadav P.K., Chaudhary G.R., Tiwari M., Anumegha G., Sharma A., Pandey A.N., Pandey A.K., Chaube S.K. Autophagy in hypoxic ovary. *Cell. Mol. Life Sci.* 2019;76(17):3311–3322. doi: 10.1007/s00018-019-03122-4

11. Kim S.M., Hwang K.A., Choi K.C. Potential roles of reactive oxygen species derived from chemical substances involved in cancer development in the female reproductive system. *BMB Rep.* 2018;51(11):557–562. doi: 10.5483/BMBRep.2018.51.11.056

12. Wang S., He G., Chen M., Zuo T., Xu W., Liu X. The role of antioxidant enzymes in the ovaries. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;2017:4371714. doi: 10.1155/2017/4371714

13. Das A., Roychoudhury S. Reactive oxygen species in the reproductive system: sources and physiological roles. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2022;1358:9–40. doi: 10.1007/978-3-030-89340-8_2

14. Sakhautdinova I.V., Shikova Yu.V., Likhod V.A., Epifanova A.V., Petrova V.V., Ivakina S.N., Shikov N.A., Bakhtiyarova S.B., Zarirov R.A. The

method of complex treatment of nonspecific inflammatory diseases of the female genital area. Patent 2481102 RF. Published 05.10.2013. [In Russian].

15. Melnikov M.V., Likhoded V.A., Shikova Yu.V., Kadyrova Z.R. Development of formulation and technology of cream, consisting bisulphamine and dioksidin for treatment of inflammatory diseases of female genital zone. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac*. 2011;(2):146–148. [In Russian].

16. Shikova Yu.V., Likhoded V.A., Petrova V.V., Simonyan E.V., Shikov N.A., Bakhtiyarova S.B., Zaripov R.A. Gynecological capsules (ovuli) for the complex treatment of post-abortion endometritis. Patent 2553353 RF. Published 10.06.2015. [In Russian].

17. Kobayashi S.D., Malachowa N., DeLeo F.R. Neutrophils and bacterial immune evasion. *J. Innate Immun.* 2018;10(5-6):432–441. doi: 10.1159/000487756

18. Sheldon I.M., Owens S.E., Turner M.L. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. *J. Reprod. Immunol.* 2017;119:67–73. doi: 10.1016/j.jri.2016.07.002

19. Farkhutdinov R.R., Tevdoradze S.I. Methods for studying the chemiluminescence of biological material on the chemiluminometer HL-003. In: *Methods for assessing the antioxidant activity of biologically active substances*. Moscow: RUDN University, 2005. P. 147–154. [In Russian].

20. Galimova E.F., Khaibullina Z.G., Enikeev D.A., Bortsova Yu.L., Mochalov K.S., Galimova S.Sh., Travnikov O.Yu., Asadullina T.S., Averyanova K.S. Ef-

fect of bromfenac on free radical oxidation in model systems. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*. 2019;100(4):636–641. [In Russian]. doi: 10.17816/KMJ2019-636

21. Hussain T., Murtaza G., Metwally E., Kalhoro D.H., Kalhoro M.S., Rahu B.A., Sahito R.G.A., Yin Y., Yang H., Chughtai M.I., Tan B. The role of oxidative stress and antioxidant balance in pregnancy. *Mediators Inflamm.* 2021;2012:9962860. doi: 10.1155/2021/9962860

22. Kovaleva S.V., Pikturko S.N., Chudilova G.A., Lomtadze L.V., Krutova V.A., Malinovskaya V.V., Nesterova I.V. Experimental *in vitro* reprogramming of transformed phenotype of neutrophil granulocyte subpopulations in women with chronic recurrent infectious and inflammatory conditions of genital tract. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*. 2022;25(4):445–452. [In Russian]. doi: 10.46235/1028-7221-1205-EIV

23. Shishkova Yu.S., Dolgushina V.F., Grafova E.D., Zavyalova S.A., Kurnosenko I.V., Evstigneeva N.P., Gromakova K.G., Kolesnikov O.L., Chukichev A.V., Dolgushin I.I. Cervical mucus neutrophils functional status interaction with the species composition of vaginal lactobacilli in pregnant women. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;(4):51–56. [In Russian]. doi: 10.36233/0372-9311-2018-4-51-56

Сведения об авторах:

Шикова Юлия Витальевна, д.фарм.н., ORCID: 0000-0001-7593-2839, e-mail: shikmann@mail.ru
Куфтерина Александра Дмитриевна, ORCID: 0000-0003-3852-1605, e-mail: sasha.kufterina@yandex.ru
Сахавудинова Индира Венеровна, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6192-538X, e-mail: indira2172@yandex.ru
Борцова Юлия Львовна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-5839-9793, e-mail: juliabaim@yandex.ru
Фагамов Рустем Ришатович, ORCID: 0000-0002-3149-7190, e-mail: rustem160998@mail.ru
Галимова Саида Шамильевна, ORCID: 0000-0002-7865-8326, e-mail: saida9319@mail.ru
Галимова Эльмира Фанисовна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-3351-7669, e-mail: efgalimova@mail.ru
Мочалов Константин Сергеевич, к.б.н., ORCID: 0000-0002-8010-3338, e-mail: ksmochalov@yandex.ru

Information about the authors:

Yulia V. Shikova, doctor of pharmaceutical sciences, ORCID: 0000-0001-7593-2839, e-mail: shikmann@mail.ru
Alexandra D. Kufterina, ORCID: 0000-0003-3852-1605, e-mail: sasha.kufterina@yandex.ru
Indira V. Sakhautdinova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6192-538X, e-mail: indira2172@yandex.ru
Yulia L. Bortsova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-5839-9793, e-mail: juliabaim@yandex.ru
Rustem R. Fagamov, ORCID: 0000-0002-3149-7190, e-mail: rustem160998@mail.ru
Saida Sh. Galimova, ORCID: 0000-0002-7865-8326, e-mail: saida9319@mail.ru
Elmira F. Galimova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3351-7669, e-mail: efgalimova@mail.ru
Konstantin S. Mochalov, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-8010-3338, e-mail: ksmochalov@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.05.2023

После доработки 17.07.2023

Принята к публикации 19.07.2023

Received 11.05.2023

Revision received 17.07.2023

Accepted 19.07.2023

Ассоциации полиморфных вариантов *TLR* с ревматической болезнью сердца

А.В. Синицкая, М.В. Хуторная, О.Н. Хрячкова, А.О. Поддубняк, М.Ю. Синицкий, М.А. Асанов, А.В. Понасенко

*НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний
650002, г. Кемерово, Сосновый б-р, 6*

Резюме

Цель исследования – поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов *TLR* с ревматической болезнью сердца (РБС). **Материал и методы.** Исследуемую группу составил 251 пациент с РБС (190 женщин и 61 мужчина), группа сравнения представлена 300 условно здоровыми донорами (190 женщин и 110 мужчин), возраст которых составил 57 [29; 77] и 53 [21; 80] года соответственно (медиана [нижняя квартиль; верхняя квартиль]). Методом ПЦР в режиме реального времени проведено генотипирование восьми полиморфных вариантов генов *TLR*. **Результаты.** Не установлено статистически значимых различий по частоте встречаемости генотипов восьми полиморфных вариантов генов *TLR1*, *TLR2*, *TLR4* и *TLR6* в общей выборке пациентов. Стратификация по полу и возрасту позволила выявить, что генотип С/С полиморфного варианта rs5743551 *TLR1* чаще встречался в подгруппе женщин с РБС (11,6 %), чем в контрольной группе (5,3 %), для данного генотипа определен рискованный эффект по рецессивной модели наследования (отношение шансов 2,43, 95%-й доверительный интервал 1,07–5,52, $p = 0,029$). Дополнительно комбинация полиморфных локусов rs5743708 *TLR2* – rs4689791 *TLR4* – rs5743551 *TLR1* – rs3804099 *TLR2* показала наибольшую значимость при предрасположенности к РБС. **Заключение.** Проведение исследований в дальнейшем направлении и на различных популяциях позволит выявить общие закономерности патогенеза РБС, что в итоге приведет к установлению мишеней для дальнейшего терапевтического лечения стрептококковой инфекции и профилактики РБС.

Ключевые слова: ревматическая болезнь сердца, митральный клапан, полиморфные варианты, *TLR*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний № 0419-2022-0001.

Автор для переписки: Синицкая А.В., e-mail: seroav1991@gmail.com

Для цитирования: Синицкая А.В., Хуторная М.В., Хрячкова О.Н., Поддубняк А.О., Синицкий М.Ю., Асанов М.А., Понасенко А.В. Ассоциации полиморфных вариантов *TLR* с ревматической болезнью сердца. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):177–184. doi: 10.18699/SSMJ20230622

Associations of *TLR* gene polymorphism with the risk of rheumatic heart disease

A.V. Sinitskaya, M.V. Khutornaya, O.N. Khryachkova, A.O. Poddubnyak, M.Yu. Sinitsky, M.A. Asanov, A.V. Ponosenko

*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases
650002, Kemerovo, Sosnovyy blvd., 6*

Abstract

Aim of the study was to investigate the associations between *TLR* gene polymorphism and the risk of rheumatic heart disease (RHD). **Material and methods.** 251 RHD patients (190 females and 61 males) and 300 healthy donors (190 females and 110 males), whose age was 57 [29; 77] and 53 [21; 80] years (median [lower quartile; upper quartile]), respectively, were recruited in the presented study. Eight polymorphic variants in the *TLR* gene were genotyped by real-time PCR. **Results.** We found no statistically significant differences in the frequency of eight polymorphic variants in the *TLR1*, *TLR2*, *TLR4* and *TLR6* genes in the general group of patients. Stratification by gender and age showed that the

frequency of the C/C genotype of the *TLR1* gene (rs5743551) was increased in females with RHD (11.6 %) compared to the control group (5.3 %); a risk effect was determined for recessive inheritance patterns (odds ratio 2.43, 95 % confidence interval 1.07–5.52, $p = 0.029$). Moreover, the combination of polymorphic variants *TLR2* (rs5743708) – *TLR4* (rs4689791) – *TLR1* (rs5743551) – *TLR2* (rs3804099) showed the greatest significance in RHD risk. **Conclusions.** Future research on the different populations will allow to discover the general patterns of RHD pathogenesis, which will finally lead to the establishment of therapeutic targets for treatment of streptococcal infection and RHD prevention.

Key words: rheumatic heart disease, mitral heart valve, polymorphic variants, *TLR*.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

Financing: The study was supported by the comprehensive program of fundamental scientific research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the framework of the fundamental topic of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases No. 0419-2022-0001.

Correspondence author: Sinititskaya A.V., e-mail: cepov1991@gmail.com

Citation: Sinititskaya A.V., Khutornaya M.V., Khryachkova O.N., Poddubnyak A.O., Sinititsky M.Yu., Asanov M.A., Ponosenko A.V. Associations of *TLR* gene polymorphism with the risk of rheumatic heart disease. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):177–184. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230622

Введение

Распространенность ревматической болезни сердца (РБС) является неопределенной, так как критерии ее оценки не стандартизированы, и не во всех случаях проводится патолого-анатомическое исследование, но считается, что в мире насчитывается более 33 млн пациентов с РБС, от которой ежегодно умирает около 300 000 человек. Полногеномные исследования (GWAS), проведенные в различных популяциях, выявили, что в патогенезе РБС важную роль играют генетические особенности индивидуума [1]. РБС – приобретенный порок сердца, являющийся следствием острой ревматической лихорадки, возникающей на фоне стрептококковой инфекции и поражающей клапанный аппарат сердца [2, 3]. На скорость прогрессирования заболевания клапанного аппарата сердца может влиять несколько факторов, в особенности генетическая предрасположенность и иммунный ответ хозяина [4].

Врожденная иммунная система – первоочередная «линия» защиты организма, которая посредством паттерн-распознающих рецепторов (PRR), располагающихся на поверхности клетки и в цитоплазме, обнаруживает патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), а также молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждением (DAMP) [5]. Семейство PRR состоит из нескольких представителей, однако наиболее хорошо охарактеризованы толл-подобные рецепторы (TLRs). На сегодняшний день у человека описано 13 TLRs, каждый из которых способен распознавать различные виды PAMP [6]. Установлено, что TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10 экспрессируются на плазматической мембране клеток, в то время как TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 находятся в эндоплазматическом ретикулеуме, эндосомах и лизосомах. Известно, что

для TLRs, экспрессируемых на мембране клеток, лигандами служат компоненты микробных мембран, бактериальные протеины и белки вирусов [7], что обуславливает актуальность изучения данных молекул в контексте их вовлеченности в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний бактериальной этиологии. Отмечено, что на способность TLRs распознавать различные патогены могут влиять изменения в генах, так называемые однонуклеотидные замены, которые изменяют структуру и функцию кодируемых белков, что в конечном итоге может приводить к нарушению передачи сигнала от активированного рецептора внутрь клетки [8].

На сегодняшний день работы, посвященные изучению вклада генов *TLR* в развитие РБС, единичны и достаточно противоречивы [9–11]. Исходя из вышеизложенного, целью исследования стал поиск ассоциаций *TLR* с риском развития РБС.

Материал и методы

В исследование включен 251 пациент с РБС (190 женщин и 61 мужчина) и 300 условно здоровых доноров (190 женщин и 110 мужчин), средний возраст которых составил 57 [29; 77] и 53 [21; 80] года соответственно. Работа выполнена в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации, ее проведение одобрено Локальным этическим комитетом НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (протокол № 20 от 24.11.2016). Критериями включения в исследование явились: установленный на основании анамнеза и зафиксированный в выписном эпикризе диагноз «ревматическая болезнь сердца», планируемое кардиохирургическое вмешательство по протезированию митрального клапана, подписанное

информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: инструментально подтвержденное наличие стеноза или недостаточности митрального клапана с признаками инфекционного эндокардита, отсутствие ревматического анамнеза, наличие тяжелой сопутствующей патологии, отказ от участия в исследовании. Описание обследованных представлено в табл. 1.

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенол-хлороформной экстракции из крови, собранной в вакуумные пробирки с КЗ ЭДТА из кубитальной вены. Проведено генотипирование по восьми полиморфным вариантам генов *TLR1*, *TLR2*, *TLR4* и *TLR6* методом ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени. Описание полиморфных сайтов представлено в табл. 2.

Для статистической обработки данных использовали программы SNPstats (<https://www.snpstats.net/>) и GraphPad Prism (GraphPad Software). Нормальность распределения оценивали критерием Колмогорова – Смирнова. Различия в распределении аллельных вариантов в исследуемых группах осуществляли по критерию χ^2 . Для поиска ассоциации генотипов с риском развития заболевания вычисляли отношение шансов (ОШ) и 95%-й доверительный интервал к нему (95% ДИ). Для построения графа и дендрограммы межгенных взаимодействий использовали программу MDR 3.0.2. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Распределение генотипов исследуемых полиморфных вариантов генов *TLR* соответствовало равновесию Харди – Вайнберга. Сравнительный анализ частоты встречаемости генотипов аллельных вариантов у пациентов с РБС и популяционной выборкой не выявил статистически значимых различий. Однако при стратификации всей изучаемой выборки по полу и возрасту выявлено не-

Таблица 1. Клиническое описание состояния пациентов с РБС

Table 1. Clinical characteristic of patients with rheumatic heart disease

Характеристика	Количество пациентов, n (%)
Стеноз митрального клапана	162 (64,55)
Недостаточность митрального клапана	89 (35,45)
Легочная гипертензия	204 (79,06)
Хроническая сердечная недостаточность	250 (96,8)
Фибрилляция предсердий	192 (74,41)
Гипертоническая болезнь	143 (55,42)
Острое нарушение мозгового кровообращения	19 (7,36)
Сахарный диабет 2 типа	19 (7,36)
Ожирение	42 (16,27)
Уменьшение фракции выброса левого желудочка	60,62 (28;85)

сколько ассоциаций. Так, установлено, что генотип С/С полиморфного варианта rs5743551 *TLR1* чаще встречался у женщин с РБС (11,6 %), чем в контрольной группе (5,3 %) ($\chi^2 = 2,27$). Кроме того, для данного генотипа определен рисковый эффект по рецессивной модели наследования (ОШ = 2,43, 95 % ДИ 1,07–5,52, $p = 0,029$). Также следует отметить, что у женщин старше 60 лет с риском развития РБС ассоциирован аллельный вариант rs5743611 *TLR1* по доминантной модели наследования (табл. 3). У мужчин статистически значимых различий не получено.

При изучении заболеваний, имеющих мультифакториальную природу, важной задачей является оценка межгенных взаимодействий, ассоциированных с развитием исследуемого фенотипа. При помощи программы MDR 3.0.2 построены

Таблица 2. Описание полиморфных вариантов генов *TLR*

Table 2. Characteristic of polymorphic variants of the *TLR* genes

Ген	Название кодируемого белка	Полиморфный вариант	Частота минорного аллеля в европейской популяции (MAF)
<i>TLR1</i>	Toll-like receptor 1	rs5743551	T = 0,425719
		rs5743611	G = 0,022564
<i>TLR2</i>	Toll-like receptor 2	rs3804099	C = 0,414736
		rs5743708	A = 0,006789
<i>TLR4</i>	Toll-like receptor 4	rs4986790	G = 0,059904
		rs4986791	T = 0,040735
<i>TLR6</i>	Toll-like receptor 6	rs3775073	C = 0,457468
		rs5743810	A = 0,115216

Таблица 3. Частота встречаемости генотипов у женщин исследуемых групп

Table 3. Frequency of genotypes in females from the studied groups

Ген, ID сайта	Группа по возрасту	Генотип	Контроль (n = 190)	РБС (n = 172)	ОШ (95 % ДИ)	p
1	2	3	4	5	6	7
TLR1 rs5743551	До 60 лет	T/T	78 (55,3 %)	42 (53,9 %)	1,00	0,66
		T/C	55 (39 %)	29 (37,2 %)	0,98 (0,55–1,76)	
		C/C	8 (5,7 %)	7 (9 %)	1,62 (0,55–4,79)	
	Старше 60 лет	T/T	27 (55,1 %)	57 (60,6)	1,00	0,052
		T/C	20 (40,8 %)	24 (25,5)	0,57 (0,27–1,20)	
		C/C	2 (4,1 %)	13 (13,8)	3,08 (0,65–14,62)	
TLR1 rs5743611	До 60 лет	C/C	85 (60,3 %)	47 (60,3)	1,00	1
		C/G - G/G	56 (39,7 %)	31 (39,7)	1,00 (0,57–1,76)	
	Старше 60 лет	C/C	37 (75,5 %)	53 (55,2)	1,00	0,015
		C/G - G/G	12 (24,5 %)	43 (44,8)	2,50 (1,16–5,38)	
TLR2 rs5743708	До 60 лет	G/G	132 (93,6 %)	73 (89 %)	1,00	0,23
		G/A	9 (6,4 %)	9 (11 %)	1,81 (0,69–4,76)	
	Старше 60 лет	G/G	44 (89,8 %)	89 (89 %)	1,00	0,88
		G/A	5 (10,2 %)	11 (11 %)	1,09 (0,36–3,32)	
TLR2 rs3804099	До 60 лет	T/T	55 (39 %)	29 (35,4 %)	1,00	0,35
		T/C	65 (46,1 %)	45 (54,9 %)	1,31 (0,73–2,37)	
		C/C	21 (14,9 %)	8 (9,8 %)	0,72 (0,28–1,83)	
	Старше 60 лет	T/T	17 (34,7 %)	46 (46 %)	1,00	0,38
		T/C	23 (46,9 %)	41 (41 %)	0,66 (0,31–1,40)	
		C/C	9 (18,4 %)	13 (13 %)	0,53 (0,19–1,47)	
TLR4 rs4689790	До 60 лет	A/A	117 (83 %)	72 (87,8 %)	1,00	0,51
		A/G	23 (16,3 %)	9 (11 %)	0,64 (0,28–1,45)	
		G/G	1 (0,7 %)	1 (1,2 %)	1,62 (0,10–26,39)	
	Старше 60 лет	A/A	42 (85,7 %)	87 (87 %)	1,00	0,83
		A/G	7 (14,3 %)	13 (13 %)	0,90 (0,33–2,41)	
		G/G	0	0	–	
TLR4 rs4689791	До 60 лет	C/C	117 (83 %)	72 (90 %)	1,00	0,26
		C/T	23 (16,3 %)	8 (10 %)	0,57 (0,24–1,33)	
		T/T	1 (0,7 %)	0 (0 %)	0,00 (0,00–NA)	
	Старше 60 лет	C/C	42 (85,7 %)	86 (86,9 %)	1,00	0,63
		C/T	7 (14,3 %)	12 (12,1 %)	0,84 (0,31–2,28)	
		T/T	0 (0 %)	1 (1 %)	NA (0,00–NA)	
TLR6 rs3775073	До 60 лет	T/T	41 (29,1 %)	23 (28,1 %)	1,00	0,27
		T/C	72 (51,1 %)	49 (59,8 %)	1,21 (0,65–2,27)	
		C/C	28 (19,9 %)	10 (12,2 %)	0,64 (0,26–1,54)	
	Старше 60 лет	T/T	17 (34,7 %)	24 (24 %)	1,00	0,31
		T/C	21 (42,9 %)	55 (55 %)	1,86 (0,83–4,13)	
		C/C	11 (22,4 %)	21 (21 %)	1,35 (0,52–3,53)	

Окончание табл. 3.

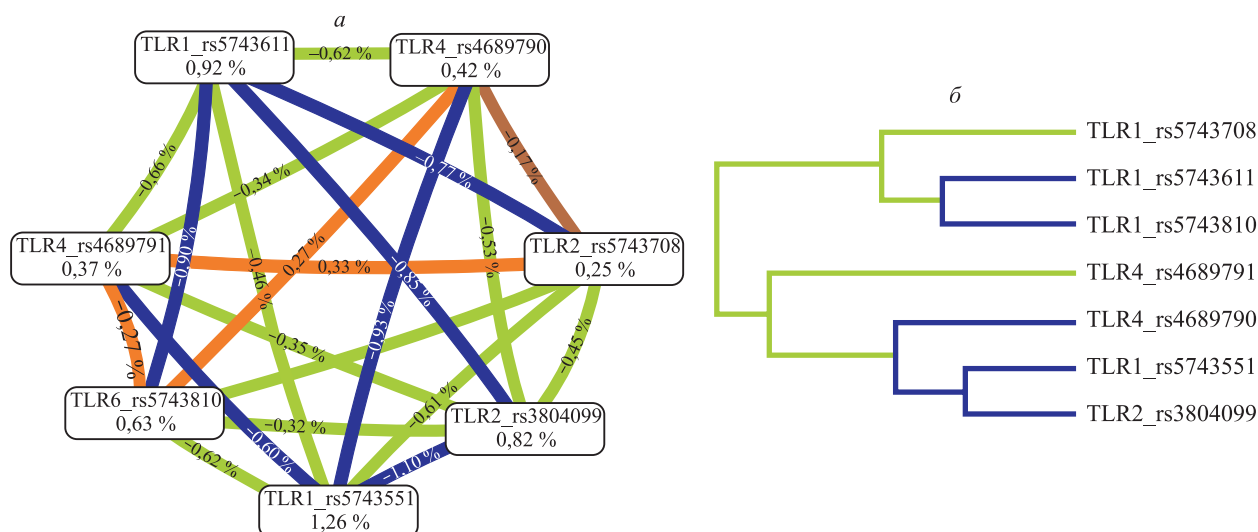
1	2	3	4	5	6	7
TLR6 rs5743810	До 60 лет	G/G	70 (49,6 %)	33 (40,2 %)	1,00	0,25
		A/G	56 (39,7 %)	42 (51,2 %)	1,59 (0,89–2,83)	
		A/A	15 (10,6 %)	7 (8,5 %)	0,99 (0,37–2,66)	
	Старше 60 лет	G/G	21 (42,9 %)	54 (54 %)	1,00	0,4
		A/G	22 (44,9 %)	38 (38 %)	0,67 (0,32–1,39)	
		A/A	6 (12,2 %)	8 (8 %)	0,52 (0,16–1,67)	

дендрограмма и граф, показывающие силу и характер взаимодействия между изучаемыми аллельными вариантами и изучаемым фенотипом (рисунок).

Представленные на рисунке данные демонстрируют, что наибольшим предсказательным потенциалом в отношении развития РБС обладают полиморфные варианты гена *TLR1* rs5743551, на долю которого приходится 1,24 % энтропии, и rs5743611 – 0,92 %. Кроме того, следует отметить, что наибольшим эффектом межгенного взаимодействия обладают локусы генов *TLR2* и *TLR4*, на долю комбинации которых приходится 0,33 % фенотипической энтропии, что отображает синергический эффект взаимодействия данных аллельных вариантов, в то же время аллельные варианты rs5743551 *TLR1* и rs3804099 *TLR2* показывают наиболее выраженный антагонистический эффект (–1,10 %).

Обсуждение

Совершенствование подходов к диагностике и лечению клапанных пороков сердца в последнее десятилетие достигло значимых результатов, однако патофизиологические механизмы развития данных заболеваний продолжают активно изучаться. Важным аспектом при современном ведении пациентов является учет их индивидуальных генетических особенностей. Так как РБС преимущественно развивается в результате осложнения острой ревматической лихорадки, возникающей на фоне стрептококковой инфекции, изучение роли компонентов врожденного иммунного ответа в предрасположенности к формированию данной патологии представляет собой интересное направление современной науки. Важную функцию в реализации врожденного иммунного ответа выполняют TLRs [12]. Стоит отметить, что в



Дендрограмма и граф, показывающие силу и характер взаимодействия между изучаемыми аллельными вариантами и изучаемым фенотипом. Характер взаимодействия между генами TLR при формировании ревматической болезни сердца характеризуется цветом линии: синий и коричневый – аддитивное взаимодействие, зеленый – умеренный антагонизм, оранжевый – умеренный синергизм. Сила и направленность взаимодействия выражены в % энтропии.

A dendrogram and graph showing the force and interaction between the allele variants studied and the phenotype studied. The type of gene-gene interaction between the TLR genes in the formation of rheumatic heart disease is characterized by the line color: blue and brown – additive interaction, green – moderate antagonism, orange – moderate synergism. The strength and direction of the interaction are expressed in % of entropy.

последнее десятилетие значительно увеличилось количество работ, посвященных изучению вклада TLRs в развитие заболеваний клапанов сердца ввиду их способности распознавать широкий спектр лигандов, каждый из которых воспринимает определенный набор молекулярных паттернов [13]. Так, например, связь между TLRs и кальцификацией аортального клапана подтверждена большим количеством исследований *in vitro* и *in vivo* [14, 15]. Кроме того, в ряде работ показана ассоциация некоторых полиморфных вариантов с развитием инфекционного эндокардита [16, 17], а также установлена роль данных молекул в развитии не только клапанных заболеваний, но и атеросклероза в целом [18].

Мы проанализировали восемь аллельных вариантов генов *TLR1* (rs5743551, rs5743611), *TLR2* (rs3804099, rs5743708), *TLR4* (rs4986790, rs4986791) и *TLR6* (rs3775073, rs5743810), однако ассоциативные связи получили только для одного полиморфного варианта, rs5743551 *TLR1*, и только у женщин. Наряду с этим следует отметить, что возраст женщин может являться одним из факторов риска: так, у женщин старше 60 лет с риском развития РБС ассоциирован аллельный вариант rs5743611 *TLR1* по доминантной модели наследования. Данный феномен обосновывается несколькими исследованиями, которые показали, что иммунная активация отличается у мужчин и у женщин, притом что у последних как врожденные, так и приобретенные иммунные реакции более выражены [19, 20]. Кроме того, в исследовании L. Namann et al. показана статистически значимая разница в частоте встречаемости генотипов полиморфных вариантов *TLR1*, *TLR6* и *TLR10* [21]. Также выявлено, что женщины старше 55 лет с гипертонической болезнью и наличием полиморфного варианта *TLR4* Asp299Gly имеют меньшую массу левого желудочка [22]. Все вышеописанное позволяет предположить необходимость учета пола и возраста при изучении генетической предрасположенности к развитию заболеваний. Также продемонстрировано, что генетическая изменчивость *TLR1* способна влиять на восприимчивость хозяина к инфекционным заболеваниям [23].

Большинство исследований, посвященных изучению патогенеза РБС, основано на ген-кандидатном подходе и в основном сконцентрировано на изучении генов, кодирующих белки, которые задействованы в реализации воспалительного ответа [24]. Работы по изучению *TLR* и их вклада в развитие РБС единичны и посвящены в большей степени полиморфным вариантам гена *TLR2*. Мы не выявили статистически значимых различий по частоте встречаемости генотипов

TLR2 у пациентов с РБС, однако при анализе межгенных взаимодействий комбинации полиморфных локусов rs5743708 *TLR2* – rs4689791 *TLR4* и rs5743551 *TLR1* – rs3804099 *TLR2* показали наибольшую значимость, что может быть обусловлено способностью *TLR2* как ключевого регулятора врожденного иммунного ответа распознавать молекулярные структуры грамположительных бактерий [25]. Однако несколько ассоциативных исследований показали противоречивые результаты по вкладу аллельных вариантов гена *TLR2* в предрасположенность к развитию РБС [9, 10], в связи с чем проведение экспериментов в дальнейшем направлении и на различных популяциях позволит выявить общие закономерности патогенеза данного заболевания, что, в конечном итоге, приведет к установлению мишеней для дальнейшего терапевтического лечения стрептококковой инфекции и профилактики РБС.

Заключение

В настоящем исследовании выявлены ассоциации полиморфного варианта rs5743551 гена *TLR1* с РБС. Предрасполагающим к развитию РБС является гомозиготный генотип C/C. Кроме того, показано, что наибольшей значимостью в предрасположенности к РБС обладает комбинация полиморфных локусов rs5743708 *TLR2* – rs4689791 *TLR4* – rs5743551 *TLR1* – rs3804099 *TLR2*.

Список литературы / References

1. Machipisa T., Chong M., Muhamed B., Chishala C., Shaboodien G., Pandie S., de Vries J., Laing N., Joachim A., Daniels R., ... Paré G. Association of novel locus with rheumatic heart disease in black african individuals: findings from the RHD gen study. *JAMA Cardiology*. 2021;6(9):1000–1011. doi: 10.1001/jamacardio.2021.1627
2. Watkins D.A., Johnson C.O., Colquhoun S.M., Karthikeyan G., Beaton A., Bukhman G., Forouzanfar M.H., Longenecker C.T., Mayosi B.M., Mensah G.A., ... Roth G. A global, regional, and national burden of rheumatic heart disease, 1990–2015. *N. Engl. J. Med*. 2017;377(8):713–722. doi: 10.1056/NEJMoa1603693
3. Butt H.I., Shahbaz A., Nawaz H., Butt K. Comparative clinical characteristics of rheumatic heart disease patients undergoing surgical valve replacement. *Cureus*. 2019;11(6):e4889. doi: 10.7759/cureus.4889
4. Soares A.C.D., Passos L.S.A., Sable C., Beaton A., Ribeiro V.T., Gollob K.J., Dutra W.O., Nunes M.C.P. Circulating cytokines predict severity of rheumatic heart disease. *Int. J. Cardiol*. 2019;289:107–109. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.04.063
5. Sharma S., Garg I., Ashraf M.Z. TLR signalling and association of TLR polymorphism with cardiovas-

- cular diseases. *Vascul. Pharmacol.* 2016;87:30–37. doi: 10.1016/j.vph.2016.10.008
6. Li B., Xia Y., Hu B. Infection and atherosclerosis: TLR-dependent pathways. *Cell. Mol. Life Sci.* 2020;77(14):2751–2769. doi: 10.1007/s00018-020-03453-7
7. Ashour D.S. Toll-like receptor signaling in parasitic infections. *Expert. Rev. Clin. Immunol.* 2015;11(6):771–780. doi: 10.1586/1744666X.2015.1037286
8. Синицкий М.Ю., Понасенко А.В. Роль полиморфизма и особенностей экспрессии генов рецепторов врожденного иммунного ответа в патогенезе инфекционного эндокардита. *Рос. кардиол. ж.* 2018;(10):145–150. doi: 10.15829/1560-4071-2018-10-145-150
9. Sinitsky M.Yu., Ponasenko A.V. The role of polymorphism and expression features of innate immune response receptors genes in the pathogenesis of infectious endocarditis. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Cardiology.* 2018;(10):145–150. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2018-10-145-150
10. Li Y., Zhang S., Xu W., Guo X., Xu Q., Chen Y. A normal polymorphism site of TLR2 3' untranslated region is related to rheumatic heart disease by up-regulating TLR2 expression. *Ann. Clin. Biochem.* 2015;52(Pt 4):470–475. doi: 10.1177/0004563214564581
11. Coşan F., Oku B., Cakiris A., Duymaz-Tozkir J., Mercanoğlu F., Saruhan-Direskeneli G., Ustek D., Gül A. No association of the TLR2 gene Arg753Gln polymorphism with rheumatic heart disease and Behçet's disease. *Clin. Rheumatol.* 2009;28(12):1385–1388. doi: 10.1007/s10067-009-1252-6
12. Düzgün N., Duman T., Haydardedeoğlu F.E., Tutkak H. The lack of genetic association of the Toll-like receptor 2 (TLR2) Arg753Gln and Arg677Trp polymorphisms with rheumatic heart disease. *Clin. Rheumatol.* 2007;26(6):915–919. doi: 10.1007/s10067-006-0432-x
13. Mukherjee S., Huda S., Sinha Babu S.P. Toll-like receptor polymorphism in host immune response to infectious diseases: A review. *Scand. J. Immunol.* 2019;90(1):e12771. doi: 10.1111/sji.12771
14. Garcia-Rodriguez C., Parra-Izquierdo I., Castanos-Mollor I., Lopez J., San Román J.A., Sanchez Crespo M. Toll-like receptors, inflammation, and calcific aortic valve disease. *Front. Physiol.* 2018;9:201. doi: 10.3389/fphys.2018.00201
15. Deng X.S., Meng X., Zeng Q., Fullerton D., Mitchell M., Jagers J. Adult aortic valve interstitial cells have greater responses to toll-like receptor 4 stimulation. *Ann. Thorac. Surg.* 2015;99(1):62–71. doi: 10.1016/j.athoracsurg.2014.07.027
16. Shen W., Zhou J., Wang C., Xu G., Wu Y., Hu Z. High mobility group box 1 induces calcification of aortic valve interstitial cells via toll-like receptor 4. *Mol. Med. Rep.* 2017;15(5):2530–2536. doi: 10.3892/mmr.2017.6287
17. Golovkin A.S., Ponasenko A.V., Yuzhalin A.E., Salakhov R.R., Khutornaya M.V., Kutikhin A.G., Rutkovskaya N.V., Savostyanova Y.Y., Barbarash L.S. An association between single nucleotide polymorphisms within TLR and TREM-1 genes and infective endocarditis. *Cytokine.* 2015;71(1):16–21. doi: 10.1016/j.cyto.2014.08.001
18. Bustamante J., Tamayo E., Flórez S., Telleria J.J., Bustamante E., López J., San Román J.A., Alvarez F.J. Toll-like receptor 2 R753Q polymorphisms are associated with an increased risk of infective endocarditis. *Rev. Esp. Cardiol.* 2011;64(11):1056–1059. doi: 10.1016/j.recesp.2011.02.024
19. Yin Q.Y., Zhao B., Qiu Y.Y., Fei Y.X., Hu Y.H., Li Y.M. Research progress of mechanisms and drug therapy for atherosclerosis on toll-like receptor pathway. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2019;74(5):379–388. doi: 10.1097/FJC.0000000000000738
20. Klein S.L., Flanagan K.L. Sex differences in immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2016;16:626–638. doi: 10.1038/nri.2016.90
21. Echem C., Akamine E.H. Toll-like receptors represent an important link for sex differences in cardiovascular aging and diseases. *Front. Aging.* 2021;2:709914. doi: 10.3389/fragi.2021.709914
22. Hamann L., Kupcinkas J., Berrocal Almanza L.C., Skieceviciene J., Franke A., Nöthlings U., Schumann R.R. Less functional variants of TLR-1/-6/-10 genes are associated with age. *Immun. Ageing.* 2015;12:7. doi: 10.1186/s12979-015-0034-z
23. Sales M.L., Schreiber R., Ferreira-Sae M.C., Fernandes M.N., Piveta C., Cipolli J.A., Calixto A., Matos-Souza J.R., Geloneze B., Franchini K.G., Nadruz W.Jr. The functional toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphism is associated with lower left ventricular mass in hypertensive women. *Clin. Chim. Acta.* 2010;411(9-10):744–748. doi: 10.1016/j.cca.2010.02.006
24. Hahn W.O., Harju-Baker S., Erdman L.K., Krudsood S., Kain K.C., Wurfel M.M., Liles W.C. A common TLR1 polymorphism is associated with higher parasitaemia in a Southeast Asian population with Plasmodium falciparum malaria. *Malar. J.* 2016;15:12. doi: 10.1186/s12936-015-1071-y
25. Muhamed B., Shaboodien G., Engel M.E. Genetic variants in rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2020;184(1):159–177. doi: 10.1002/ajmg.c.31773
26. Mukherjee S., Huda S., Sinha Babu S.P. Toll-like receptor polymorphism in host immune response to infectious diseases: A review. *Scand. J. Immunol.* 2019;90(1):e12771. doi: 10.1111/sji.12771

Информация об авторах:

Синицкая Анна Викторовна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-4467-8732, e-mail: cepoav1991@gmail.com
Хуторная Мария Владимировна, ORCID: 0000-0002-9714-4080, e-mail: masha_hut@mail.ru
Хрячкова Оксана Николаевна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-6620-5960, e-mail: oksana_hryachkova@mail.ru
Поддубняк Алена Олеговна, ORCID: 0000-0001-7388-356X, e-mail: alyona.poddubnyak@gmail.com
Синицкий Максим Юрьевич, к.б.н., ORCID: 0000-0002-4824-2418, e-mail: max-sinitsky@rambler.ru
Асанов Максим Айдарович, ORCID: 0000-0002-0747-2495, e-mail: asmaks988@gmail.com
Понасенко Анастасия Валериевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-3002-2863, e-mail: ponaav@kemcardio.ru

Information about authors:

Anna V. Sinitskaya, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-4467-8732, e-mail: cepoav1991@gmail.com
Mariya V. Khutornaya, ORCID: 0000-0002-9714-4080, e-mail: masha_hut@mail.ru
Oksana N. Hryachkova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-6620-5960,
e-mail: oksana_hryachkova@mail.ru
Alena O. Poddubnyak, ORCID: 0000-0001-7388-356X, e-mail: alyona.poddubnyak@gmail.com
Maxim Yu. Sinitsky, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-4824-2418, e-mail: max-sinitsky@rambler.ru
Maxim A. Asanov, ORCID: 0000-0002-0747-2495, e-mail: asmaks988@gmail.com
Anastasia V. Ponasenko, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3002-2863, e-mail: ponaav@kemcardio.ru

Поступила в редакцию 23.05.2023

После доработки 14.07.2023

Принята к публикации 08.08.2023

Received 23.05.2023

Revision received 14.07.2023

Accepted 08.08.2023

Клинико-лабораторные аспекты инфекционного мононуклеоза в различных возрастных группах

Л.Н. Афтаева, В.Л. Мельников, В.С. Романова, Е.А. Борисова

Пензенский государственный университет
440026, г. Пенза, ул. Красная, 40

Резюме

Инфекционный мононуклеоз представляет собой острое антропонозное заболевание, которое развивается в результате инфицирования человека вирусами семейства *Herpesviridae* (вирус Эпштейна – Барр (ВЭБ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирусы герпеса 6-го (ВГЧ-6) и 7-го типов). Целью работы было изучение клинических особенностей и лабораторных показателей течения инфекционного мононуклеоза у пациентов трех возрастных групп. **Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ 156 медицинских карт пациентов, которые находились на амбулаторном лечении у инфекциониста в ООО Центр клинической медицины «МедМикс». Больные были разделены на три категории по возрастному критерию: первую группу от 0 до 5 лет составили 58 (37,2 %) детей, вторую группу представили лица от 5 до 18 лет – 58 (37,2 %) пациентов, третью группу сформировали больные от 18 до 53 лет – 40 (25,6 %) человек. **Результаты и их обсуждение.** Среди детей в возрасте от 0 до 5 лет чаще болели мальчики (67,2 %), а в группе от 18 до 53 лет – лица женского пола (70 %). У обследованных в возрасте до 5 лет чаще всего выявлялись такие клинические симптомы, как генерализованная лимфаденопатия (82,7 %), поражение носоглотки (79,3 %) и изменения в общем анализе крови (86,2 %), а в возрасте от 5 до 18 лет – лихорадка (81 %) и поражение ротоглотки (74,1 %). Поражение печени с развитием острого индуцированного вирусного гепатита регистрировалось во всех возрастных группах (24,1, 27,6 и 30 %). Наиболее часто диагностировалась ВЭБ-инфекция среди детей от 5 до 18 лет и лиц от 18 до 53 лет (в 62,1 и 70 % случаев соответственно, $p < 0,05$). Достоверно чаще у детей до 5 лет доминировала микст-инфекция в сочетании ВЭБ + ЦМВ + ВГЧ-6 (34,5 %; $p < 0,05$). **Заключение.** В детском возрасте клинические проявления инфекционного мононуклеоза носили более выраженный характер. Такое яркое течение заболевания обуславливало частое обращение к врачу-инфекционисту и проведение диагностики с установлением этиологического агента. Установлено доминирование ВЭБ-инфекции в развитии инфекционного мононуклеоза во всех группах. Однако в возрасте от 0 до 5 лет наиболее часто встречалась микст-инфекция в следующих сочетаниях: ВЭБ + ЦМВ, ВЭБ + ВГЧ-6, ВЭБ + ЦМВ + ВГЧ-6 и ЦМВ + ВГЧ-6.

Ключевые слова: инфекционный мононуклеоз, вирус герпеса, вирус Эпштейна – Барр, цитомегаловирус, вирус герпеса 6-го типа, гепатомегалия, спленомегалия, лимфатические узлы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Романова В.С., e-mail: valeria.romanova.000@mail.ru

Для цитирования: Афтаева Л.Н., Мельников В.Л., Романова В.С., Борисова Е.А. Клинико-лабораторные аспекты инфекционного мононуклеоза в различных возрастных группах. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):185–190. doi: 10.18699/SSMJ20230623

Clinical and laboratory aspects of infectious mononucleosis in different age groups

L.N. Aftaeva, V.L. Mel'nikov, V.S. Romanova, E.A. Borisova

Penza State University
440026, Penza, Krasnaya st., 40

Abstract

Infectious mononucleosis is an acute anthroponotic disease that develops as a result of human infection with viruses of the *Herpesviridae* family: Epstein – Barr virus (EBV), cytomegalovirus (CMV), herpes viruses of the 6th (HHV-6) and 7th types. The aim of our work was to study the clinical features and laboratory parameters of the course of infectious

mononucleosis in patients of three age groups. **Material and methods.** A retrospective analysis of 156 medical records of patients who were on outpatient treatment by an infectious disease specialist at Clinical Medicine Center MedMix was carried out. Patients were divided into three categories according to the age criterion: the first group from 0 to 5 years consisted of 58 (37.2 %) children, the second group was represented by persons from 5 to 18 years old – 58 (37.2 %), the third group was formed by patients from 18 to 53 years old – 40 (25.6 %) people. **Results and its discussion.** Among children aged 0 to 5 years, boys (67.2 %) more frequently fell sick, and in the group from 18 to 53 years, females (70 %) were more likely to have the disease. Clinical symptoms such as generalized lymphadenopathy (82.7 %), nasopharyngeal lesions (79.3 %) and changes in the general blood test (86.2 %) were most frequently detected in children aged up to 5 years, while fever (81 %) and oropharyngeal lesions (74.1 %) were most frequently detected in patients aged from 5 to 18 years. Liver damage with the development of acute induced viral hepatitis was recorded in all age groups (24.1, 27.6 and 30 %). EBV infection was most frequently diagnosed among children aged from 5 to 18 years and persons aged from 18 to 53 years (in 62.1 and 70 % of cases, respectively, $p < 0.05$). Mixed infection with the combination of VEB + CMV + HHV-6 was significantly more frequent in children under 5 years of age (34.5 %; $p < 0.05$). **Conclusions.** In childhood, the clinical manifestations of infectious mononucleosis were more pronounced. Such intense course of the disease caused frequent visits to an infectious disease specialist and diagnostics with the establishment of an etiological agent. The dominance of EBV infection in the development of infectious mononucleosis in all groups was established. However, at the age up to 5 years, the most common mixed infections were the following combinations: EBV + CMV, EBV + HHV-6, EBV + CMV + HHV-6 and CMV + HHV-6.

Key words: infectious mononucleosis, herpes virus, Epstein – Barr virus, cytomegalovirus, herpes virus type 6, hepatomegaly, splenomegaly, lymph nodes.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Romanova V.S., e-mail: valeria.romanova.000@mail.ru

Citation: Aftaeva L.N., Mel'nikov V.L., Romanova V.S., Borisova E.A. Clinical and laboratory aspects of infectious mononucleosis in different age groups. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):185–190. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230623

Введение

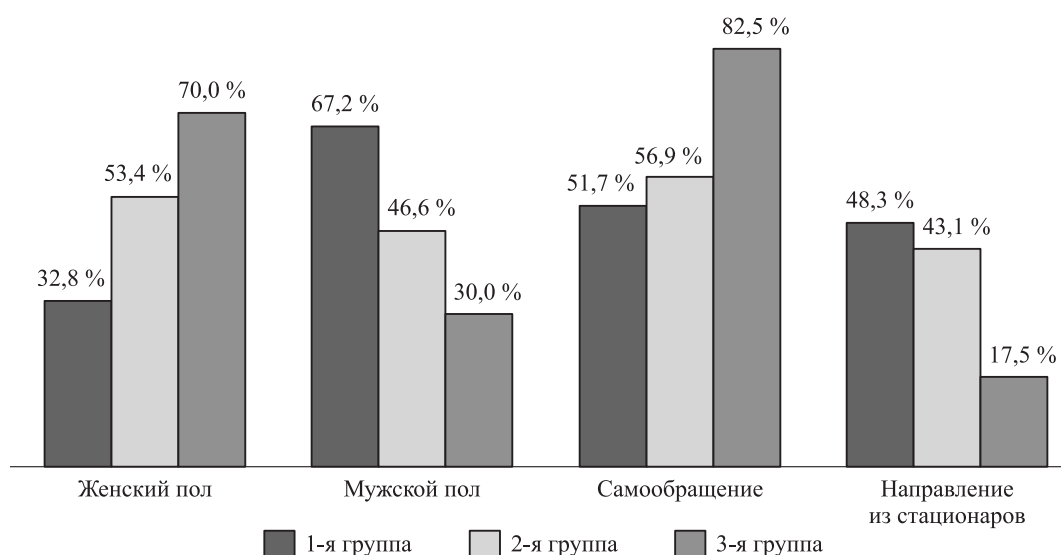
Заболевания, вызванные вирусами герпеса, широко распространены среди взрослого и детского населения. По данным ВОЗ, ими инфицировано свыше 90 % населения планеты, но лишь у 50 % отмечается рецидивирующее, манифестное течение заболевания [1]. В мире ежегодно герпес-вирусными инфекциями болеет от 16 до 800 человек на 100 тыс. населения [2]. Среди всех инфекционных заболеваний до 80 % случаев приходится на долю инфекционного мононуклеоза – острого антропонозного заболевания, которое развивается в результате инфицирования человека вирусами семейства Herpesviridae: вирусом Эпштейна – Барр (ВЭБ), цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусами герпеса 6-го (ВГЧ-6) и 7-го (ВГЧ-7) типов [3]. В основе патогенетических изменений при инфекционном мононуклеозе лежит лимфопролиферативный процесс, следствием которого является увеличение иммунокомпетентных органов и субпопуляций лимфоцитов, что позволяет рассматривать его как заболевание иммунной системы [4–6]. Диагностика инфекционного мононуклеоза осуществляется с использованием ИФА, который позволяет обнаружить специфические антитела к основным этиологическим агентам, и ПЦР, с помощью которой определяют содержание ДНК герпес-вирусов в сыворотке крови и слюне [7].

Целью нашей работы было изучение клинических особенностей и лабораторных показателей течения инфекционного мононуклеоза у пациентов трех возрастных групп.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ 156 медицинских карт пациентов, которые находились на амбулаторном лечении у инфекциониста в ООО Центр клинической медицины «МедМикс». Больные были разделены на три категории по возрастному критерию: первую группу от 0 до 5 лет составили 58 (37,2 %) детей, вторую – 58 (37,2 %) пациентов от 5 до 18 лет, третью – 40 (25,6 %) больных от 18 до 53 лет. Среди заболевших первой группы преобладали мальчики, в третьей – девочки, во всех трех группах большинство обращалось к врачу-инфекционисту самостоятельно (рисунок). Исследование медицинских карт пациентов включало анализ жалоб и анамнеза заболевания, а также данных физикального осмотра. В соответствии с клиническими рекомендациями были назначены лабораторные и инструментальные методы диагностики [8]. У всех больных взято добровольное информированное согласие на обработку персональных данных.

Непрерывные переменные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения ($M \pm SD$), номинальные данные – в виде относительных частот объектов



Общая характеристика больных инфекционным мононуклеозом в анализируемых возрастных группах
General characteristics of patients with infectious mononucleosis in the analyzed age groups

исследования (n , %). Для оценки различий номинальных данных использовали точный критерий Фишера. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Синдром инфекционного мононуклеоза у обратившихся протекал с лихорадкой. В первой группе гипертермия установлена у 36 (62,1 %)

Таблица 1. Характеристика пораженных лимфатических узлов в анализируемых возрастных группах

Table 1. Characteristics of the affected lymph nodes in the analyzed age groups

Лимфаденопатия	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Локализация			
Передне- и заднешейные лимфоузлы	29 (50,0 %)	23 (39,6 %)	10 (25,0 %)
Подчелюстные лимфоузлы	14 (24,1 %)	13 (22,4 %)	3 (7,5 %)
Другие группы лимфоузлы	5 (8,6 %)	3 (5,2 %)	8 (20,0 %)
Степень увеличения			
Первая (до 1,5 см)	17 (29,3 %)	7 (12,1 %)	5 (12,5 %)
Вторая (до 2,5 см)	23 (39,6 %)	9 (15,5 %)	9 (22,5 %)
Третья (более 2,5 см)	8 (13,8 %)	23 (39,6 %)	7 (17,5 %)
Всего	48 (82,7 %)	39 (67,2 %)	21 (52,5 %)

детей (температура тела $38,5 \pm 1,5$ °C), во второй – у 47 (81 %) ($38,4 \pm 1,3$ °C), в третьей – у 24 (60 %) ($37,9 \pm 0,6$ °C). Одним из ведущих клинических симптомов заболевания являлась генерализованная лимфаденопатия. При исследовании учитывались локализация и степень увеличения пораженных лимфатических узлов (табл. 1). Поражение ротоглотки в первой, второй и третьей группах выявлено соответственно у 39 (67,2 %), 43 (74,1 %) и 11 (27,5 %) заболевших, тонзиллит – у 21 (36,2 %), 27 (46,5 %) и 7 (17,5 %), фарингит – у 18 (31 %), 16 (27,6 %) и 4 (10 %), заложенность носа – у 22 (37,9 %), 28 (48,3 %) и 10 (25 %), храп во сне – у 24 (41,4 %), 10 (17 %) и 5 (12,5 %).

В инфекционный процесс при мононуклеозе у заболевших вовлекались печень и селезенка с развитием гепато- и/или спленомегалии. Данные физического осмотра ($n = 58$) и УЗИ ($n = 24$) органов брюшной полости представлены в табл. 2. Клинический (общий) анализ крови выполнен у всех пациентов, оценены следующие гематологические симптомы: лейкоцитоз, лимфоцитоз, моноцитоз, наличие атипичных мононуклеаров и тромбоцитопения (табл. 3).

Еще одним проявлением инфекционного мононуклеоза являлось развитие вирус-индуцированного гепатита. В первой группе острый вирусный гепатит в безжелтушной форме с цитолитическим синдромом установлен у 12 (20,7 %) пациентов, во второй – у 16 (27,6 %), в третьей – у 10 (25 %). Желтушная форма вирусного гепатита диагностирована только в первой и третьей группах, по 2 (соответственно 3,4 и 5 %) человека, уровень общего билирубина у них варьировал от 49,4 до 56,3 мкмоль/л и от 48,2 до 112,6 мкмоль/л соответственно. В первой группе повышение ак-

Таблица 2. Изменения размеров печени и селезенки в анализируемых возрастных группах**Table 2.** Changes in the size of the liver and spleen in the analyzed age groups

Показатель	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	Физикальный осмотр	УЗИ	Физикальный осмотр	УЗИ	Физикальный осмотр	УЗИ
Гепатомегалия, <i>n</i> (%)	8 (13,8 %)	5 (20,8 %)	1 (1,7 %)	0	3 (7,5 %)	0
Спленомегалия, <i>n</i> (%)	0	1 (4,2 %)	2 (3,4 %)	4 (22,2 %)	0	5 (50,0 %)
Гепатоспленомегалия, <i>n</i> (%)	2 (3,4 %)	11 (45,8 %)	2 (3,4 %)	5 (27,8 %)	0	2 (20,0 %)
Изменение размеров печени, см	+2,3 ± 0,6		+3,1 ± 0,6		+2,3 ± 0,6	
Изменение размеров селезенки, см	+2,5 ± 0,3		+2,2 ± 0,3			

тивности АЛАТ и АсАТ до 5 норм (активность АЛАТ $66,7 \pm 20,9$ Ед/л) зарегистрировано у 12 (20,7 %) больных, а более 10 норм (активность АЛАТ $1427,8 \pm 200,7$ Ед/л) – у 2 (3,4 %). Во второй группе увеличение активности трансаминаз (активность АЛАТ $101 \pm 79,1$ Ед/л) диагностировано у 13 (22,4 %) пациентов, от 5 до 10 норм (активность АЛАТ $273,8 \pm 80,6$ Ед/л) – у 2 (3,4 %), свыше 10 норм (активность АЛАТ $404,6$ Ед/л) – у 1 (1,7 %). В третьей группе соответствующее повышение выявлено у 6 (15 %) (активность АЛАТ $87,6 \pm 46,5$ Ед/л), у 4 (10 %) (активность АЛАТ $263,6 \pm 6,3$ Ед/л) и у 2 (5 %) больных (активность АЛАТ $470,2 \pm 61,5$ Ед/л).

Проведение ИФА с определением содержания IgM и IgG являлось важным этапом в диагностике инфекционного мононуклеоза. В первой группе оно было выполнено 39 (67,2 %) больным, во второй – 42 (72,4 %), в третьей – 27 (67,5 %). Антитела к капсидному антигену ВЭБ (анти-EBV VCA) IgM в первой группе выявлены у 11 (28,2 %) больных, колебания их уровня составляли от 1:200 до 1:1400. Во второй группе анти-EBV VCA IgM в титре от 1:200 до 1:1800 определены у 17 (40,5 %) человек. В третьей группе они обнаружены в 9 (33,3 %) случаях в титре от 1:400 до 1:800. В первой группе анти-EBV VCA IgG были определены у 18 (46,2 %) больных в титре от 1:400 до 1:3200,

во второй – у 21 (50 %) (титр от 1:800 до 1:3200), в третьей – у 12 (44,4 %) (титр от 1:200 до 1:800).

Антитела IgM и IgG к ЦМВ (анти-CMV) выявлены во всех группах. Анти-CMV IgM обнаружены в первой, второй и третьей группах соответственно у 11 (28,2 %) (титр 1:200), у 3 (7,1 %) (титр 1:200 до 1:400) и у 5 (18,5 %) больных (титр от 1:200 до 1:800), анти-CMV IgG – у 9 (23,1 %) (титр от 1:800 до 1:3200), у 9 (21,4 %) (титр от 1:1200 до 1:3200) и у 9 (33,3 %) пациентов (титр от 1:800 до 1:1200). О текущей острой ВГЧ-6-инфекции свидетельствовало наличие в крови антител к ВГЧ-6 (HNV₆). Наличие анти-HNV₆ IgM обнаружено у 2 (5,1 %) пациентов первой группы в титре от 1:200 до 1:400. Анти-HNV₆ IgG выявлены в первой группе в 4 (10,3 %) случаях с титром от 1:600 до 1:800, во второй группе – у 3 (7,1 %) пациентов (титр от 1:600 до 1:1200). Антител к ВГЧ-7 не обнаружено ни в одной группе.

Для подтверждения диагноза инфекционного мононуклеоза проведено исследование сыворотки крови методом ПЦР. В первой группе выполнено 45 (77,6 %) исследований, в результате которых ДНК EBV обнаружена у 14 (31,1 %) больных, ДНК CMV – в 8 (17,8 %) случаях, ДНК HNV₆ – у 5 (11,1 %) обследованных. Микст-инфекция выявлена у 18 (40 %) пациентов: сочетание ДНК EBV и ДНК CMV – у 5 человек; ДНК EBV и ДНК

Таблица 3. Изменения в общем анализе крови в анализируемых возрастных группах**Table 3.** Changes general blood test parameters in the analyzed age groups

Показатель	1 группа		2 группа		3 группа	
	<i>n</i> (%)	Значение	<i>n</i> (%)	Значение	<i>n</i> (%)	Значение
Лейкоцитоз, $\times 10^9$ /л	17 (29,3)	18,5–39,7	11 (19)	14,1–21,13	12 (30)	11,4–15,7
Лимфоцитоз, %	33 (56,9)	54–82	27 (46,5)	46–76	13 (32,5)	47–68
Моноцитоз, %	12 (20,7)	24–34	15 (25,9)	22–31	9 (22,5)	11–16,5
Атипичные мононуклеары, %	20 (34,5)	3–15	17 (29,3)	7–39	5 (12,5)	14–19
Тромбоцитопения, $\times 10^9$ /л	3 (5,2)	21–143	4 (6,9)	88–118	2 (5)	46–132

HHV₆ – в 5 случаях; ДНК EBV, ДНК CMV и ДНК HHV₆ – у 4 больных; ДНК CMV и ДНК HHV₆ – у 4 заболевших. Во второй группе 45 (77,6 %) пациентов были обследованы на вирусы. ДНК EBV найдена у 24 (53,3 %) больных, ДНК CMV – в 3 (6,7 %) случаях, ДНК HHV₆ – у 5 (11,1 %) пациентов. Микст-инфекция верифицирована у 6 (13,3 %) пациентов, из них сочетание ДНК EBV и ДНК CMV – в 4 случаях; ДНК EBV, ДНК CMV и ДНК HHV₆ – у 2 человек. В третьей группе ПЦР-диагностика крови проведена 27 (67,5 %) пациентам, в результате которой ДНК EBV обнаружена у 15 (55,6 %) больных, ДНК CMV – у 6 (22,2 %), в 2 (7,4 %) случаях выявлено сочетание ДНК EBV и ДНК CMV. ДНК HHV₈ не обнаружена ни в одной группе.

В целом установлено, что в первой группе у 20 (34,5 %) больных преобладает микст-инфекция, во второй и третьей группах диагностируется ВЭБ-инфекция в 36 (62,1 %) и 28 (70 %) случаях соответственно.

Развитие инфекционного мононуклеоза в исходе ВЭБ-инфекции в первой группе выявлено у 18 (31 %) человек, у 36 (62,1 %) пациентов второй группы и в 28 (70 %) случаях в третьей группе. Установлено, что ВЭБ встречается достоверно чаще во второй группе, чем в первой ($p = 0,001$) и в третьей ($p = 0,0005$). ЦМВ-инфекция установлена у 10 (17,2 %) больных первой группы и у 8 (13,8 % и 20 %) обследованных во второй и третьей группах соответственно. Обнаружено, что возраст пациентов при выявлении ЦМВ в сыворотке крови не имеет статистической значимости ($p > 0,05$). Герпетическая инфекция в исходе ВГЧ-6-инфекции диагностирована у 6 (10,3 %) больных в первой и второй группах и у 4 (10 %) человек третьей группы. Инфекция, вызванная ВГЧ-6, диагностируется достоверно реже в третьей группе, чем в первой ($p = 0,027$) и во второй ($p = 0,029$).

В первой группе микст-инфекция обнаружена у 20 (34,5 %) заболевших, среди которых у 6 человек – сочетание ВЭБ + ЦМВ и ВЭБ + ВГЧ-6, по 4 больных – ВЭБ + ЦМВ + ВГЧ-6 и ЦМВ + ВГЧ-6. Инфекционный мононуклеоз неустановленной этиологии выявлен у 4 (6,9 %) человек.

У 6 (10,3 %) обследованных во второй группе микст-инфекция выявлена в виде комбинации ВЭБ + ЦМВ у 4 пациентов и ВЭБ + ЦМВ + ВГЧ-6 – у 2 больных. Этиология заболевания не установлена у 2 (3,5 %) человек. Микст-инфекция в третьей группе в виде сочетания ВЭБ и ЦМВ обнаружена у 4 (10 %) обследованных. Диагноз установлен в 100 % случаев. Показано, что статистически чаще микст-инфекции диагностируются в первой группе, чем во второй ($p = 0,0007$) и в третьей ($p = 0,001$).

Заключение

В детском возрасте клинические проявления инфекционного мононуклеоза носили более выраженный характер. Такое яркое течение заболевания обуславливало частое обращение к врачу-инфекционисту и проведение диагностики с установлением этиологического агента (ИФА и ПЦР). По данным клинических исследований установлено доминирование ВЭБ-инфекции в развитии инфекционного мононуклеоза во всех возрастных группах. Однако в возрасте от 0 до 5 лет наиболее часто встречалась микст-инфекция в следующих сочетаниях: ВЭБ + ЦМВ, ВЭБ + ВГЧ-6, ВЭБ + ЦМВ + ВГЧ-6 и ЦМВ + ВГЧ-6.

Список литературы

1. Баранова И.П., Лесина О.Н., Курмаева Д.Ю. Роль инфекционного мононуклеоза в формировании частых заболеваний у детей. *Инфекц. болезни*. 2011;9(Пр. 1):36.
2. Климова Р.Р., Околышева Н.В., Чи-чев Е.В., Тюленев Ю.А., Кистенева Л.Б., Малиновская В.В., Куш А.А. Частота обнаружения маркеров герпес-вирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией. *Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского*. 2014;93(1):44–49.
3. Шарипова Е.В., Бабаченко И.В. Герпес-вирусные инфекции и инфекционный мононуклеоз (обзор литературы). *Ж. инфектол.* 2014;5(2):5–12. doi: 10.22625/2072-6732-2013-5-2-
4. Зайцева И.А., Хмилевская С.А., Бережнова И.А. Инфекционный мононуклеоз у детей. *Дет. инфекции*. 2004;(3):65–68.
5. Помогаева А.П., Уразова О.И., Колледникова И.О. Сухая масса мононуклеаров периферической крови у детей, больных инфекционным мононуклеозом. *Сиб. ж. гастроэнтерол. и гепатол.* 2000;(10):100–101.
6. Джураев М. Г. Иммунологическое течение инфекционного мононуклеоза у детей. *Экономика и социум*. 2022;10(2):316–323.
7. Тюняева Н.О., Софронова Л.В. Инфекционный мононуклеоз: этиологические факторы, проблемы диагностики и лечения (научный обзор). *Вестн. нов. мед. технол.* 2014;21(3):184–190.
8. Иккес Л.А., Мартынова Г.П. Инфекционный мононуклеоз у детей: клинико-лабораторные критерии оценки тяжести. *Дет. инфекции*. 2022;21(2):28–33. doi: 10.22627/2072-8107-2022-21-2-28-33

References

1. Baranova I.P., Lesina O.N., Kurmaeva D.Yu. Role of infectious mononucleosis in formation of common childhood illnesses. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*. 2011;9(S1):36. [In Russian].

2. Klimova R.R., Okolisheva N.V., Chichev E.V., Tyulenev Yu.A., Kisteneva L.B., Malinovskaya V.V., Kushch A.A. The frequency of detection of markers of herpesvirus infections in frequently ill children with acute respiratory infection. *Pediatrics. Zhurnal imeni Georgiya Nestorovicha Speranskogo = Pediatrics. Journal named after Georgy Nestorovich Speransky*. 2014;93(1): 44–49. [In Russian].
3. Sharipova E.V., Babachenko I.V. Herpesvirus infection and infectious mononucleosis. *Zhurnal infekologii = Journal of Infectology*. 2014;5(2):5–12. [In Russian]. doi: 10.22625/2072-6732-2013-5-2-
4. Zaitseva I.A., Khmilevskaya S.A., Berezhnova I.A. Infectious mononucleosis in children. *Detskie infektsii = Children Infections*. 2004;(3):65–68. [In Russian].
5. Pomogaeva A.P., Urazova O.I., Kollednikova I.O. Dry weight of peripheral blood mononuclear cells in children with infectious mononucleosis. *Sibirskiy zhurnal gastroenterologii i gepatologii = Siberian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2000;(10):100–101. [In Russian].
6. Djurayev M.G. Immunological course of infectious mononucleosis in children. *Ekonomika i sotsium = Economy and Society*. 2022;(10-2):316–323. [In Russian].
7. Tyunyaeva N.O., Sofronova L.V. Infectious mononucleosis: etiological factors, diagnosis and treatment problems. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies*. 2014;21(3):184–190. [In Russian].
8. Ikkes L.A., Martynova G.P. Infectious mononucleosis in children: clinical and laboratory criteria for assessing severity. *Detskie infektsii = Children Infections*. 2022;21(2):28–33. [In Russian]. doi: 10.22627/2072-8107-2022-21-2-28-33

Сведения об авторах:

Афтаева Лариса Николаевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4308-9597, e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Мельников Виктор Львович, д.м.н., e-mail: biobez@yandex.ru
Романова Валерия Сергеевна, ORCID: 0000-0001-9789-5194, e-mail: valeria.romanova.000@mail.ru
Борисова Елизавета Алексеевна, ORCID: 0009-0003-6522-7994, e-mail: elizabeth8orisowa@yandex.ru

Information about the authors:

Larisa N. Aftaeva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4308-9597, e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Viktor L. Melnikov, doctor of medical sciences, e-mail: biobez@yandex.ru
Valeria S. Romanova, ORCID: 0000-0001-9789-5194, e-mail: valeria.romanova.000@mail.ru
Elizaveta A. Borisova, ORCID: 0009-0003-6522-7994, e-mail: elizabeth8orisowa@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.06.2023
После доработки 24.08. 2023
Принята к публикации 12.10.2023

Received 02.06.2023
Revision received 24.08.2023
Accepted 12.10.2023

Патологические изменения глиальных клеток в энтеральной нервной системе толстой кишки при хроническом медленно-транзитном запоре

Е.И. Чумасов^{1,3}, Н.А. Майстренко², П.Н. Ромащенко², В.Б. Самедов²,
Е.С. Петрова¹, Д.Э. Коржевский¹

¹ Институт экспериментальной медицины

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

² Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

³ Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5

Резюме

Вопросы, касающиеся природы глиальных клеток энтеральной нервной системы и их участия в патогенезе болезней ЖКТ, остаются малоизученными. Цель работы – сравнительно-морфологическое изучение глиальных клеток в ганглиозных сплетениях энтеральной нервной системы и оценка состояния нейроглиальных взаимоотношений при хроническом медленно-транзитном запоре (ХМТЗ) с помощью иммуногистохимических методов.

Материал и методы. Работа выполнена на резекционном материале, полученном на кафедре факультетской хирургии им. С.П. Федорова Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова при проведении плановых хирургических операций. Объектом исследования служили фрагменты сигмовидной и ободочной кишки, полученные в результате оперативного вмешательства по поводу ХМТЗ (пять случаев, женщины в возрасте 37–40 лет). Исследование проводили с применением иммуногистохимических глиальных маркеров (GFAP, белок S100β и др.).

Результаты и их обсуждение. В межмышечном ганглиозном сплетении толстой кишки обнаружены два типа глии. Астроцитоподобный тип имеет сходство с нейроглией ЦНС, нейролеммоцитарный – с глией автономной нервной системы. Установлено, что астроцитоподобная глия находится исключительно в ауэрбаховом ганглиозном сплетении, а нейролеммоциты – во всех иннервируемых тканях стенки кишки. При ХМТЗ в ауэрбаховом сплетении во всех случаях обнаружены реактивные, дистрофические и дегенеративные изменения нейроцитов и глиальных элементов. В нескольких случаях выявлены деструктивные изменения также в нейромышечных терминальных сплетениях подслизистой и слизистой оболочек, сопровождающиеся интерстициальным отеком и воспалительной моноцитарной реакцией, а также лейкоцитарной инфильтрацией слизистой оболочки. **Заключение.** На основании полученных результатов авторы предлагают отнести ХМТЗ к разряду нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: ободочная, сигмовидная кишка человека, хронический медленно-транзитный запор, глия, белок S100β, GFAP, иммуногистохимия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», № документа 122020300199-5.

Автор для переписки: Чумасов Е.И., e-mail: ualct@mail.ru

Для цитирования: Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Ромащенко П.Н., Самедов В.Б., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Патологические изменения глиальных клеток в энтеральной нервной системе толстой кишки при хроническом медленно-транзитном запоре. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):191–202. doi: 10.18699/SSMJ20230624

Pathological changes of glial cells in the enteric nervous system of the colon with chronic slow-transit constipation

E.I. Chumasov^{1,3}, N.A. Maistrenko², P.N. Romashchenko², V.B. Samedov²,
E.S. Petrova¹, D.E. Korzhevskii¹

¹ Institute of Experimental Medicine

197022, Saint-Petersburg, Akademika Pavlova st., 12

² S.M. Kirov Military Medical Academy

194044, Saint-Petersburg, Akademika Lebedeva st., 6

³ Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine

196084, St. Petersburg, Chernigovskaja st., 5

Abstract

The origin, development and differentiation of enteric nervous system neuroglia and its involvement in the pathogenesis of gastrointestinal diseases and neurodegenerative diseases have been little studied. **Aim** of this work is a comparative morphological study of glial cells in the ganglionic plexuses of the enteric nervous system and analysis of neuroglial relationships in chronic slow-transit constipation using immunohistochemical methods. **Material and methods.** Resection material obtained at the Department of Faculty Surgery, S.P. Fedorov Faculty of Surgery of S.M. Kirov Military Medical Academy during planned surgical operations was used. The objects of the study were fragments of the sigmoid and colon obtained as a result of surgery for chronic slow-transit constipation (five cases, women aged 37–40 years). The study was carried out using immunohistochemical glial markers (GFAP, S100 β protein, etc.). **Results.** Two types of glia were found in the myenteric ganglionic plexus of the large intestine: astrocyte-like and neurolemmocyctic. The astrocyte-like type is similar to the neuroglia of the central nervous system, the neurolemmocyctic type is similar to the glia of the autonomic nervous system. It has been established that astrocyte-like glia is found only in the Auerbach ganglionic plexus, while neurolemmocytes are found in all innervated tissues of the intestinal wall. Reactive, dystrophic and degenerative changes in neurocytes, glial elements, agangliogenesis in the Auerbach plexus were found in all cases of chronic slow-transit constipation. Destructive changes in the neuromuscular terminal plexuses, interstitial edema and inflammatory monocytic reaction and leukocyte infiltration in the intestinal mucosa and intestinal submucosa, found in several cases. **Conclusions.** The results obtained allow classifying chronic slow-transit constipation as a neurodegenerative disease.

Key words: human colon, sigmoid colon, chronic slow-transit constipation, glia, S100 β protein, GFAP, immunohistochemistry.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Institution Institute of Experimental Medicine, document number 122020300199-5.

Correspondence author: Chumasov E.I., e-mail: ua1ct@mail.ru

Citation: Chumasov E.I., Maistrenko N.A., Romashchenko P.N., Samedov V.B., Petrova E.S., Korzhevskii D.E. Pathological changes of glial cells in the enteric nervous system of the colon with chronic slow-transit constipation. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):191–202. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230624

Введение

Долгое время считалось, что основные функции нейроглии связаны с поддержанием и обеспечением жизнедеятельности нейронов. К настоящему времени доказано, что нейроглия многофункциональна [1–3]. Продолжают изучаться морфологические и функциональные особенности нейроглии животных и человека, уточняется их классификация [4]. Не выясненными до конца остаются вопросы, касающиеся ее происхождения, развития и дифференцировки в онтогенезе, а также участия глии в развитии нейродегенеративных заболеваний. За последние десятилетия в литературе наблюдается повышенный интерес к одному из малоизученных отделов автономной нервной системы (наряду с парасимпатическим и симпатическим), к так называемому «метасимпатическому», или энтеральному, отделу нервной системы (ЭНС) [5–7]. ЭНС состоит из 150 млн нейронов различного типа, выраба-

тывающих множество нейромедиаторов и нейропептидов. Эти особенности побудили назвать ЭНС «вторым мозгом» [8–11]. А в недавнем обзоре подчеркнуто, что ЭНС можно считать «первым (а не вторым) мозгом» [6], поскольку в филогенезе ЭНС происходит раньше нервной трубки. Предположительно «первый мозг» перешел к позвоночным животным в филогенезе от кольчатых червей – первых целомических животных, нервная система которых представлена брюшной нервной цепочкой. В настоящее время много нерешенных вопросов остается в области изучения глии ЭНС, ее происхождения, развития и морфологии [4, 12]. Эти исследования имеют важное значение для гастроэнтерологии при изучении широко распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) животных и человека, таких как синдром раздраженного кишечника, язвенный колит, хронические запоры, включая хронический медленно-транзитный

запор (ХМТЗ) [13–17]. В работах, посвященных изучению кишки при ХМТЗ, основное внимание, как правило, уделяется нервным структурам ганглиозных сплетений, относительно изменений глиальных элементов имеются лишь единичные исследования [18, 19].

Цель настоящей работы – сравнительно-морфологическое изучение глиальных клеток в ганглиозных сплетениях ЭНС и оценка состояния нейроглиальных взаимоотношений при ХМТЗ с помощью иммуногистохимических методов.

Материал и методы

Работа выполнена на резекционном материале, полученном на кафедре факультетской хирургии им. С.П. Федорова Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Объект исследования – фрагменты сигмовидной и ободочной кишки, полученные в результате оперативного вмешательства по поводу ХМТЗ, с согласия пациентов на исследования материала (пять случаев, женщины в возрасте 37–40 лет). Основу первичного обследования пациентов составляло выяснение жалоб, сбор анамнестических сведений, проведение объективного обследования, лабораторных анализов крови и кала, инструментальных исследований толстой кишки, направленных на оценку ее эвакуаторной функции. После установки диагноза ХМТЗ пациентам назначалась комплексная схема консервативного лечения в соответствии с действующими на момент обследования клиническими рекомендациями, направленная на нормализацию частоты дефекации и регресс явлений толстокишечной дискинезии [20]. В связи с рефрактерностью заболевания ко всем линиям фармакологической коррекции формулировались показания к его хирургическому лечению. Объем резекции ободочной кишки определяли на основе данных хронометрии рентгенконтрастных маркеров. При сегментарном типе тяжелой формы ХМТЗ выполняли левостороннюю гемиколэктомию, при распространенном – субтотальную резекцию ободочной кишки с формированием асцендо-ректоанастомоза [21].

Резекционный материал фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле материал заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ Институт экспериментальной медицины (протокол № 2/22 от 06.04.2022). Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание проводили на парафиновых срезах. Для исследования клеток глии периферической нервной системы применяли ИГХ-реакции на белок S100β, глиальный

фибрилярный кислый белок (GFAP) и глутаминсинтетазу (GS). В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела к белку S100β. Для выявления GFAP и GS использовали моноклональные мышиные антитела (соответственно клон SPM 507, Spring Bioscience, США, и клон GS-6, Chemicon, США). Для выявления нервных волокон применяли поликлональные кроличьи антитела к белку PGP 9.5 (Spring Bioscience) и моноклональные кроличьи антитела к синаптофизину (клон SP11, Spring Bioscience). В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора Reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (SPD-015, Spring Bioscience, США). Часть препаратов окрашивали толуидиновым синим по Нисслю и астровым синим. Для осуществления отрицательного контроля иммуногистохимических реакций на часть срезов вместо раствора первичных антител наносили их разбавитель (Dako, Дания; в настоящее время Agilent, США). Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM 750 (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica).

Результаты

С помощью окраски толуидиновым синим по Нисслю на препаратах ободочной и сигмовидной кишки хорошо идентифицируются два ганглиозных сплетения: Ауэрбаха, или межмышечное (МС), и Мейснера, или подслизистое (ПС). В большинстве исследованных случаев выявлены реактивные, дистрофические и тяжелые дегенеративные изменения ганглиозных клеток (рис. 1, а), а также гибель или выпадение нейронов (рис. 1, б). Для нейронов с реактивными изменениями характерны ацентрично расположенные ядра и разная степень выраженности хроматофильной реакции. Дистрофически измененные нервные клетки имеют слабо проявляющиеся контуры ядер и гомогенную цитоплазму с низкой хроматофильностью. У некоторых из них сморщенный вид, интенсивно окрашенная цитоплазма и гиперхромное ядро. Встречаются нейроны с признаками тяжелой патологии – «клетки-тени», клетки без видимых цитоплазматических органелл и ядра. Во многих ганглиях наблюдается гибель нейронов (аганглиоз).

Наряду с сохранившимися интактными и патологически измененными нейронами в ганглиях часто присутствует значительное число глиальных клеточных элементов, которые отличаются от нейронов меньшими размерами, гиперхромными ядрами, неравномерностью или плотностью распределения. Концентрация глиоцитов наблюдается вокруг перикарионов патоло-

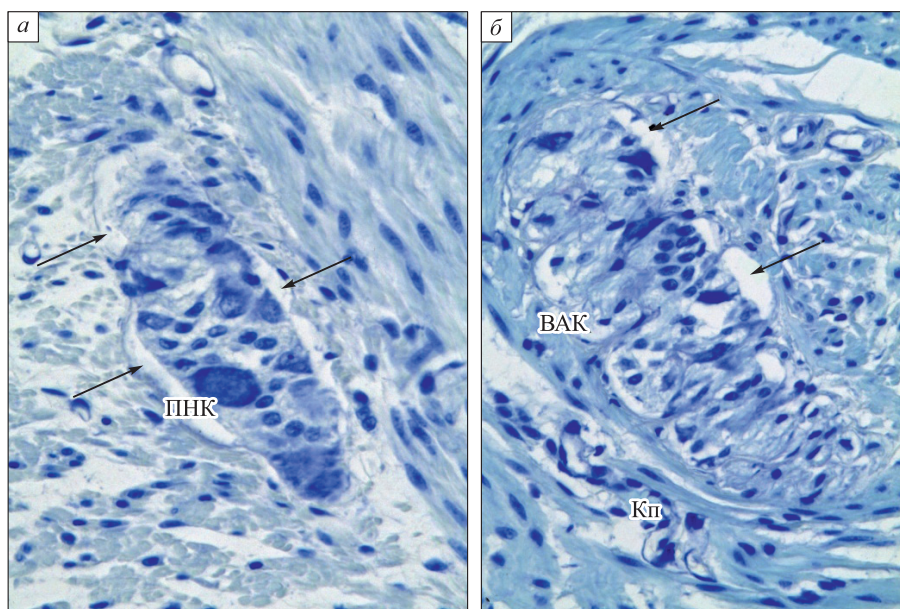


Рис. 1. Фрагменты ганглиев из миентерального ганглиозного сплетения в кишке больных ХМТЗ со следами интерстициального тканевого отека. а – ганглий с реактивно и дистрофически измененными нейронами; б – вакуолизированные глиоциты и несколько пикнотичных нейроцитов; ПН – пикнотичные нервные клетки; БАК – вакуолизированные астроцитоподобные клетки; Кп – капилляр; стрелки – лимфатические сосуды. Окраска толуидиновым синим по Нисслю, $\times 400$

Fig. 1. Fragments of ganglia from the myenteric ganglionic plexus in the intestines of patients with chronic slow-transit constipation with evidence of interstitial tissue edema. а – ganglion containing neurons which reactive and dystrophic changes; б – vacuolized gliocytes and several pyknotic neurocytes; ПН – pyknotic nerve cell; БАК – vacuolated astrocyte-like cells; Кп – capillary; arrows – lymphatic vessels. Toluidine blue staining, $\times 400$

гически измененных нейронов. Эти картины отражают проявления процессов глиоза, нарушения нейрон-глиальных взаимоотношений. Однако следует отметить, что, используя метод окраски толуидиновым синим по Нисслю, затруднительно идентифицировать типы глиальных клеток в ЭНС. Для выяснения морфофункциональных особенностей разных типов глиальных клеток мы использовали ИГХ-окрашивание на GFAP, GS и S100 β , маркеры, применяемые в исследованиях, посвященных изучению глии центральной и периферической нервной системы.

С помощью ИГХ-реакции на GFAP (белок промежуточных филаментов, являющийся маркером астроцитов) в ганглиях МС избирательно выявлены глиальные клетки, обладающие ярко выраженной иммунореактивностью и морфологическим сходством с астроцитами ЦНС (рис. 2, а, б). В зависимости от функционального состояния и положения в ганглии они имеют различную форму тела (округлую, веретеновидную, треугольную или неправильную), размеры (9–25 мкм) и снабжены короткими отростками разной толщины. Эти клетки легко идентифицируются по черно-коричневой окраске тела, относительно крупному пузырьковидному светлому ядру и гомогенной структуре цитоплазмы (см. рис. 2, а, б). На основании

этих морфологических признаков, большого объема цитоплазмы и экспрессии GFAP мы считаем правомерным в дальнейшем называть эти клетки астроцитоподобными (АПК).

Часть АПК в ганглии располагается плотными группами, многие из которых окружают тела ганглиозных нервных клеток и находятся с ними и их отростками в тесных взаимоотношениях, другая часть АПК занимает периферию узла на границе с интерстициальными фибробластами и мышечной тканью. Группы АПК попеременно с мелкими нейроцитами прослеживаются также в межганглионарных тяжах МС (рис. 2, б). В некоторых местах удавалось проследить, что отростки АПК контактируют не только с телами нейронов, но и с эндотелием лимфатических капилляров, окружающих и разделяющих эти узлы. Следует отметить, что в ганглиях и в тяжах МС кровеносные сосуды встречаются редко, чаще они окружены сетью лимфоидных капилляров.

Наряду с описанными изменениями нервных клеток в ганглиях МС нередко можно видеть различные картины патологических изменений со стороны глии (рис. 2, в, г), особенно в очагах нейродегенерации и массовой гибели нейронов (см. рис. 1, б; рис. 2, в). Часть глиальных клеток находится в состоянии реактивных изменений, ста-

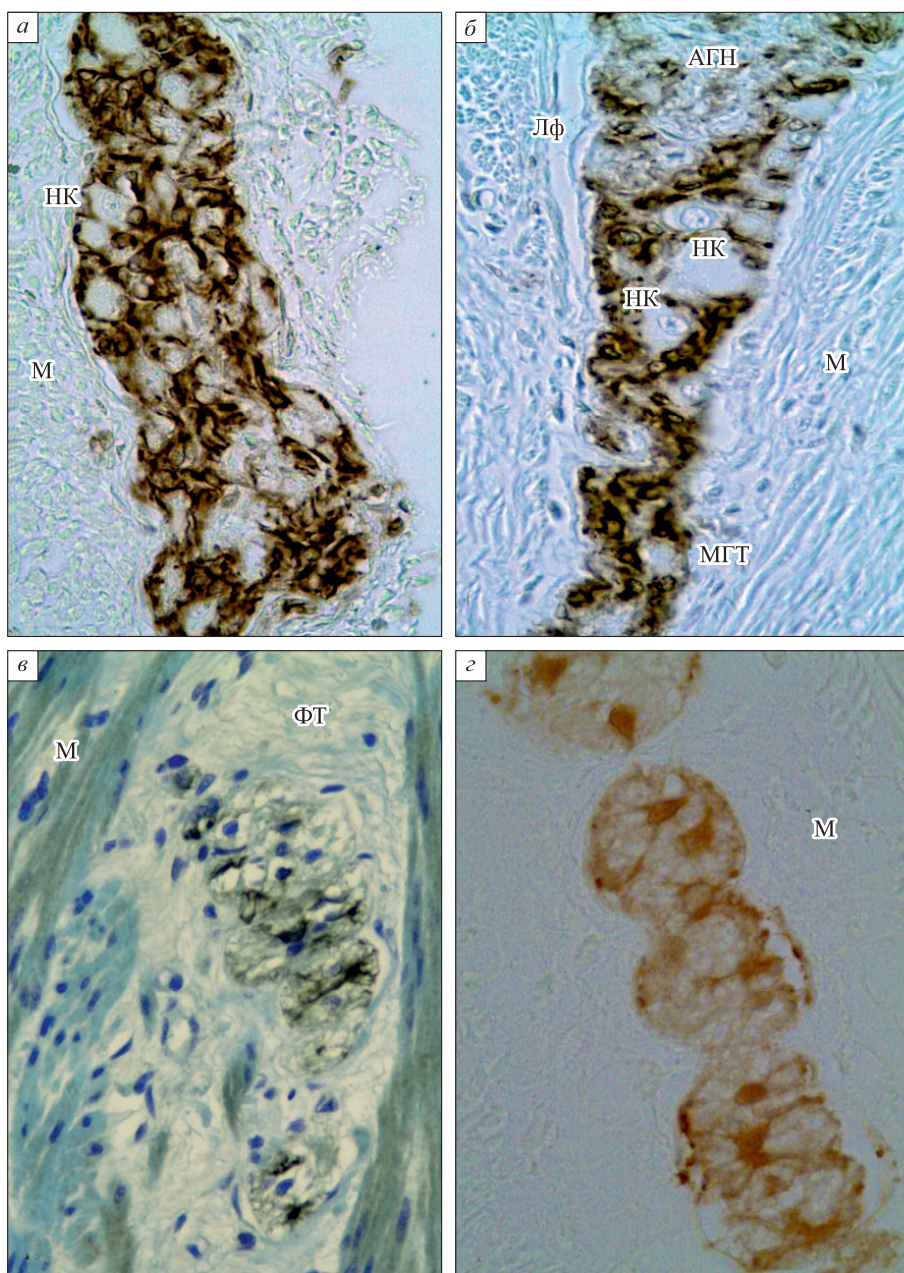


Рис. 2. Глиальные АПК в ганглиях межмышечного сплетения. а, б – распределение реактивных АПК; в – очаг реактивных и вакуолизированных АПК в окружении фиброзной ткани; г – цепочечные шарообразные структуры из АПК на месте аганглионарного фрагмента ауэрбахова сплетения. НК – нейроны; МГТ – межганглионарный тяж; М – мышцы; Лф – лимфатический капилляр; АГН – аганглионарный участок; ФТ – фиброзная ткань. Иммуногистохимическая реакция на GFAP (а–в) и глутаминсинтетазу (г), подкраска толуидиновым синим (в), $\times 400$

Fig. 2. Astrocyte-like glial cells in the ganglia of the intermuscular plexus. а, б – distribution of reactive astrocyte-like cells; в – reactive and vacuolated astrocyte-like cells surrounded by fibrous tissue; г – spherical structures of astrocyte-like cells at the site of an aganglionic fragment of the Auerbach's plexus. НК – neurocytes; МГТ – interganglionic bundle; М – muscles; Лф – lymphatic capillary; АГН – aganglionic area; ФТ – fibrous tissue. Immunohistochemical reaction to GFAP (а–в) and to glutamine synthetase (г), counterstaining with toluidine blue (в), $\times 400$

дии вакуолизации, вторая часть имеет гипертрофированный вид GFAP-иммунореактивных тел и отростков, третья представлена сильно сморщенными клетками или находится на стадии клеточного распада (см. рис. 2, в). В последнем случае

в ганглиях видны иммунореактивные глыбки и фрагменты клеток. Такие картины в большей или меньшей степени встречаются практически во всех исследованных случаях ХМТЗ.

С помощью ИГХ-реакций на GFAP и GS в аганглиозных участках МС выявлены образования шаровидной формы размером до 55–70 мкм, состоящие из вакуолизированных глиоцитов. При использовании ИГХ-реакции на GS видно, что в каждом «шаре» находится по 2–3 окрашивающихся в светло-коричневый цвет АПК. В некоторых случаях мы наблюдали подобного вида цепочки «шаров» в запустевших ганглиях на значительном протяжении в пределах поперечного среза (см. рис. 2, б). Обращает на себя внимание тот факт, что АПК заполнены жидким содержимым, вероятно, белковым экссудатом. Предположительно, они находятся в состоянии тургора и сформировались в результате отека окружающих тканей. В исследуемом мате-

риале можно встретить ганглии МС как с запустевшими в результате гибели клеток участками, с преобладанием вакуолизированных астроцитов, так и участки с интактными и патологически измененными нейронами и глией одновременно. ИГХ-анализ исследованного материала показал, что присутствие АПК ограничено ауэрбаховым сплетением, за его пределами они не встречаются.

С помощью ИГХ-реакции на специфический белок S100 β был идентифицирован второй тип глии, клеточные элементы которого обнаружены практически во всех тканях стенки кишки: в ганглиях МС и ПС, в составе внутримышечных, периваскулярных сплетений, в тканях слизистой оболочки, а также в вегетативных нервах, проходящих в стенку данных отделов кишки извне (рис. 3). Для S100 β -позитивных глиальных клеток характерен ряд особенностей. Границы тел и отростков в отличие от АПК неразличимы, четко видны только ядра. Клетки располагаются диффузно в нейропиле ганглиев, имеют округлую, продолговатую, палочковидную форму, окрашены в черно-коричневый цвет, имеют меньшие размеры (7–10 мкм) по сравнению с АПК. В связи с тем что межклеточные границы этих клеток не выявляются при световой микроскопии, цитоплазма их представляет собой «синцитиальную» структуру, гомогенно окрашенную в светло-коричневые тона. По многим признакам они сходны с клетками автономной нервной системы (сателлитами нейроцитов и шванновскими клетками немиелинизированных волокон), в связи с

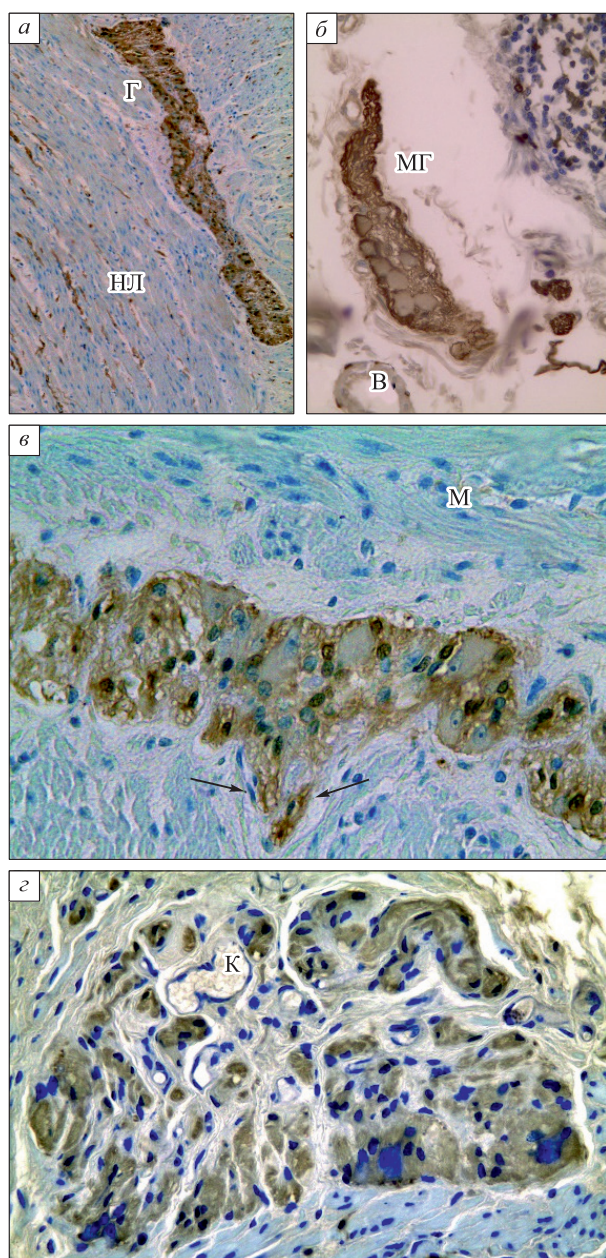


Рис. 3. Нейролеммоциты в стенке толстой кишки человека. а, в – в ганглиях миентерального сплетения; б – в ганглии подслизистого сплетения; г – в межганглионарном нервном стволике; Г – межмышечные ганглии; МГ – микроганглии и нервные пучки в отечной соединительной ткани в ПС; НЛ – тяжи НЛЦ в терминальном нейромышечном сплетении; В – венозный сосуд; М – мышцы, К – капилляры в нервном стволике; стрелки – начало выхода нервно-глиального волокнистого пучка в мышечную ткань. ИГХ-реакция на белок S100 β , подкраска толуидиновым синим, $\times 100$ (а, б); $\times 400$ (в, г)

Fig. 3. Neurolemmocytes in the wall of the human colon. а, в – in the ganglia of the myenteric plexus; б – in the ganglion of the submucosal plexus; г – in the interganglionic nerve trunk; Г – intermuscular ganglia; МГ – microganglion and nerve bundles in connective tissue in submucosal plexus; НЛ – neurolemmocytes in the terminal neuromuscular plexus; В – vein; М – muscles; К – capillaries in the nerve stem; arrows indicate the exit start point of the neuroglial fibers into the muscle tissue. Immunohistochemical reaction to S100 β protein, toluidine blue staining, $\times 100$ (а, б); $\times 400$ (в, г)

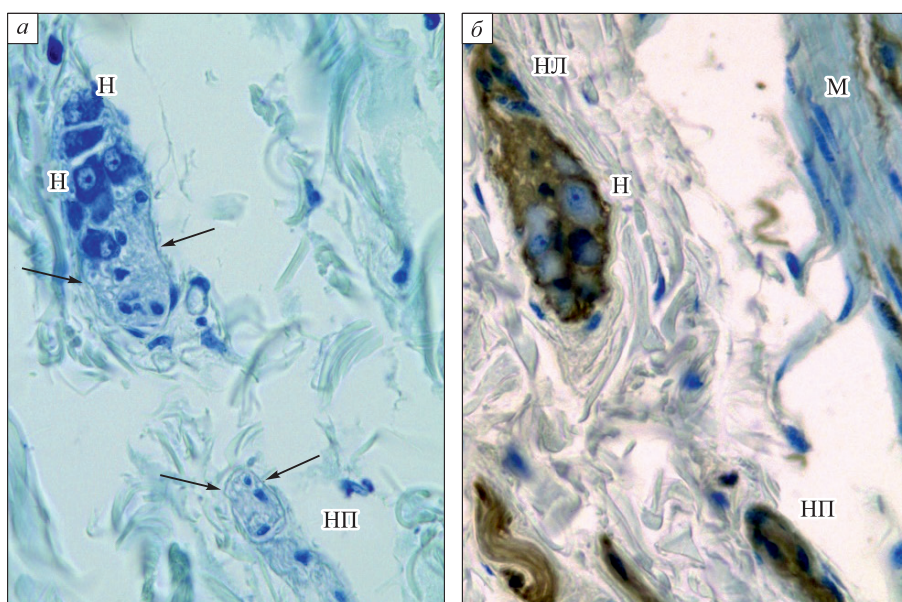


Рис. 4. Микроганглий ПС в окружении пучков коллагеновых волокон в отечной соединительной ткани. НЛ – нейролемоциты, Н – нейроны, М – мышечный слой, НП – нервный пучок; стрелки – периневрий. Окраска толуидиновым синим (а), иммуногистохимическая реакция на белок S100β (б), ×400

Fig. 4. Microganglion of the submucosal plexus surrounded by collagen fibers in connective tissue. НЛ – neurolemocytes, Н – neurons, М – muscle layer, НП – nerve bundle; arrows – perineurium. Toluidine blue staining (a), immunohistochemical reaction to S100β protein (b), ×400

этим авторы считают правомочным называть их нейролеммоцитами (НЛЦ).

НЛЦ локализуются в ганглиях МС вместе с нейронами и АПК среди массы густой сети их отростков и варикозных терминалей и составляют общий нейропил ганглиев. Они наблюдаются также в составе пучков и тяжелой немиелинизированных аксонов, входящих и выходящих из этого ганглиозного сплетения (см. рис. 3, в, г). В микроганглиях ПС присутствуют только НЛЦ, отсутствуют АПК. Часть НЛЦ представлена сателлитами нейронов, другая часть – вспомогательными клетками нервных пучков.

Ганглиозные сплетения отличаются не только по составу глии, но и по тканевому окружению. Ганглии ауэрбаха сплетения находятся в тесной взаимосвязи с гладкомышечными клетками мышечной оболочки стенки кишки, а микроганглии мейснерова сплетения располагаются в окружении соединительной ткани и многочисленных коллагеновых волокон. Кроме того, микроганглии и пучки нервных волокон ПС отграничены от соединительной ткани еще и специализированным тканевым барьером – периневральными эпителиоморфными футлярами (рис. 4, а, б). Эти морфологические признаки свидетельствуют о том, что оба ганглиозных сплетения отличаются не только по клеточной и тканевой организации, но и по выполняемым функциям. Важно отметить,

что в изученном нами материале нервные клетки микроганглиев ПС менее подвержены тяжелым патологическим изменениям по сравнению с таковыми МС.

В ганглиях межмышечного сплетения НЛЦ, как и АПК, находятся в сложных взаимоотношениях с нервными структурами. В их «синцитиального» вида цитоплазме заключены различные нервные аппараты (рис. 5). Можно видеть профили плотно упакованных в виде пакетов и цепочек многочисленных тончайших безмиелиновых варикозных аксонов (см. рис. 5, в). При больших увеличениях во многих участках нейропила можно отличить цепочки профилей из тонких ламеллярных отростков цитоплазмы НЛЦ, располагающихся вокруг синаптических бутонов, на местах расположения перичеселлярных синапов (нервных окончаний), связанных с перикарионами и дендритами нейронов ганглиозного сплетения. Создается впечатление, что все нервные структуры ганглия в большей или меньшей степени заключены в тяжи НЛЦ и окружены этими обкладочными глиальными клетками.

Из ганглиев МС в окружающие мышечные ткани концентрического и продольного слоев мышечной оболочки выходят различной толщины нервно-волокнистые пучки и тяжи (см. рис. 5, г). Между мышечными пучками они делятся и образуют густую узкопетливую сеть, состоя-

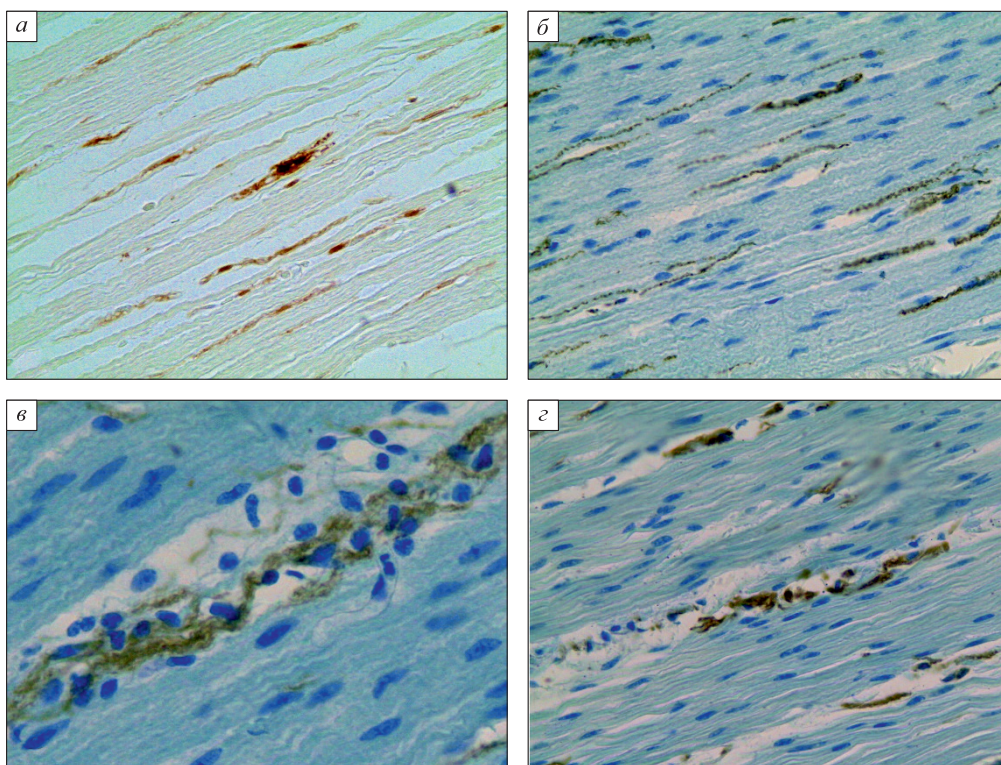


Рис. 5. S100β-позитивные глиальные клетки (НЛЦ) мышечных синаптических сплетений (а), синаптофизин-позитивные варикозные аксоны в концентрическом слое мышечной оболочки толстой кишки человека (б); воспалительные инфильтраты и экссудативный отек вокруг ремаковских волокон (в) и продукты распада ремаковских тяжей (з). ИГХ-реакция на белок S100β (а), синаптофизин (б), белок PGP 9.5 (в, з), ×400

Fig. 5. S100β+ glial cells (neurolemmocytes) of muscular synaptic plexuses (a), synaptophysin+ varicose axons in the concentric layer of the muscular layer of the human colon (б); inflammatory infiltrates and exudative edema around the Remakov fibers (в) and decay products of the Remakov bands (z). Immunohistochemical reaction to S100β protein (a), synaptophysin (б), PGP 9.5 protein (в, з), ×400

щую из ремаковских тяжей НЛЦ и заключенных в них тончайших варикозных аксонов. Последние представляют собой терминальную сеть отростков PGP-позитивных холинергических эфферентных нейронов ганглиев МС – нейромышечные синапсы дистантного типа *en passant*. Толщина большинства ремаковских тяжей, заполненных пакетами варикозных аксонов, составляет от 1–2 до 20 мкм и более (рис. 6). Описанные терминальные сплетения при ХМТЗ нередко в той или иной степени подвергаются деструкции. Так, например, патологические изменения, наблюдающиеся со стороны терминальных нервно-мышечных сплетений продольного и концентрического слоев мышечной оболочки, могут сопровождаться гибелью обменных капилляров, воспалением, развитием интерстициального отека, набуханием ремаковских тяжей и их дегенерацией (см. рис. 6).

Важно подчеркнуть, что терминальные сети из ремаковских тяжей НЛЦ и варикозных аксонов участвуют в иннервации не только гладкомышечных клеток миентеральной оболочки, мышечной

пластинки слизистого сплетения, периваскулярных сплетений, но и тканей слизистой оболочки. В слизистой оболочке S100β-позитивные НЛЦ вместе с заключенными в нее варикозными аксонами формируют густую узкопетлистую трехмерную субэпителиальную синаптическую сеть (см. рис. 6).

Обсуждение

Хронический запор представляет собой важную медико-социальную проблему во всех странах мира и является инвалидизирующим заболеванием. Его распространенность у взрослых в мире оценивается в 16 %, а в индустриально развитых странах – от 30 до 40 % [20, 22]. Среди всех причин, приводящих пациентов к колопроктологу или гастроэнтерологу, хронический запор уступает лишь геморрою. Клинические проявления заболевания у 15–50 % из этих больных развиваются вследствие замедленного транзита кишечного содержимого по ободочной кишке в связи с нарушением ее пропульсивной функции

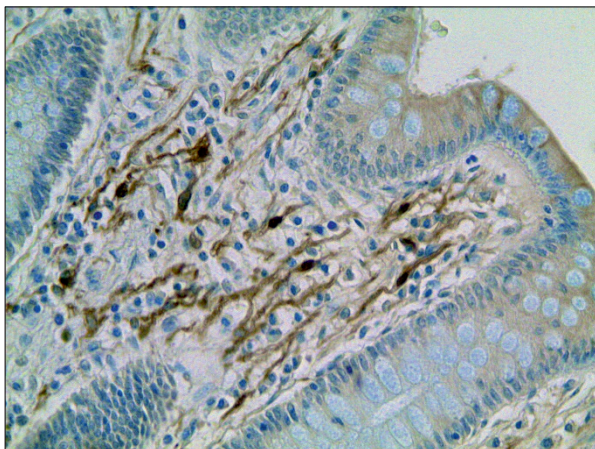


Рис. 6. Нейролеммоциты субэпителиальной терминальной сети в слизистой оболочке толстой кишки человека. ИГХ-реакция на белок S100β. Докраска толуидиновым синим, ×400

Fig. 6. Neurolemmocytes of the subepithelial terminal network in the mucosa of the human colon. Immunohistochemical reaction to S100β protein. Toluidine blue staining, ×400

[21, 23]. При всем многообразии существующих фармакологических и лабораторно-инструментальных возможностей нет исчерпывающего понимания этиопатогенеза ХМТЗ – одной из форм хронического запора, и на сегодняшний день ни один из предложенных методов лечения заболевания не обладает 100%-й эффективностью [21, 24]. Вопросы лечения больных ХМТЗ по настоящее время остаются предметом дискуссии и, безусловно, подлежат дальнейшему обсуждению.

Ранее показано, что при ХМТЗ наблюдаются патологические изменения в ЭНС [17], которая управляет всеми желудочно-кишечными функциями, включая процесс пищеварения, регуляцию электролитного состояния среды и секрецию слизи, кровотока, кишечную проницаемость, тканевую регенерацию и перистальтику [5, 25]. В настоящее время особое внимание уделяется нейроглии как позвоночных, так и беспозвоночных животных [26]. По фенотипическим, иммуногистохимическим признакам и топографической локализации некоторые авторы выделяют четыре и более вида глиальных клеток [4, 18, 19, 26, 27]. Описаны различные субтипы глиальных клеток в ганглиозных сплетениях, в мышечных слоях, в подслизистой и слизистой оболочках стенки кишки [18, 19]. В ганглиозных сплетениях выделяют 80 % АПК, а 20 % приходится, по-видимому, на немиелинизирующие и миелинообразующие шванновские клетки [18].

По фенотипу у взрослых животных и человека в ЭНС АПК составляют одну из основных популяций периферической глии. Хотя сходство

части кишечных глиальных клеток с астроцитами ЦНС продемонстрировано еще в прошлом столетии [9], исследования этой проблемы с помощью современных ИГХ-методов поставили много вопросов. Среди глии ЭНС, как и в ЦНС, обнаружен широкий спектр клеточного разнообразия. На основе морфологии и экспрессии белков, таких как GFAP, GS, белок S100, протеолипидный белок 1 (PLP1), можно выделять несколько различных типов глии. Известно, что в развитии ЭНС кроме GFAP, высокоспецифичного маркера астроцитов ЦНС, важную роль играют белок S100, PLP1, основной белок миелина и факторы роста. Особое значение придается глиальному нейротрофическому фактору (GDNF), экспрессирующемуся эндоневральными фибробластами и мезенхимными клетками [19, 28, 29]. При его отсутствии нарушается миграция нейроцитов МС из нервных гребней, что приводит к аганглиозу ауэбахова сплетения [30, 31].

В результате настоящего исследования с применением ИГХ-методов мы выделили в ЭНС две глиальные популяции: АПК и НЛЦ. Установлено, что локализация глии астроцитоподобного типа ограничивается исключительно ауэбаховым ганглиозным сплетением. Предположительно, АПК в основном играют роль в обеспечении жизнедеятельности ганглиозных нейронов (трофики, поддержания необходимого уровня цитодифференцировки нейроцитов, электрогенеза и синаптогенеза, внутренних межнейронных рефлекторных связей), а также участвуют в нейромышечной регуляции тонких механизмов процесса перистальтики кишечника, в то время как нейролеммоцитарный тип глии не только принимает участие в механизмах локомоторных функций, присутствуя во всех тканях стенки кишки, но и обеспечивает нейротканевой гомеостаз и рефлекторные связи ЭНС с ЦНС.

Результаты наших исследований во многом согласуются с литературными данными. Они подтверждают наличие разных популяций глиальных клеток в ЭНС толстого кишечника человека. В отличие от других авторов мы дифференцировали разные типы глии не только по их иммуногистохимической реактивности, но и по морфологии, локализации в ганглии и в межганглиозных тяжах, взаимоотношениям с окружающими структурами. S100β-позитивные глиоциты отличаются по морфологическим и иммуногистохимическим признакам от АПК. Большинство исследователей считают, что все глиальные клетки ЭНС происходят из клеток нервного гребня [30, 31]. Мы предполагаем, что морфофункциональные отличия разных типов глиоцитов обусловлены различием их происхождения. Одни глиоциты образуются

из нервного гребня, а другие – из окружающей его мезодермы (эктомезехимы). Можно предположить, что в эмбриогенезе предшественники нейроглии вместе с нейробластами мигрируют из области нервных гребней в стенку кишечной трубки в составе нервно-клеточных тяжей и обкладочных клеток эктомезенхимы, подобно тому, как это осуществляется при формировании в эмбриогенезе нервных волокон корешковых спинномозговых нервов и становлении сателлит-нейронных взаимоотношений, изученных ранее *in vivo* и *in vitro* [32].

В настоящей работе мы исследовали изменения нейроглиальных клеток при патологии (ХМТЗ). Изучение роли нейроглии в патогенезе различных заболеваний – одна из актуальных проблем современной нейробиологии. За последнее время в литературе накапливаются данные о роли глии в механизмах развития патологических процессов при различных заболеваниях [26]. Имеются доказательства растущей роли дисфункции астроцитов в патофизиологии, неврологии, включая нейродегенеративные заболевания и другие нейропатии [4, 11, 33, 34].

В настоящей работе практически во всех исследованных случаях наблюдались разной степени выраженности картины отека и воспалительных проявлений в соединительной ткани подслизистой оболочки. Как известно, в этом месте, на границе между концентрическим слоем мышечной оболочки и слизистой оболочкой, сосредоточена основная масса крупных венозных и лимфатических собирательных сосудов, проницаемость которых, как показано ранее [17], нарушается в результате денервации. Предполагается, что первыми реагируют на изменение водно-солевого баланса АПК, через которые осуществляется обменно-трофическое обеспечение нейронов МС. Именно АПК могут быть инициаторами тяжелых необратимых процессов гибели нейронов при ХМТЗ.

Таким образом, при ХМТЗ нами обнаружен ряд следующих патологических изменений в стенке кишки: гидропический отек в подслизистой оболочке, экссудативный отек в интерстициальной ткани мышечной оболочки, дегенерация и гибель нейронов в ганглиях, интенсивная вакуолизация АПК и образование «глиальных шаров» в МС, набухание ремаковских тяжей основного нейромышечного сплетения и деструкция его НЛЦ и варикозных аксонов.

Заключение

В настоящей работе, используя ИГХ-маркеры, в нейропиле ганглиев ЭНС толстой кишки человека описаны две популяции глиальных клеток:

АПК, сходные с глией ЦНС, и нейролеммоцитарная глия, сходная с глией ПНС. Установлено, что астроцитоподобный тип глии встречается исключительно в ауэрбаховом ганглиозном сплетении, а нейролеммоцитарный тип глии присутствует во всех трех нервных сплетениях (МС, ПС, слизистой оболочки) стенки кишки.

Во всех случаях при ХМТЗ, наряду с дегенеративными изменениями нейронов, в ганглиях ауэрбахова сплетения обнаружены патологические изменения со стороны астроцитоподобной глии с признаками глиоза и интенсивной вакуолизации клеток. В аганглиозных узлах на месте погибших нейронов впервые показано образование остаточных шарообразных структур, состоящих из АПК. В мышечной оболочке кишки в большинстве исследованных случаев описаны структурные изменения основного нейромышечного синаптического сплетения: набухание НЛЦ-аксонных (ремаковских) тяжей, фрагментация НЛЦ и распад аксонов.

Так как перечисленные выше патогистологические изменения нервных и глиальных аппаратов ЭНС служат характерными признаками нарушения иннервации тканей стенки кишки, ХМТЗ можно отнести к разряду воспалительных нейродегенеративных заболеваний. К сожалению, остаются невыясненными причинно-следственные связи, вызывающие выраженную гибель нервных клеток, что определяет необходимость дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Allen N.J., Barres B.A. Neuroscience: Glia – more than just brain glue. *Nature*. 2009;457(7230):675–677. doi: 10.1038/457675a
2. Barres B.A. The mystery and magic of glia: A perspective on their roles in health and disease. *Neuron*. 2008;60(3):430–440. doi: 10.1016/j.neuron.2008.10.013
3. Хачатрян А.А., Ерофеева Л.М., Кутвицкая С.А. Роль нейроглии в функционировании нервной системы. *Успехи соврем. естествозн.* 2014;(6):66–70. Khachatryan A.A., Erofeeva L.M., Kutvitskaya S.A. The role of neuroglia in the functioning of the nervous system. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya = Advances in Current Natural Sciences*. 2014;(6):66–70. [In Russian].
4. Verkhatsky A., Ho M.S., Parpura V. Evolution of neuroglia. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019;1175:15–44. doi: 10.1007/978-981-13-9913-8_2
5. Ноздрачев А.Д. Физиология вегетативной нервной системы. Ленинград: Медицина, 1983. 296 с. Nozdrachev A.D. Fiziologija vegetativnoj nervnoj sistemy. Leningrad: Meditsina, 1983. 296 p. [In Russian].

6. Furness J.B., Stebbing M.J. The first brain: Species comparisons and evolutionary implications for the enteric and central nervous systems. *Neurogastroenterol. Motil.* 2018;30(2). doi: 10.1111/nmo.13234
7. Sharkey K.A., Mawe G.M. The enteric nervous system. *Physiol. Rev.* 2023;103(2):1487–1564. doi: 10.1152/physrev.00018.2022
8. Gabella G. Ultrastructure of the nerve plexuses of the mammalian intestine: The enteric glial cells. *Neuroscience.* 1981;6(3):425–436. doi: 10.1016/0306-4522(81)90135-4
9. Gabella G. Enteric glia: Extent, cohesion, axonal contacts, membrane separations and mitochondria in Auerbach's ganglia of guinea pigs. *Cell Tissue Res.* 2022;389(3):409–426. doi: 10.1007/s00441-022-03656-3
10. Gershon M.D. The enteric nervous system: a second brain. *Hosp. Pract.* (1995). 1999;34(7):31–32,35–38,41–42 passim. doi: 10.3810/hp.1999.07.153
11. Niesler B., Kuerten S., Demir I.E., Schäfer K.H. Disorders of the enteric nervous system – a holistic view. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021;18(6):393–410. doi: 10.1038/s41575-020-00385-2
12. Pawolski V., Schmidt M.H.H. Neuron–glia interaction in the developing and adult enteric nervous system. *Cells.* 2021;10(1):47. doi: 10.3390/cells10010047
13. Bassotti G., Villanacci V., Crețoiu D., Crețoiu S.M., Becheanu G. Cellular and molecular basis of chronic constipation: taking the functional/idiopathic label out. *World J. Gastroenterol.* 2013;19(26):4099–4105. doi: 10.3748/wjg.v19.i26.4099
14. Ghoshal U.C., Sachdeva S., Pratap N., Verma A., Karyampudi A., Misra A., Abraham P., Bhatia S.J., Bhat N., Chandra A., ... Venkataraman J. Indian consensus on chronic constipation in adults: A joint position statement of the Indian Motility and Functional Diseases Association and the Indian Society of Gastroenterology. *Indian J. Gastroenterol.* 2018;37(6):526–544. doi: 10.1007/s12664-018-0894-1
15. Tian Y., Wang L., Ye J.W., Zhang Y., Zheng H.C., Shen H.D., Li F., Liu B.H., Tong W.D. Defecation function and quality of life in patients with slow-transit constipation after colectomy. *World J. Clin. Cases.* 2020;8(10):1897–1907. doi: 10.12998/wjcc.v8.i10.1897
16. Wedel T., Roblick U., Gleiss J., Schiedeck T., Bruch H.P., Kuhnelt W., Krammer H.J. Organization of the enteric nervous system in the human colon demonstrated by wholemount immunohistochemistry with special reference to the submucous plexus. *Ann. Anat.* 1999;181(4):327–337. doi: 10.1016/S0940-9602(99)80122-8
17. Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Ромашенко П.Н., Самедов В.Б., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Иммуногистохимическое исследование симпатической иннервации кишки человека. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2022;(11):191–197. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-191-197
18. Chumasov E.I., Majstrenko N.A., Romashchenko P.N., Samedov V.B., Petrova E.S., Korzhevskij D.E. Immunohistochemical study of the sympathetic innervation of the colon in chronic slow-transit constipation. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2022;(11):191–197. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-191-197
19. Boesmans W., Lasrado R., Vanden Berghe P., Pachnis V. Heterogeneity and phenotypic plasticity of glial cells in the mammalian enteric nervous system. *Glia.* 2015;63(2):229–241. doi: 10.1002/glia.22746
20. Grundmann D., Loris E., Maas-Omlor S., Huang W., Scheller A., Kirchhoff F., Schäfer K.H. Enteric glia: S100, GFAP, and beyond. *Anat. Rec. (Hoboken).* 2019;302(8):1333–1344. doi: 10.1002/ar.24128
21. Ивашкин В.Т., Шельгин Ю.А., Маев И.В., Шептулин А.А., Алешин Д.В., Ачкасов С.И., Баранская Е.К., Куликова Н.Д., Лапина Т.Л., Москалев А.И., ... Шифрин О.С. Диагностика и лечение запора у взрослых. (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России). *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2020;30(6):69–85. doi: 10.22416/1382-4376-2020-30-6-69-85.
22. Ivashkin V.T., Shelygin Yu.A., Maev I.V., Sheptulin A.A., Aleshin D.V., Achkasov S.I., Baranskaya E.K., Kulikova N.D., Lapina T.L., Moskaev A.I., ... Shifrin O.S. Clinical recommendations of the Russian gastroenterological association and Association of coloproctologists of Russia on diagnosis and treatment of constipation in adults. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2020; 30(6): 69–85. [In Russian]. doi: 10.22416/1382-4376-2020-30-6-69-85
23. Самедов В.Б., Ромащенко П.Н., Ревин Г.О. Обоснование диагностического алгоритма и лечебной тактики у больных хроническим медленно-транзитным запором. *Вестн. Рос. воен.-мед. акад.* 2021;23(3):75–82. doi: 10.17816/brmma74259
24. Samedov V.B., Romashchenko P.N., Revin G.O. Justification of the diagnostic algorithm and treatment strategies in patients with severe chronic slow-transit constipation. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2021;23(3):75–82. [In Russian]. doi: 10.17816/brmma74259
25. Barberio B., Judge C., Savarino E.V., Ford A.C. Global prevalence of functional constipation according to the Rome criteria: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021;6(8):638–648. doi: 10.1016/S2468-1253(21)00111-4
26. Bharucha A.E., Wald A. Chronic constipation. *Mayo Clinic. Proceedings.* 2019;94(11):2340–2357. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.01.031

24. Лазебник Л.Б., Туркина С.В., Голованова Е.В., Ардатская М.Д., Остроумова О.Д., Комиссаренко И.А., Корочанская Н.В., Козлова И.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., ... Шемеровский К.А. Запоры у взрослых. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2020;(3):10–33. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-10-33
- Lazebnik L.B., Turkina S.V., Golovanova E.V., Ardatkaya M.D., Ostroumova O.D., Komissarenko I.A., Korochanskaya N.V., Kozlova I.V., Uspenskiy Yu.P., Fominyh Yu.A., ... Shemerovskiy K.A. Constipation in adults. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2020;(3):10–33. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-10-33
25. Valès S., Tuvron M., van Landeghem L. Enteric glia: Diversity or plasticity? *Brain Res.* 2018;1693 (Pt B):140–145. doi: 10.1016/j.brainres.2018.02.001
26. Rosenberg H.J., Rao M. Enteric glia in homeostasis and disease: From fundamental biology to human pathology. *iScience.* 2021;24(8):102863. doi: 10.1016/j.isci.2021.102863
27. Gulbransen B.D., Sharkey K.A. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012;9(11):625–632. doi: 10.1038/nrgastro.2012.138
28. Sasselli V., Pachnis V., Burns A.J. The enteric nervous system. *Dev. Biol.* 2012;366(1):64–73. doi: 10.1016/j.ydbio.2012.01.012
29. Lake J.I., Heuckeroth R.O. Enteric nervous system development: Migration, differentiation, and disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2013;305(1):G1–G24. doi: 10.1152/ajpgi.00452.2012
30. Schuchardt A., d'Agati V., Larsson-Blomberg L., Costantini F., Pachnis V. Defects in the kidney and enteric nervous system of mice lacking the tyrosine kinase receptor Ret. *Nature.* 1994;367(6461):380–383. doi: 10.1038/367380a0
31. Enomoto H., Araki T., Jackman A., Heuckeroth R.O., Snider W.D., Johnson E.M. Jr., Milbrandt J. GFR alpha1-deficient mice have deficits in the enteric nervous system and kidneys. *Neuron.* 1998;21(2):317–324. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80541-3
32. Чумасов Е.И. Морфогенез тканей центральной и периферической нервной системы в условиях культивирования и трансплантации: автореф. дис... докт. мед. наук. Ленинград, 1981.
- Chumasov E.I. Morphogenesis of tissues of the central and peripheral nervous system under conditions cultivation and transplants: abstract of thesis... doct. med. sciences. Leningrad, 1981. [In Russian].
33. Ricci G., Volpi L., Pasquali L., Petrozzi L., Siciliano G. Astrocyte-neuron interactions in neurological disorders. *J. Biol. Phys.* 2009;35(4):317–336. doi: 10.1007/s10867-009-9157-9
34. Sofroniew M.V., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010;119(1):7–35. doi: 10.1007/s00401-009-0619-8

Информация об авторах:

Чумасов Евгений Иванович, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0003-4859-6766, e-mail: ualct@mail.ru
Майстренко Николай Анатольевич, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: nik.m.47@mail.ru
Ромашенко Павел Николаевич, д.м.н., проф., член-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: romashchenko@rambler.ru
Самедов Вадим Бейбалаевич, ORCID: 0000-0002-4002-6913, e-mail: samedov07@rambler.ru
Петрова Елена Сергеевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-0972-8658, e-mail: iemmorphol@yandex.ru
Коржевский Дмитрий Эдуардович, д.м.н., проф. РАН, ORCID: 0000-0002-2456-8165, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Information about the authors:

Evgeny I. Chumasov, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0003-4859-6766, e-mail: ualct@mail.ru
Nikolay A. Maistrenko, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: nik.m.47@mail.ru
Pavel N. Romashchenko, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: romashchenko@rambler.ru
Vadim B. Samedov, ORCID: 0000-0002-4002-6913, e-mail: samedov07@rambler.ru
Elena S. Petrova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-0972-8658, e-mail: iemmorphol@yandex.ru
Dmitry E. Korzhevskii, doctor of medical sciences, professor of the RAS, ORCID: 0000-0002-2456-8165, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.06.2023
После доработки 28.08. 2023
После повторной доработки 14.10.2023
Принята к публикации 16.10.2023

Received 07.06.2023
Revision received 28.08. 2023
Second revision received 14.10.2023
Accepted 16.10.2023

Фенотипические особенности клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки

Е.Л. Строкова¹, Н.Ю. Пахомова¹, А.И. Шевченко², А.А. Корыткин¹, В.В. Кожевников¹,
А.М. Зайдман¹

¹ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии имени Я.Л. Цивьяна Минздрава России
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

Резюме

Воронкообразная деформация грудной клетки – тяжелое заболевание с неустановленной этиологией и патогенезом. Патологические изменения, происходящие в хрящевой ткани ребер, являются одним из ведущих механизмов развития искривления грудной клетки. Анализ фенотипических особенностей клеток, выделенных из места локализации патологического процесса, позволит создать более полную картину формирования деформации. Цель исследования – идентифицировать фенотип клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки. **Материал и методы.** Клетки реберного хряща детей с воронкообразной деформацией грудной клетки культивировали до 2–3-го пассажа, затем идентифицировали гистохимическими и иммуногистохимическими методами. **Результаты и их обсуждение.** Выявлены клетки двух разных фенотипов. Первый тип – хондробласты овальной и полигональной формы, экспрессирующие маркер хондрогенной дифференцировки. Второй тип – клетки нейрального фенотипа с экспрессией ранних нейральных маркеров Musashi1 и PAX6 и нейроспецифичного белка III β -тубулина, а также субстанции Ниссля. **Заключение.** Анализ фенотипических особенностей клеток реберного хряща при воронкообразном искривлении грудной клетки позволил расширить представление о возможном этиологическом факторе формирования деформации.

Ключевые слова: воронкообразная деформация грудной клетки, культура клеток.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Строкова Е.Л., e-mail: estroкова-1985-10-14@mail.ru

Для цитирования: Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Шевченко А.И., Корыткин А.А., Кожевников В.В., Зайдман А.М. Фенотипические особенности клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):203–209. doi: 10.18699/SSMJ20230625

Phenotypic features of rib cartilage cells in funnel-shaped chest deformity

E.L. Stroková¹, N.Yu. Pakhomova¹, A.I. Shevchenko², A.A. Korytkin¹, V.V. Kozhevnikov¹,
A.M. Zaidman¹

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsivyan of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Frunze st., 17

² Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS
630090, Novosibirsk, Akademika Lavrentieva ave., 10

Abstract

Funnel-shaped deformity of the chest is a serious disease with an unknown etiology and pathogenesis. Pathological changes occurring in the cartilaginous tissue of the ribs are one of the leading mechanisms for the development of chest curvature. Analysis of the phenotypic features of cells isolated from the site of localization of the pathological process will create a more complete picture of the deformation development. Aim of the study was to identify the phenotype of rib cartilage cells in funnel-shaped deformity of the thorax. **Material and methods.** Rib cartilage cells of children with funnel-shaped chest deformity were cultured up to the 2–3rd passage, then were identified by histochemical and

immunohistochemical methods. **Results and discussion.** The study revealed cells of two different phenotypes. The first type is oval and polygonal chondroblasts expressing a marker of chondrogenic differentiation. The second type is the cells of the neural phenotype with the expression of early neural markers Musashi1 and PAX6 and the neurospecific protein III β -tubulin, as well as the substance Nissl. **Conclusions.** The analysis of the phenotypic features of rib cartilage cells with funnel-shaped curvature of the chest allowed us to expand the idea of a possible etiological factor in the deformation development.

Key words: funnel-shaped chest deformity, cell culture.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Stroková E.L., e-mail: estroková-1985-10-14@mail.ru

Citation: Stroková E.L., Pakhomova N.Yu., Shevchenko A.I., Korytkin A.A., Kozhevnikov V.V., Zaidman A.M. Phenotypic features of rib cartilage cells in funnel-shaped chest deformity. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):203–209. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230625

Введение

Воронкообразная деформация грудной клетки (ВДГК, *pectus excavatum*, впалая грудь, чашковидная грудь, грудь сапожника) – одна из наиболее распространенных врожденных деформаций передней грудной стенки, представляющая собой различное по глубине и форме западение грудинно-реберного комплекса внутрь грудной клетки. В патологический процесс вовлекаются грудина и хрящевые отделы ребер [1]. Искривление грудной клетки является тяжелым заболеванием, приводящим к развитию кардиореспираторных нарушений и ухудшению функционального состояния всего организма [2]. Патология сопровождается грубыми косметическими дефектами, оказывающими значительное влияние на качество жизни пациента и нередко являющимися причиной значительного стресса [3–5].

ВДГК составляет 90 % от общего числа всех врожденных патологий грудной клетки. Частота встречаемости аномалии составляет 1–8 случаев на 1000 новорожденных, т.е. от 0,6 до 2,3 % населения. Заболевание у мальчиков диагностируется в 3–4 раза чаще, чем у девочек. Искривление грудной клетки начинает проявляться в период новорожденности. В процессе роста ребенка степень деформации увеличивается [2, 3]. Остановить прогрессирование заболевания не представляется возможным. В настоящее время не существует способов его консервативного лечения, единственным методом является хирургическое исправление дефекта [5].

Этиология развития ВДГК в настоящее время неизвестна. Ретроспективные исследования указывают на генетическую причину, лежащую в основе формирования искривления [1]. В качестве этиологического фактора развития дефекта грудной клетки рассмотрен чрезмерный рост реберного хряща и самих ребер. Представленные в современной научной литературе результаты исследований в данной области противоречивы и зависят от используемого метода и анализиру-

емого компонента [6, 7]. Остается также открытым вопрос о том, какие нарушения являются первичными, а какие представляют собой следствие деформации грудной стенки. Таким образом, отсутствует консенсус относительно точного механизма вдавления грудины внутрь грудной клетки. Большинство исследователей сходятся во мнении, что первичный дефект, приводящий к деформации передней стенки грудной клетки, связан со структурой и функцией реберного гиалинового хряща [5]. Изменения хрящевой ткани ребер являются морфологическим субстратом западения грудины [8].

Анализ литературных данных по изучению структурно-функциональных особенностей реберного хряща показал, что при ВДГК происходят изменения хрящевой ткани на уровне клеток и матрикса [3]. Однако представленные в литературе результаты исследований не позволяют сформировать полную картину течения патологического процесса. Структурные нарушения реберного хряща изучены недостаточно, а полученные данные неоднозначны и зачастую противоречивы [3]. Существуют сведения об отсутствии различий в структуре реберного хряща по сравнению с нормой [9, 10]. При ВДГК не наблюдалось признаков гипо- или гиперплазии хрящевой ткани и участков некроза, не обнаружено различий в строении и расположении хондроцитов, структуре протеогликанов и коллагена II типа. Детектировано лишь неравномерное распределение коллагена II типа в глубокой зоне. Однако представлены и прямо противоположные данные. В одной работе [11] показано наличие некрозов, дегенерации матрикса и увеличение количества клеток. Другое гистологическое исследование реберного хряща также установило выраженные дистрофические и дегенеративные изменения [12]. Изучение лакун и каналов реберного хряща выявило тенденцию к преобладанию пустых лакун, уменьшение количества хрящевых лакун и частоты гиперлакунарных зон на фоне увеличения гиполакунарных зон [13].

Таким образом, несмотря на всесторонние обследования пациентов с ВДГК, по-прежнему не ясны этиология и патогенез рассматриваемого заболевания. В современной научной литературе представлены противоречивые данные о структурных особенностях реберного хряща, отсутствуют работы по культивированию клеток хрящевой части ребер пациентов с данной патологией. В то же время исследователи сходятся во мнении, что патологические изменения, происходящие в реберном хряще, являются одним из ведущих механизмов развития дефекта грудной клетки [3, 14]. Анализ фенотипических особенностей клеток, выделенных из места локализации патологического процесса, позволит создать более полную картину формирования деформации.

Цель исследования – идентифицировать фенотип клеток реберного хряща при ВДГК.

Материал и методы

Образцы ткани хрящевой части 6-го ребра получены в клинике детской ортопедии Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии от пяти детей с ВДГК II–III степени. Пациентам (3 мальчика, 2 девочки) в возрасте 12–16 лет была выполнена малоинвазивная торакопластика по Нассу. Ключевым критерием включения пациента в исследование явился основной диагноз ребенка – впадая грудь (по МКБ-10: Q67.6 – впадая грудь или врожденная воронкообразная грудь). Разрешение на проведение исследования получено на заседании Локального этического комитета Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии (выписка 023/21 из протокола № 009/21 от 06.12.2021).

Гиалиновый хрящ 6-го ребра отмывали в фосфатно-солевом буфере (PBS), измельчали до размеров 1–2 мм² и помещали в раствор 1,5%-й коллагеназы, инкубировали при температуре 37 °C в течение 18–20 ч. Полученную суспензию клеток пропускали через нейлоновый фильтр и осаждали клетки центрифугированием в течение 10 мин при 2000 об/мин. Определяли общее количество клеток с помощью автоматического счетчика Countess 3 FL (Thermo Fisher Scientific, США).

Выделенные клетки культивировали в среде DMEM F12 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки, стрептомицина и пенициллина (×250) в условиях CO₂-инкубатора при 37 °C в пластиковых флаконах (25 см²) до 2–3 пассажей. Прижизненную съемку клеток выполняли на инвертированном микроскопе (AmScope, США) ×40–900 с цифровой камерой. Для проведения гистохимического исследования на дно чашки Петри (d 60 см) укладывали покровные стекла, после формирования монослоя клетки на стекле

фиксируют в 4%-м растворе формалина, окрашивали гематоксилином и эозином и по Нисслю. Фотосъемку выполняли на микроскопе Olympus CX 43 (Olympus Corporation, Япония) с помощью цифровой камеры Olympus UC90. Для иммуногистохимического исследования клетки культивировали на 48-луночных планшетах и фиксировали в 4%-м растворе формалина в течение 10 мин, затем отмывали от формалина PBS и помещали в 4%-й раствор тритона X100. Через 15 мин вновь промывали в растворе PBS в течение 30 мин и проводили гибридизацию раствором бычьего сывороточного альбумина во влажной камере в течение 30 мин. Клетки инкубировали с антителами к III β-тубулину TUJ1 (Covance (США), мышинные моноклональные, разведение 1:1000), к PAX6 (Abcam (Великобритания), мышинные моноклональные, разведение 1:50), к Musashil (Abcam, кроличьи поликлональные, разведение 1:200) и к коллагену II типа (Abcam, мышинные моноклональные, разведение 1:100) при температуре 4 °C в течение ночи. Первую локализацию антител визуализировали с использованием соответствующих вторичных антител IgG кролика или мыши, конъюгированных с флуоресцентными красителями Alexa 488 или Alexa 568 (Life Technologies, США). Ядра окрашивали DAPI (Vector Laboratories, США). Съемку окрашенных слайдов производили с помощью микроскопа Nikon Ti-E (Nikon, Япония), используя программное обеспечение NIS-Elements.

Результаты и их обсуждение

В норме реберный хрящ представлен гиалиновым хрящом, образующим передние концы ребер, структуру которого составляет преобладающий по объему межклеточный матрикс и хондроциты разной степени дифференцировки [3]. Клетки, выделенные из хрящевой части 6-го ребра при ВДГК, на 7–10 день культивирования формировали монослой (рис. 1, а). Основную часть монослоя составили клетки округлой, овальной и полигональной формы, образующие между собой связи. Крупные ядра с 1–2 ядрышками и диспергированным хроматином располагались в центре клетки или ближе к цитоплазматической мембране. Прижизненная съемка и гистохимическое исследование (окрашивание гематоксилином и эозином) позволили идентифицировать клетки подобного фенотипа как хондробласты и хондроциты (см. рис. 1, а). Иммуногистохимическим методом выявлена их положительная реакция на антитела к коллагену II типа как одному из основных маркеров хрящевой ткани [15]. Коллаген II типа расположен в цитоплазме клеток и наиболее

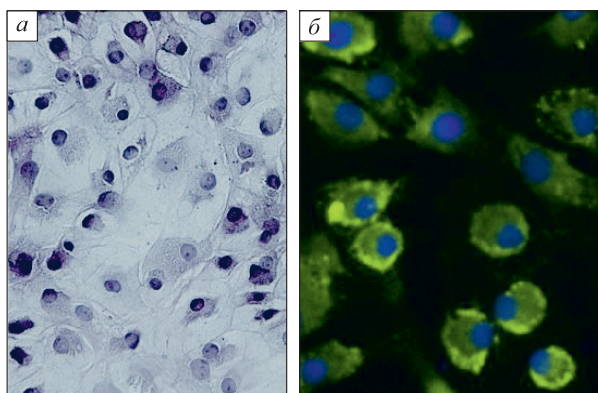


Рис. 1. Культура клеток, выделенных из реберного хряща при ВДГК, 2-й пассаж культивирования: а – окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$, б – иммуногистохимическая реакция с антителами к коллагену II типа (зеленый цвет), ядра клеток визуализированы DAPI (синий цвет), $\times 100$

Fig. 1. Culture of cells isolated from rib cartilage during funnel-shaped deformation of the chest, 2nd passage of cultivation: a – hematoxylin and eosin staining, $\times 40$, б – immunohistochemical reaction with antibodies to type II collagen (green), cell nuclei are visualized by DAPI (blue), $\times 100$

интенсивно экспрессировался ближе к цитоплазматической мембране (рис. 1, б).

Среди выделенных из хрящевой части ребер и фенотипически отождествленных как относящиеся к хондрогенному ряду выявлены крупные клетки с одним длинным или многочисленными короткими разветвленными цитоплазматическими отростками (рис. 2, а). Клетки данного типа на дне культуральной посуды в большинстве случаев располагались на некотором отдалении от хондробластов и не формировали контактов с последними. Количество клеток подобного фенотипа увеличивалось с возрастанием пассажа, на первом пассаже отмечались единичные клетки, на 2–3-м пассаже их число повышалось (рис. 2, б). В центре клеток униполярной, биполярной и мультиполярной формы располагалось крупное круглое ядро с 1–2 ядрышками. Клетки звездчатой формы с большим количеством отростков с клетками подобной формы на 3-м пассаже формировали множественные контакты на уровне как отростков, так и тел клеток. Таким образом, межклеточные контакты и фенотип кле-

ток свидетельствовали об их нейральном генезе. Для определения природы данных клеток проведено гистохимическое исследование по Нисслю, позволяющее выявить глыбки хроматофильной субстанции в теле и дендритах нервных клеток [16]. Окрашивание показало, что в цитоплазме и отростках клеток нейрального фенотипа локализовалась субстанция Ниссля (рис. 2, в). В окружающих клетках, идентифицированных как хондробласты, позитивного окрашивания по Нисслю не наблюдалось.

Нейральная природа клеток с одним длинным отростком и многочисленными короткими была исследована иммуногистохимическим методом на предмет наличия соответствующих маркеров. Musashi1 (MSI1) – РНК-связывающий белок, кодируемый геном *MSI1* и преимущественно экспрессирующийся в нервной системе, служит в качестве маркера недифференцированных нейральных клеток-предшественников, в том числе нейральных стволовых клеток [17]. Выделенные из реберного хряща и культивируемые до 2-го пассажа нейроноподобные клетки и их от-

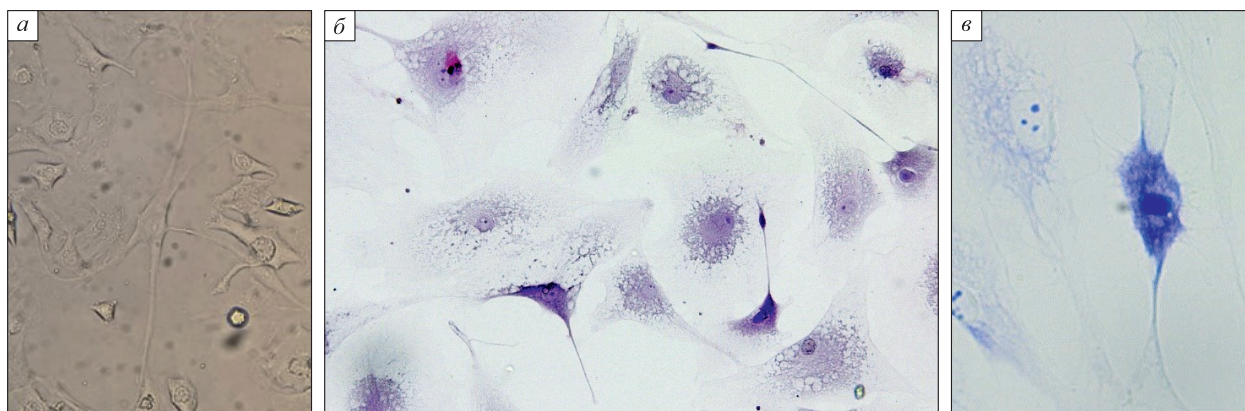


Рис. 2. Культура клеток, выделенных из реберного хряща при ВДГК, 2-й пассаж культивирования: а – прижизненная съемка, $\times 100$; б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$; в – окраска по Нисслю, $\times 60$

Fig. 2. Culture of cells isolated from rib cartilage during funnel-shaped deformation of the chest, 2nd passage of cultivation: а – lifetime survey, $\times 100$; б – hematoxylin and eosin staining, $\times 60$; в – Nissl staining, $\times 60$

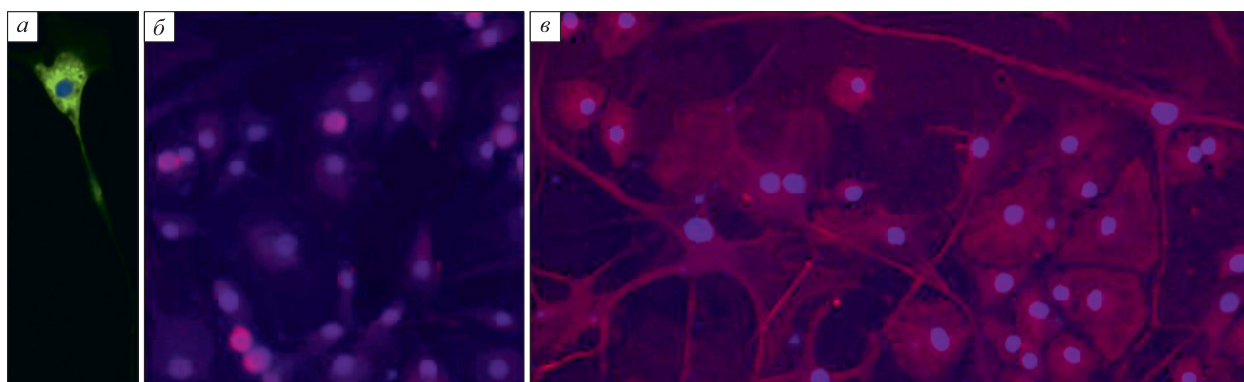


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Musashi1 (а, зеленый цвет), PAX6 (б, красный цвет) и к III β -тубулину (в, красный цвет) в ядрах и цитоплазме клеток реберного хряща при ВДГК; ядра клеток визуализированы DAPI (синий); а, б – 2-й пассаж культивирования, $\times 100$, в – 3-й пассаж культивирования, $\times 60$

Fig. 3. Immunohistochemical reaction with antibodies to Musashi1 (a, green), PAX6 (b, red) and III β -tubulin (v, red) in the nuclei and cytoplasm of rib cartilage cells in funnel-shaped deformation of the chest; cell nuclei are visualized by DAPI (blue); а, б – 2nd cultivation passage, $\times 100$, в – 3rd cultivation passage, $\times 60$

ростки позитивно окрашивались на Musashi1 (рис. 3, а). В ядрах клеток данного фенотипа также экспрессировался другой ранний нейральный маркер – PAX6 (рис. 3, б). Транскрипционный фактор PAX6 играет ключевую роль в стимулировании эмбрионального нейрогенеза, регулируя когорты генов, которые способствуют самообновлению нейральных стволовых клеток и генезу базальных клеток-предшественников. PAX6 интенсивно экспрессируется в этих клетках на начальной стадии развития центральной нервной системы и в постнатальном периоде [18]. В окружающих нейральные клетки хондробластах экспрессии PAX6 не детектировано (см. рис. 3, б).

Иммуногистохимическая реакция выявила позитивное окрашивание цитоплазмы клеток звездчатой формы и их отростков на поздний нейральный маркер III β -тубулин (рис. 3, в). III β -тубулин (TUBB3) – специфичный для нервной ткани белок тубулин с множеством изоформ, является установленным маркером пролиферативных и терминально дифференцированных нейронов. Одним из основных факторов, определяющих экспрессию TUBB3, является то, что он находится в клетках, которые либо дифференцируются в нейроны, либо уже стали ими. Известно, что TUBB3 локализуется совместно с маркерами нервного гребня до перехода последнего от эпителия к мезенхиме и поддерживается в ранних и поздних мигрирующих клетках нервного гребня [19].

Таким образом, культивирование клеток, выделенных из хрящевой ткани ребер при ВДГК, выявило клетки двух разных фенотипов. Первый тип, клетки овальной, округлой или полигональ-

ной формы, формирующие монослой, идентифицированы как хондробласты. Их хондрогенная природа подтверждается позитивным окрашиванием на антитела к коллагену II типа на фоне отсутствия положительной реакции на нейральные маркеры и окрашивание по Нисслю. Второй тип, клетки униполярной и биполярной формы с 1–2 длинными отростками, а также мультиполярные клетки, характеризовались принадлежностью к нейральному фенотипу. Об их нейральной природе свидетельствует экспрессия ранних нейральных маркеров Musashi1 и PAX6 и нейроспецифичного белка III β -тубулина, а также субстанции Ниссля. Принадлежность к тому или иному фенотипу подтверждается иммуногистохимическим окрашиванием, согласующимся с гистохимическими данными по идентификации клеток.

Фактические результаты культивирования клеток указывают на наличие клеток нейрального фенотипа в хрящевой части ребер у детей с ВДГК. Следовательно, возникает вопрос: как в гиалиновом хряще ребер могут быть локализованы клетки нейрального фенотипа? Для ответа на этот вопрос представляется возможным сравнение исследуемой патологии грудной клетки с другим сложным заболеванием – идиопатическим сколиозом. Показано, что при сколиотической болезни происходит эктопическая локализация клеток нейрального генеза в пластинках роста тел позвонков, реализующаяся в формировании деформации позвоночника [20, 21]. Поскольку позвоночник и ребра в эмбриогенезе развиваются из склеротома, образующегося из нижней внутренней части первичного сегмента (сомита), можно высказать предположение об общей при-

роде рассматриваемых патологий. Вероятно, при ВДГК, также, как и при идиопатическом сколиозе, нарушение миграции клеток нервного гребня приводит к их частичному депонированию в сомите. Локализация в зачатках ребер клеток нервного гребня, генетически не детерминированных к хондрогенной дифференцировке, в постнатальном периоде вызывает локальное нарушение роста, реализующееся в развитие деформации. Предложенная гипотеза согласуется с представленными в современной научной литературе данными о структурно-функциональных особенностях реберного хряща: наличие дегенеративных и дистрофических изменений, уменьшение количества хрящевых лакун и тенденция к преобладанию пустых лакун [12, 13].

Заключение

ВДГК – тяжелое заболевание с неустановленной этиологией и патогенезом. В научной литературе представлены неоднозначные и противоречивые результаты о структурных особенностях реберного хряща при данной патологии. В настоящее время отсутствует комплексный подход, учитывающий взаимосвязь структурно-функциональных изменений хрящевой части ребер с формированием деформации. Между тем патологические процессы, происходящие в реберном хряще, являются одним из ведущих механизмов развития дефекта грудной клетки. В проведенном исследовании представлены первые результаты культивирования клеток реберного хряща у пациентов с впалой грудью. В хрящевой ткани ребер на фоне клеток хондрогенной дифференцировки выявлены клетки нейрального фенотипа. В цитоплазме униполярных, биполярных и мультиполярных клеток визуализировалась субстанция Ниссля. О нейральной природе исследуемых клеток свидетельствовала экспрессия нейральных маркеров Musashi1, PAX6 и III β -тубулина. Предложенная гипотеза о роли клеток нервного гребня в формировании патологии грудной клетки является предварительной, исследования продолжаются.

Список литературы / References

1. Kloth K., Klohs S., Bhullar J., Boettcher M., Hempel M., Trah J., Reinshagen K. The epidemiology behind pectus excavatum: clinical study and review of the literature. *Eur. J. Pediatr. Surg.* 2022;32(4):316–320. doi: 10.1055/s-0041-1729898
2. Kurkov A., Guller A., Fayzullin A., Fayzulina N., Plyakin V., Kotova S., Timashev P., Frolova A., Kurtak N., Paukov V., Shekhter A. Amianthoid transformation of costal cartilage matrix in children with pectus excavatum and pectus carinatum. *PLoS*

One. 2021;16(1):e0245159. doi: 10.1371/journal.pone.0245159

3. Курков А.В., Шехтер А.Б., Пауков В.С. Структурные и функциональные изменения реберных хрящей при воронковидной и килевидной деформации грудной клетки у детей. *Арх. патол.* 2017;79(5):57–62. doi: 10.17116/patol201779557-62

Kurkov A.V., Shekhter A.B., Paukov V.S. Costal cartilage structural and functional changes in children with a funnel or keeled chest: A literature review. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology.* 2017;79(5):57–62. [In Russian]. doi: 10.17116/patol201779557-62

4. Bhatnagar V., Sharma N., Dhua A., Jana M. Surgical correction of pectus excavatum using a rib graft strut following excision of costal cartilages. *J. Indian Assoc. Pediatr. Surg.* 2019;24(4):252–256. doi: 10.4103/jiaps.JIAPS_68_18

5. David V.L. Current concepts in the etiology and pathogenesis of pectus excavatum in humans-A systematic review. *J. Clin. Med.* 2022;11(5):1241. doi: 10.3390/jcm11051241

6. Park C.H., Kim T.H., Haam S.J., Lee S. Asymmetric pectus excavatum is associated with overgrowth of ribs Rather than cartilage. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015;63(5):427–432. doi: 10.1055/s-0034-1395394

7. David V.L., Cerbu S., Haragus H., Popoiu M.C., Stanculescu C.M., Cozma G., Burlacu O., Boia E.S. Costal cartilages do not overgrow in patients with pectus excavatum. *Med. Princ. Pract.* 2016;25(6):533–538. doi: 10.1159/000449133

8. Бардахчян Э.А., Чепурной Г.И., Шамик В.Б. Особенности ультраструктурных изменений реберного хряща детей при различных деформациях грудной клетки. *Арх. патол.* 2002;64(5):40–45.

Bardakhchyan E.A., Chepurnoy G.I., Shamik V.B. Features of ultrastructural changes in the rib cartilage of children with various deformities of the chest. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology.* 2002;64(5):40–45. [In Russian].

9. Feng J., Hu T., Liu W., Zhang S., Tang Y., Chen R., Jiang X., Wei F. The biomechanical, morphologic, and histochemical properties of the costal cartilages in children with pectus excavatum. *J. Pediatr. Surg.* 2001;36(12):1770–1776. doi: 10.1053/jpsu.2001.28820

10. Tocchioni F., Ghionzoli M., Calosi L., Guasti D., Romagnoli P., Messineo A. Rib cartilage characterization in patients affected by pectus excavatum. *Anat. Rec. (Hoboken).* 2013;296(12):1813–1820. doi: 10.1002/ar.22824

11. Fokin A.A., Steuerwald N.M., Ahrens W.A., Allen K.E. Anatomical, histologic, and genetic characteristics of congenital chest wall deformities. *Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2009;21(1):44–57. doi: 10.1053/j.semtcvs.2009.03.001

12. Рузикулов У.Ш., Нурмухамедов Х.К. Морфологические особенности в тканях грудинно-

реберного комплекса у детей при воронкообразной деформации грудной клетки. *Травматология және ортопедия*. 2020;(3):24–30. doi: 10.52889/1684-9280-2020-3-53-24-30

Ruzikulov U.Sh., Nurmukhamedov Kh.K. Morphological features in the tissues of the sternal-rib complex in children with funnel chest deformation. *Travmatologiya zhane ortopediya = Traumatology and Orthopaedics*. 2020;(3):24–30. [In Russian]. doi: 10.52889/1684-9280-2020-3-53-24-30

13. Курков А.В., Пауков В.С., Файзуллин А.Л., Шехтер А.Б. Изменения реберного хряща при воронковидной и килевидной деформации грудной клетки у детей. *Арх. патол.* 2018;80(5):8–15. doi: 10.17116/patol2018800518

Kurkov A.V., Paukov V.S., Fayzullin A.L., Shekhter A.B. Costal cartilage changes in children with pectus excavatum and pectus carinatum. *Arkiv patologii = Archive of Pathology*. 2018;80(5):8–15. [In Russian]. doi: 10.17116/patol2018800518

14. Cobben J.M., Oostra R.J., van Dijk F.S. Pectus excavatum and carinatum. *Eur. J. Med. Genet.* 2014;57(8):414–417. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.04.017

15. Luo Y., Sinkeviciute D., He Y., Karsdal M., Henriksen Y., Mobasheri A., Önnérfjord P., Bay-Jensen A. The minor collagens in articular cartilage. *Protein Cell.* 2017;8(8):560–572. doi: 10.1007/s13238-017-0377-7

16. Carriel V., Campos A., Alaminos M., Raimondo S., Geuna S. Staining methods for normal and regenerative myelin in the nervous system. *Methods Mol. Biol.* 2017;1560:207–218. doi: 10.1007/978-1-4939-6788-9_15

17. Tomita Y., Matsumura K., Wakamatsu Y., Matsuzaki Y., Shibuya I., Kawaguchi H., Ieda M., Kanakubo S., Shimazaki T., Ogawa S., Osumi N., Okano H., Fukuda K. Cardiac neural crest cells contribute to the dormant multipotent stem cell in the mammalian heart. *J. Cell. Biol.* 2005;170(7):1135–1146. doi: 10.1083/jcb.200504061

18. Osumi N., Shinohara H., Numayama-Tsuruta K., Maekawa M. Concise review: Pax6 transcription factor contributes to both embryonic and adult neurogenesis as a multifunctional regulator. *Stem. Cells.* 2008;26(7):1663–1672. doi: 10.1634/stemcells.2007-0884

19. Chacon J., Rogers C.D. Early expression of Tubulin Beta-III in avian cranial neural crest cells. *Gene Expr. Patterns.* 2019;34:119067. doi: 10.1016/j.gep.2019.119067

20. Zaydman A.M., Stroková E.L., Kiseleva E.V., Suldina L.A., Strunov A.A., Shevchenko A.I., Laktionov P.P., Subbotin V.M. A new look at etiological factors of idiopathic scoliosis: neural crest cells. *Int. J. Med. Sci.* 2018;15(5):436–446. doi:10.7150/ijms.22894

21. Zaydman A.M., Stroková E.L., Pahomova N.Y., Gusev A.F., Mikhaylovskiy M.V., Shevchenko A.I., Zaidman M.N., Shilo A.R., Subbotin V.M. Etiopathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: review of the literature and new epigenetic hypothesis on altered neural crest cells migration in early embryogenesis as the key event. *Med. Hypotheses.* 2021;151:110585. doi: 10.1016/j.mehy.2021.110585

Сведения об авторах:

Строкова Елена Леонидовна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-5789-6982, e-mail: estroкова-1985-10-14@mail.ru

Пахомова Наталья Юрьевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9575-4096, e-mail: ssi-proekt@mail.ru

Шевченко Александр Игоревич, к.б.н., ORCID: 0000-0001-6535-1627, e-mail: epigene@bionet.nsc.ru

Корыткин Андрей Александрович, к.м.н., ORCID: 0000-0001-9231-5891, e-mail: andrey.korytkin@gmail.com

Кожевников Вадим Витальевич, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2556-3347, e-mail: vadim-barnaul@bk.ru

Зайдман Алла Михайловна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-6613-1615, e-mail: zaydmanam@gmail.com

Information about the authors:

Elena L. Stroková, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-5789-6982, e-mail: estroкова-1985-10-14@mail.ru

Natalya Yu. Pakhomova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9575-4096, e-mail: ssi-proekt@mail.ru

Alexander I. Shevchenko, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-6535-1627, e-mail: epigene@bionet.nsc.ru

Andrey A. Korytkin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-9231-5891, e-mail: andrey.korytkin@gmail.com

Vadim V. Kozhevnikov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2556-3347, e-mail: vadim-barnaul@bk.ru

Alla M. Zaidman, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-6613-1615, e-mail: zaydmanam@gmail.com

Поступила в редакцию 08.06.2023

После доработки 22.08.2023

Принята к публикации 25.09.2023

Received 08.06.2023

Revision received 22.08.2023

Accepted 25.09.2023

Изучение различных групп регуляторных молекул при беременности на фоне хронического пиелонефрита

В.И. Щербаков, О.О. Обухова, Т.И. Рябиченко, Г.А. Скосырева, О.М. Горбенко, Т.Г. Косьянова

ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Резюме

Наличие инфекционно-воспалительного процесса у беременной может приводить к нарушению в системе «мать – плацента – плод». Цель работы – изучить уровень регуляторных и провоспалительных молекул при беременности, протекающей на фоне хронического пиелонефрита вне обострения. **Материал и методы.** В сыворотке крови беременных при сроке гестации 36–40 недель определяли концентрацию ИЛ-17А, моноцитарного хемотаксического протеина-1 (МХП-1), фактора роста эндотелия сосудов (СЭФР), аутоантител класса IgG к двухцепочечной ДНК (ААТ к нДНК) методом твердофазного ИФА. **Результаты.** Показано, что в третьем триместре беременности, протекающей на фоне хронического пиелонефрита вне обострения, по сравнению с нормально протекающей беременностью уровень МХП-1, ИЛ-17А повышается, содержание СЭФР снижается, концентрация ААТ к нДНК не изменяется. Увеличение уровня провоспалительного цитокина ИЛ 17А и снижение содержания СЭФР могут приводить к внутриматочной задержке роста плода за счет торможения работы аминокислотных транспортеров в плаценте. **Заключение.** При беременности, протекающей на фоне хронического пиелонефрита вне обострения, изменения уровня ИЛ17А, МХП-1, СЭФР может оказывать значительное влияние на ход беременности.

Ключевые слова: беременность, пиелонефрит, иммунная система, цитокины.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Щербаков В.И., e-mail: shcherbakov_VI@mail.ru

Для цитирования: Щербаков В.И., Обухова О.О., Рябиченко Т.И., Скосырева Г.А., Горбенко О.М., Косьянова Т.Г. Изучение различных групп регуляторных молекул при беременности на фоне хронического пиелонефрита. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):210–214. doi: 10.18699/SSMJ20230626

Study of various groups of regulatory molecules during pregnancy against the background of chronic pyelonephritis

V.I. Shcherbakov, O.O. Obukhova, T.I. Ryabichenko, G.A. Skosyрева, O.M. Gorbenko, T.G. Kosyanova

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakova st., 2

Abstract

The presence of infectious inflammatory process in a pregnant woman can lead to a disorder in the “mother – placenta – fetus” system. Aim of the study was to investigate the level of regulatory and pro-inflammatory molecules in pregnancy occurring against the background of chronic pyelonephritis without exacerbation. **Material and methods.** The concentration of IL-17A, monocytic chemotactic protein-1 (MCP-1), vascular endothelial growth factor (VEGF), and IgG autoantibodies to double-stranded DNA (AAT to nDNA) was determined in the blood serum of pregnant women with a gestation period of 36–40 weeks using ELISA. **Results.** It has been shown that in the third trimester of pregnancy occurring against the background of chronic pyelonephritis without exacerbation, compared with a normal pregnancy, the level of MHP-1 and IL-17A increases, the content of VEGF decreases, and the concentration of AAT to nDNA does not change significantly. An increase in the proinflammatory cytokine IL17A and a decrease in VEGF level can lead to intrauterine fetal growth retardation due to inhibition of amino acid transporters in the placenta.

Conclusions. In pregnancy occurring against the background of chronic pyelonephritis without exacerbation, a change in the level of IL17A, MCP-1, VEGF can have a significant impact on the course of pregnancy.

Key words: pregnancy, pyelonephritis, immune system, cytokines.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Shcherbakov V.I., e-mail: shcherbakov_VI@mail.ru

Citation: Shcherbakov V.I., Obukhova O.O., Ryabichenko T.I., Skosyreva G.A., Gorbenko O.M., Kosyanova T.G. Study of various groups of regulatory molecules during pregnancy against the background of chronic pyelonephritis. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):210–224. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230626

Введение

Наличие у женщин во время беременности хронических инфекционно-воспалительных заболеваний может приводить к дисбалансу в системе «мать–плацента–плод», инициировав изменения в механизмах реализации программы внутриутробного развития и преждевременные роды за счет нарушения вектора развития плода. [1]. Проблема хронического пиелонефрита является актуальной в связи с его латентным течением и недостаточной эффективностью лечения вообще и при беременности в частности, так как в последнем случае рамки терапии сужены. Среди пациентов с указанной патологией преобладают женщины репродуктивного возраста, что придает особую значимость этой проблеме. У беременных хронический пиелонефрит как экстрагенитальное заболевание занимает одно из ведущих мест – частота его встречаемости составляет от 6 до 12 % случаев и имеет тенденцию к нарастанию [2]. Хронический пиелонефрит неблагоприятно влияет на течение беременности, что может проявляться в виде ее патологического течения, преждевременного прерывания и внутриматочного инфицирования плода. Однако механизмы проявления того или иного варианта патологии беременности до конца не ясны.

Кроме того, известно, что в одних случаях воспаление может активироваться под влиянием беременности [3], в других – угнетаться (при ревматоидном артрите, рассеянном склерозе) [4, 5]. Необходимо отметить, что возможная активация воспаления во время беременности может усугублять ее неблагоприятное течение и ухудшать исход. Беременность предъявляет особые требования к иммунной системе – сохранение противоинфекционной защиты, с одной стороны, и формирование толерантности по отношению к полуаллогенному плоду, с другой. Это состояние требует депрессии одних звеньев иммунной системы и активации других, регулируемых плацентой, которая через экзосомы влияет на функции иммунных клеток.

Цель работы – изучить уровень регуляторных и провоспалительных молекул при беременно-

сти, протекающей на фоне хронического пиелонефрита вне обострения.

Материал и методы

На базе Новосибирского городского клинического перинатального центра обследовано 68 женщин в третьем триместре беременности при сроке гестации 36–40 недель. Основную группу составили 38 пациенток, у которых беременность протекала на фоне хронического пиелонефрита вне обострения (1-я группа, возраст $26,5 \pm 1,5$ года). Группа сравнения (вторая) представлена 30 женщинами с физиологически протекающей беременностью (возраст $27,1 \pm 1,1$ года). Основным критерий включения в 1-ю группу – наличие подтвержденного диагноза «хронический пиелонефрит», установленного до беременности, вне обострения. Критерии исключения для обеих групп: наличие острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органов и систем вирусной, бактериальной или грибковой природы, а также аутоиммунных, эндокринных и опухолевых патологий. Проанализированы масса тела, состояние по шкале Апгар младенцев, родившихся от включенных в исследование женщин.

Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014) «О персональных данных» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015), одобрено локальным этическим комитетом ФИЦ ФТМ (протокол № 41 от 09.11.2023). У всех пациенток получено добровольное информированное согласие на забор биологических жидкостей, а также на использование данных исследования в научных целях.

Всем беременным выполнено полное клинико-лабораторное обследование, УЗИ плода и плаценты, доплерометрия, кардиотокографическое

изучение сердечной деятельности плода. Кровь для исследования забиралась у всех женщин при поступлении в стационар. В сыворотке крови определяли концентрацию ИЛ-17А, моноцитарного хемотаксического протеина-1 (МХП-1), фактора роста эндотелия сосудов (СЭФР), аутоантител класса IgG к двухцепочечной ДНК (ААТ к нДНК) методом твердофазного ИФА с использованием тест-систем ООО «Вектор-Бест» (Новосибирск) по инструкции производителя на вертикальном спектрофотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Сравнительный анализ количественных показателей проводился с использованием критерия Стьюдента. Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5%-м уровне значимости ($p < 0,05$).

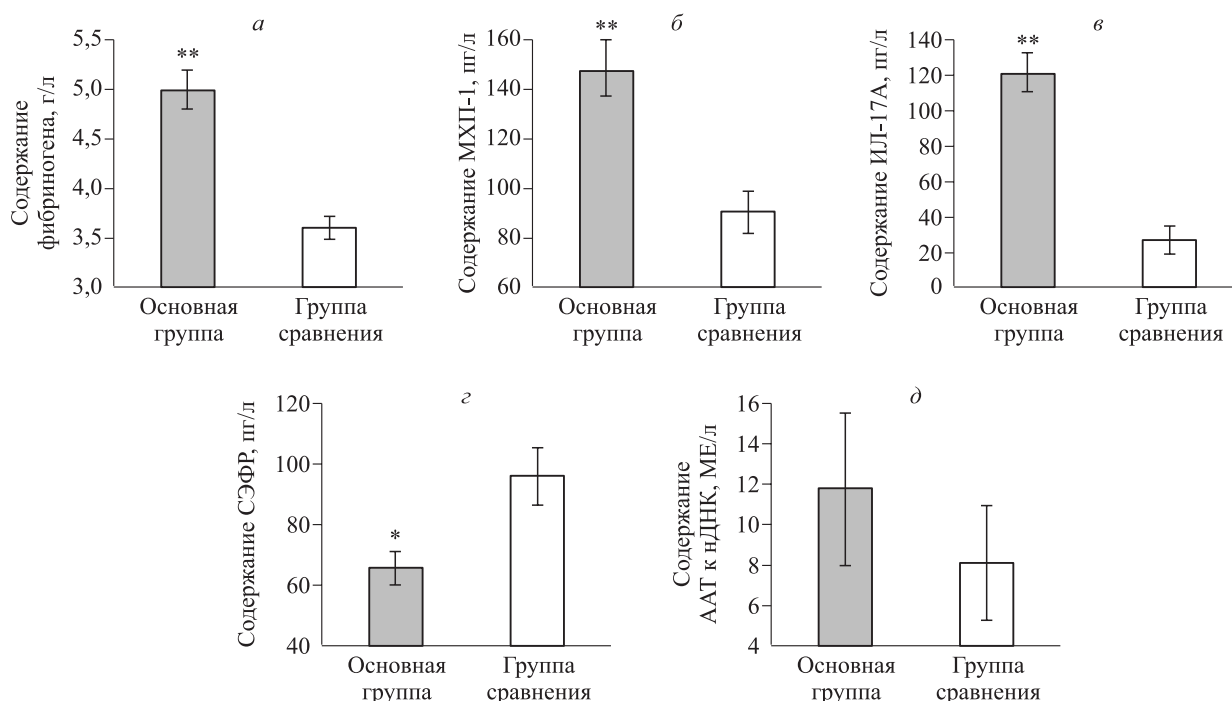
Результаты и их обсуждение

Беременность в обеих группах на момент исследования протекала без видимых клинических особенностей, систолическое артериальное давление составляло от 110 до 120 мм рт. ст., диастолическое – от 60 до 70 мм рт. ст., что соответствует значениям нормы при беременности.

Содержание гемоглобина в первой группе равнялось $113,5 \pm 15,7$ г/л (нижняя граница нормы при беременности). Однако в 18,2 % случаев в 1-й группе наблюдалась анемия легкой степени; воспаление в почках индуцирует локальный синтез провоспалительных цитокинов, в том числе ФНО-альфа, который тормозит эритропоэз.

Количество белка в моче составляло менее 100 мг/л, содержание альбумина в сыворотке крови беременных 1-й и 2-й группы – соответственно $33,41 \pm 0,7$ и $36,1 \pm 0,9$ г/л ($p < 0,05$), общего белка – $60,36 \pm 1,1$ и $64,9 \pm 0,8$ г/л ($p < 0,05$). Отмеченное снижение концентрации альбумина и общего белка имеет важное значение, так как известно, что альбумин является одним из основных антиоксидантов сыворотки крови [6]. С другой стороны, падение содержания альбумина у матери ведет к уменьшению его транспорта к плоду, следствием чего может быть снижение массы тела плода и развитие желтухи новорожденных с риском формирования билирубиновой энцефалопатии [7].

Уровень фибриногена в основной группе был больше, чем в группе сравнения (рисунок, а). Фибриноген является эндогенным лигандом Толл-подобного рецептора-4, связывание с которым активирует воспалительный процесс, который, как известно, может быть индуцирован трофобластом, содержащим данные рецепторы [8]. Содержа-



Содержание фибриногена (а), МХП-1 (б), ИЛ-17А (в), СЭФР (г) и ААТ к нДНК (д) в крови беременных основной и контрольной групп; обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей группы контроля: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$

Content of fibrinogen (a), MCP-1 (б), IL-17A (в), VEGF (г) and AAT to nDNA (д) in blood of pregnant women of the main and control groups; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ compared to control

жение МХП-1 было повышено в основной группе относительно группы сравнения (рисунок, б), т.е. при беременности, протекающей на фоне хронического пиелонефрита, даже при отсутствии обострения происходит наработка хемоаттрактанта для моноцитов. МХП-1 усиливает рекрутирование моноцитов в очаг воспаления и вовлечен в прогрессию, а также поддержание воспалительного процесса через рецептор CCR2 [9]. Важную роль этот цитокин, экспрессируемый ворсинчатым цитотрофобластом и синцитиотрофобластом, играет как при физиологической, так и при патологически протекающей беременности [10]. В первом случае МХП-1, продуцируемый децидуальными и стромальными клетками, рекрутирует клетки Th17 в децидуу, усиливая пролиферацию и инвазию трофобластных клеток человека за счет секреции ИЛ-17А [11]. В этой связи найденное нами достоверное повышение содержания ИЛ-17А в основной группе (рисунок, в) играет адаптивную роль, необходимую для выполнения мигрирующим трофобластом такой функции, как ремоделирование спиральных артерий. Трансформация спиральных артерий требуется для усиления подачи крови в утероплацентарное пространство, необходимое для растущего плода. ИЛ-17А выполняет много функций, и превалирование той или иной из них определяется ходом беременности. Здесь же отметим, что повышение МХП-1 поляризует иммунный ответ по Th2-пути [12], необходимому для нормального развития беременности.

Достоверное снижение содержания СЭФР в основной группе (рисунок, г) указывает на то, что имеет место дисбаланс не только по уровню провоспалительных цитокинов, но и по фактору роста эндотелия сосудов.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов, показавших, что при беременности, протекающей на фоне пиелонефрита, происходит изменение баланса про- и антиангиогенных факторов в сыворотке матери [13]. В нашем случае уменьшение концентрации СЭФР как проангиогенного фактора, очевидно, является следствием прошлых обострений пиелонефрита, которые, возможно, были умеренными и не регистрировались клинически (субклиническое обострение). С этих позиций можно предполагать, что плацентарный ангиогенез заторможен или изменен за счет слабого ветвления сосудов, несмотря на нормальную массу плаценты. Это в конечном счете подтверждается нашими данными по внутриматочной задержке роста плода. Так, масса тела новорожденных составляла $2969 \pm 96,9$ г в основной группе и $3300 \pm 110,0$ г в группе сравнения ($p < 0,05$), состояние плода по шкале Апгар – соответственно 7,63 балла на первой минуте и 7,9 балла на 5-й минуте, 8,0 бал-

ла на первой минуте и 8,0 балла на 5-й минуте. Полученные результаты согласуются с данными других авторов [14]. Важно отметить, что масса плаценты в 1-й и 2-й группах не различалась ($490,0 \pm 57,0$ и $502,7 \pm 61,0$ г соответственно, $p > 0,05$) – возможно, ее функции у женщин основной группы были снижены. Важно отметить и следующее: зарегистрированное нами уменьшение содержания СЭФР указывает на отсутствие гипоксии в утероплацентарном пространстве при беременности, протекающей на фоне пиелонефрита. В противном случае уровень СЭФР был бы повышен, так как гипоксия стимулирует его наработку [15]: СЭФР способен влиять на продукцию МХП-1 за счет усиления взаимодействия между децидуальными макрофагами и стромальными клетками, что приводит к увеличению в децидуу количества макрофагов, способствующих ангиогенезу при нормальной беременности.

Содержание ААТ к нДНК у женщин двух групп не различалось – возможно, при беременности, протекающей на фоне хронического пиелонефрита вне обострения, деструктивные процессы активированы не избыточно.

Заключение

Таким образом, при беременности, протекающей на фоне хронического пиелонефрита вне стадии обострения, меняется уровень ИЛ-17А, хемокина МХП-1, СЭФР, что может вести к задержке роста плода. Основой для этого служит примированность иммунной системы во время беременности, на фоне которой даже небольшая дополнительная стимуляция иммунной системы, в нашем случае пиелонефритом, способна изменить нормальный ход беременности, что и регистрировалось нами в виде задержки роста плода и ухудшения состояния новорожденного согласно оценке по шкале Апгар (т.е. происходит изменение материнско-фетального гомеостаза) [16].

Список литературы / References

1. Щербаков В.И., Рябиченко Т.И., Скосырева Г.А., Трунов А.Н. Спектр противовоспалительных цитокинов у беременных с плацентарной недостаточностью и задержкой роста плода *Рос. вестн. акушера-гинеколога*. 2019;19(3):11–16. doi: 10.17116/rosakush20191903111
2. Shcherbakov V.I., Ryabichenko T.I., Skosyeva G.A., Trunov A.N. Spectrum of anti-inflammatory cytokines in pregnant women with placental insufficiency and fetal growth retardation. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2019;19(3):11–16. [In Russian]. doi: 10.17116/rosakush20191903111
3. Сидорова И.С., Бабина М.Г. Особенности системного и локального иммунодефицита у

беременных с обострением хронического пиелонефрита. *Рос. вестн. акушера-гинеколога*. 2002; 2(6):27–30.

Sidorova I.S., Babina M.G. Specific features of systemic and local immunodeficiency in pregnant women with exacerbation of chronic pyelonephritis. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2002;2(6):27–30. [In Russian].

3. Luppi P., Haluszczak C., Trucco M., Deloia I.A. Normal pregnancy is associated with peripheral leukocyte activation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2002;47(2):72–81. doi: 10.1034/j.1600-0897.2002.10041.x

4. Forger F., Vallbracht I., Helmke K., Villiger P.M., Østengen M. Pregnancy mediated improvement of rheumatoid arthritis. *Swis. Med. Wely.* 2012;142:w13644. doi: 10.4414/smw.2012.13644

5. Harnish D.C. Estrogen receptor, ligands in the control of pathogenic inflammation. *Curr. Opin. Investig. Drugs*. 2006;7(11):997–1001.

6. Fasano M., Curry S., Torreno E., Galliano M., Fanali G., Narciso P., Notari S., Ascenzi P. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life*. 2005;57(12):787–796. doi: 10.1080/15216540500404093

7. Aasam A.I., Hasan B.M., Ialil R.A., Hashim J.M., Nasrawi F.I. Cord blood albumin as a predictor of neonatal jaundice. *Niger. J. Clin. Pract.* 2023;26(1):55–58. doi: 10.4103/njcp.njcp_170_22

8. Abrahams V.M., Visintin I., Aldo P.B., Guller S., Romero R., Mor G. A role for TLRs in the regulation of immune cell migration by first trimester trophoblast cells. *J. Immunol.* 2005;175(12):8096–81104. doi: 10.4049/jimmunol.175.12.8096

9. Singh S., Anshita D. Ravichandiran V. MCP-1: function, regulation, and involvement in disease. *Int. Immunopharmacol.* 2021;101(Pt B):1077598. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107598

10. Lin Z., Shi J., Chen M., Zheng Z., Li M., Shao J.I. CCL-2: An important cytokine in normal and pathological pregnancies: A review. *Front. Immunol.* 2023;13:1053457. doi: 10.3389/fimmu.2022.1053457

11. Wu H.X., Jin L.P., Xu B., Liang S.S., Li D.J. Decidual stromal cells recruit Th 17 cells into decidua to promote proliferation and invasion of human trophoblast cells by secreting IL-17. *Cell. Mol. Immunol.* 2014;11(3):253–262. doi: 10.1038/cmi.2013.67

12. Gu L., Tseng S., Horner R.M., Tam C., Loda M., Rollins B.J. Control of Th 2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature*. 2000;404(6776):407–411. doi: 10.1038/35006097

13. Chaiworapongsa T., Romero R., Gotsch F., Kusanovic J.P., Mittal P., Kim S.K., Erez O., Vaisbuch E., Mazaki-Tovi S., Kim C.J., Dong Z., Yeo L., Hassan S.S. Acute pyelonephritis during pregnancy changes the balance of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2010;23(2):167–178. doi: 10.3109/14767050903067378

14. Dawkins J.C., Fletcher H.M., Raitray C.A., Reid M., Gordon-Strachan G. Acute pyelonephritis in pregnancy: a retrospective descriptive hospital based study. *ISRN Obstet. Gynecol.* 2012;(2012):519321. doi: 10.5402/2012/519321

15. Qin X.Y., Shen H.H., Zhang X.Y., Zhang X., Xie F., Wang W.J., Xiong Y., Mei J., Li M.Q. Hypoxia-mediated chemotaxis and residence of macrophage in decidua by secreting VEGFA and CCL2 during normal pregnancy. *Reproduction*. 2023;165(5):543–555. doi: 10.1530/REP-22-0473

16. Gomer-Lopez N., Galaz J., Miller D., Farias-Jofre M., Liu Z., Arenas-Hernandez M., Garcia-Flores V., Shaffer Z., Greenberg I.M., Theis K.R., Romero R. The immunobiology of preterm labor and birth: Intra-amniotic inflammation or breakdown of maternal-fetal homeostasis. *Reproduction*. 2022;164(2):R11–R45. doi: 10.1530/REP-22-0046

Информация об авторах:

Щербakov Владимир Иванович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0261-970X, e-mail: shcherbakov_VI@mail.ru

Обухова Ольга Олеговна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9834-1799, e-mail: triol88@yandex.ru

Рябиченко Татьяна Ивановна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0990-0078, e-mail: 2925871@mail.ru

Скосырева Галина Александровна, д.м.н., ORCID: 0000-0001-5477-3445, e-mail: skosyreva43@mail.ru

Горбенко Ольга Михайловна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-5672-9234, e-mail: gorbenko.olga.m@bk.ru

Косьянова Тамара Геннадьевна, ORCID: 0000-0002-3176-6960

Information about the authors:

Vladimir I. Shcherbakov, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-0261-970X, e-mail: shcherbakov_VI@mail.ru

Olga O. Obukhova, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-9834-1799, e-mail: triol88@yandex.ru

Tatyana I. Ryabichenko, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-0990-0078, e-mail: 2925871@mail.ru

Galina A. Skosyreva, doctor of medical science, ORCID: 0000-0001-5477-3445, e-mail: skosyreva43@mail.ru

Olga M. Gorbenko, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-5672-9234, e-mail: gorbenko.olga.m@bk.ru

Tamara G. Kosyanova, ORCID: 0000-0002-3176-6960

Поступила в редакцию 27.06.2023

После доработки 07.08.2023

После повторной доработки 08.11.2023

Принята к публикации 09.11.2023

Received 27.06.2023

Revision received 07.08.2023

Second revision received 08.11.2023

Accepted 09.11.2023

Клинический случай снижения эффективности вальпроевой кислоты на фоне антибактериальной терапии имипенемом/циластатином в педиатрической практике

А.Б. Строк^{1,2}, М.С. Ченкуров², М.Н. Костылева^{1,3}, Д.А. Умуткузина^{1,3}

¹ Российская детская клиническая больница – филиал Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России 119571, г. Москва, Ленинский пр., 117

² Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

Резюме

Описан клинический случай совместного применения вальпроевой кислоты и циластатина/имипенема у девочки 17 лет в условиях педиатрического стационара, получающей лечение по поводу эпилепсии с генерализованными тонико-клоническими судорогами. После подбора противоэпилептической терапии, которая сопровождалась достижением терапевтической концентрации вальпроатов, превышающей 80 мкг/мл, состояние ребенка стабилизировалось, приступы эпилепсии не повторялись. Однако в стационаре у девочки развилась пневмония, по поводу которой был назначен имипенем/циластатин. На фоне совместного применения препаратов отмечено снижение уровня вальпроевой кислоты в плазме крови менее 50 мкг/мл, сопровождающееся повторным возникновением эпилептических приступов. Коррекция противоэпилептической терапии фенobarбиталом не привела к прекращению приступов. Отмена имипенема/циластатина сопровождалась повышением содержания вальпроевой кислоты в плазме крови более 50 мкг/мл, что соответствует рекомендованному терапевтическому диапазону, и на протяжении двух недель достигла величины, максимально приближенной к значениям до назначения имипенема/циластатина. Сделан вывод о необходимости проведения терапевтического лекарственного мониторинга у детей, получающих совместно вальпроевую кислоту и имипенем/циластатин (бета-лактамы антибиотик из группы карбапенемов), опираясь на известные механизмы фармакокинетического взаимодействия.

Ключевые слова: противоэпилептическая терапия, вальпроаты, лекарственное взаимодействие, терапевтический лекарственный мониторинг, комбинированная терапия, эпилепсия, судороги.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Строк А.Б., e-mail: strok_ab@pfur.ru

Для цитирования: Строк А.Б., Ченкуров М.С., Костылева М.Н., Умуткузина Д.А. Клинический случай снижения эффективности вальпроевой кислоты на фоне антибактериальной терапии имипенемом/циластатином в педиатрической практике. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):215–221. doi: 10.18699/SSMJ20230627

Decrease in the effectiveness of valproic acid against the background of antibacterial therapy with imipenem/cilastatin in pediatric practice: A case report

A.B. Strok^{1,2}, M.S. Chenkurov², M.N. Kostyleva^{1,3}, D.A. Umutkuzina^{1,3}

¹ Russian Children's Clinical Hospital – a Branch of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “N.I. Pirogov Russian National Research Medical University” of Minzdrav of Russia 119571, Moscow, Leninsky ave., 117

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba» 117198, Moscow, Miklukho-Maklaya st., 6

³ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “N.I. Pirogov Russian National Research Medical University” of Minzdrav of Russia 117997, Moscow, Ostrovityanova st., 1

Abstract

A clinical case of the co-medication of valproic acid and cilastatin/imipenem in a 17-year-old girl with generalized tonic-clonic seizures is described. As an antiepileptic therapy, the child was prescribed valproic acid, the concentration of which in the blood plasma was more than 80 µg/ml, and seizures were not observed during this therapy. At the same time, due to the developed pneumonia, the girl was imipenem/cilastatin prescribed. Co-medication of drugs led to a decrease in the concentration of valproic acid in the blood plasma less than 50 µg/ml, relapse of epileptic seizures was noted. Correction of antiepileptic therapy with phenobarbital did not lead to the seizure control. The removal of imipenem/ cilastatin contributed to the increase in the concentration of valproic acid in blood plasma above 50 µg/ml, which corresponds to the recommended therapeutic range. Within two weeks after discontinuation of imipenem/ cilastatin, the concentration of valproic acid reached values as close as possible to the values before the start of antibiotic therapy. The authors of the article concluded that it is necessary to conduct therapeutic drug monitoring in children receiving valproic acid and imipenem/ cilastatin (antibiotic of carbapenem group), based on the known mechanisms of pharmacokinetic interaction.

Key words: antiepileptic therapy, valproates, drug interaction, therapeutic drug monitoring, combination therapy, epilepsy, seizures.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Strok A.B., e-mail: strok_ab@pfur.ru

Citation: Strok A.B., Chenkurov M.S., Kostyleva M.N., Umutkuzina D.A. Decrease in the effectiveness of valproic acid against the background of antibacterial therapy with imipenem/ cilastatin in pediatric practice: A case report. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):215–221. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230627

Введение

Эпилепсия является одним из наиболее частых неврологических расстройств в педиатрической популяции, ее частота колеблется в диапазоне от 33,3 до 82 случаев на 100 000 населения в год. Наиболее высокая вероятность дебюта эпилепсии приходится на первый год жизни после рождения. Причины заболевания остаются неизвестными почти у половины пациентов [1]. К возможным этиологическим факторам в развитии судорог в данной возрастной группе можно отнести структурную патологию развития головного мозга, генетические нарушения, инфекции (включая внутриутробные), электролитные нарушения, врожденные нарушения обмена веществ, асфиксию [2].

Одним из препаратов, рекомендованных к применению в педиатрической популяции в качестве первой линии, является вальпроевая кислота (ВК) – противоэпилептический препарат, применяемый при различных формах эпилепсии, обладающий высокой эффективностью как у

взрослых, так и у детей. К дополнительным показаниям назначения ВК относится лечение мигрени, биполярного расстройства и мании [3]. Предполагается, что клиническая эффективность ВК при эпилепсии связана с увеличением концентрации в мозге γ-аминомасляной кислоты. Также ВК способна блокировать потенциал-зависимые натриевые, калиевые и кальциевые каналы, модулировать дофаминергическую и серотонинергическую передачу [4, 5]. Метаболизм ВК протекает в печени и может быть реализован по следующим сценариям: глюкуронирование с участием УДФ-глюкуронилтрансферазы; β-окисление в митохондриях (основные пути, на которые приходится 50 и 40 % дозы соответственно); окисление, опосредованное цитохромом P450 (второстепенный путь, ~ 10 %); патологический путь (ω-окисление), который становится активным в условиях недостатка карнитина, возникающего на фоне печеночной и/или почечной недостаточности [6–8].

Метаболизм ВК с участием ферментов системы цитохрома P450 может стать основным пу-

тем в тех случаях, когда глюкуронирование или митохондриальное β -окисление нарушены или слабо развиты, как, например, у детей. Активность ферментов печени, ответственных за глюкуронизацию ВК, слабо выражена у детей, с возрастом она увеличивается и к 10–15 годам может достичь уровня, свойственного взрослым людям. Следовательно, образование конъюгата ВК с глюкуроновой кислотой у педиатрических пациентов является недостаточным, в первую очередь у детей младше двух лет [9]. Рекомендованный терапевтический диапазон концентрации ВК в плазме крови при проведении терапевтического лекарственного мониторинга для лечения эпилепсии составляет от 50 до 100 мкг/мл, для лечения мании – от 50 до 125 мкг/мл. Токсической считается концентрация более 175 мкг/мл [5].

ВК за счет своей уникальной фармакокинетики потенциально способна вступать в межлекарственные взаимодействия с другими препаратами [10], в том числе с β -лактамами антибиотиками группы карбапенемов. Карбапенемы – антибиотики широкого спектра действия, часто используемые в отделениях реанимации и интенсивной терапии по жизненно важным показаниям. Применение карбапенемов на фоне терапии ВК приводит к снижению ее концентрации в среднем на 77 %, что способствует недостаточному контролю над судорогами [3]. К потенциальным механизмам данного явления можно отнести снижение энтерогепатической циркуляции и процессов абсорбции ВК в кишечнике, распределение ВК в эритроцитах, усиление синтеза и ингибирование гидролиза глюкуронидов ВК, увеличение их экскреции с мочой. Однако точный механизм, лежащий в основе взаимодействия ВК с карбапенемами, до конца не определен и требует дальнейшего изучения [3, 11, 12].

Взаимодействие ВК с карбапенемами характеризуется быстрым ингибированием метаболических реакций, которое происходит в течение 24–48 часов, тогда как индукция обычно занимает больше времени, от 7 до 10 дней после отмены карбапенема, позволяя предположить, что механизм взаимодействия заключается в ингибировании ферментов [3]. Концентрация ВК снижается примерно в течение 1–7 дней после начала терапии карбапенемами и полностью восстанавливается в течение периода от 3 дней до 2 недель после прекращения их назначения [12]. Согласно последним литературным данным, вышеуказанное фармакокинетическое взаимодействие с карбапенемами полезно в случаях передозировки ВК с развитием серьезных нежелательных эффектов, а сами карбапенемы можно рассматривать как антидот ВК [13–15].

Актуальность изучения вопросов лекарственного взаимодействия карбапенемов и вальпроатов основана на ограниченном количестве литературных данных, раскрывающих данную проблему, особенно в педиатрической практике. По запросу «imipenem AND valproic acid» в базе данных PubMed доступно лишь 23 статьи, тогда как тот же запрос с использованием фильтра по возрастной категории «child: birth – 18 years» представлен лишь одним литературным источником [16]. В связи с этим нами обозначена цель работы – на примере описания клинического случая показать необходимость мониторинга фармакокинетических показателей в педиатрической практике при совместном применении препаратов ВК и имипенема/циластатина, которые могут взаимодействовать друг с другом.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ клинического случая ребенка, получавшего стационарную медицинскую помощь в многопрофильном педиатрическом стационаре путем изучения и оценки данных архивной медицинской документации.

Описание клинического случая

Ребенок-инвалид 17 лет, женского пола поступил в педиатрический стационар в отделение реанимации и интенсивной терапии 11.01.2023. Причиной госпитализации явились некупируемые эпилептические приступы длительностью более 20 минут сериями с незначительным светлым промежутком. Также пациентка предъявляла жалобы на шаткость при ходьбе, нарушение походки, снижение силы в правых конечностях, тремор в руках, замедленную речь, эмоциональную лабильность, эпизоды тонико-клонических судорог с потерей сознания в анамнезе на протяжении последних двух лет, не купируемые противоэпилептическими препаратами. Кратность приступов – 2–3 эпизода в неделю, преимущественно на фоне эмоционального стресса.

Из анамнеза известно, что девочка больна с 9 лет, когда стала подворачивать правую ногу при ходьбе. Родители обращались к ортопеду, патологии не выявлено. В 10-летнем возрасте у пациентки изменился почерк. МРТ головного мозга позволила выявить кистозное образование пинеальной области, не вызывающее ликвородинамических расстройств. Наблюдалась у невролога с диагнозом эссенциальный тремор. К 12 годам появились выраженные затруднения при ходьбе, замедленная речь, сложности с письмом, с освоением школьной программы. При обследовании выставлен диагноз: дегенеративное заболевание нервной системы, синдром экстрапирамидной

недостаточности, смешанный правосторонний гемипарез средней степени тяжести с выраженным нарушением функции нижней конечности, дизартрия. На фоне метаболической, анксиолитической, гормональной терапии (депротеинизированный гемодериват крови телят, гепарин, иммуноглобулин человеческий, магния сульфат, медазепам, пирацетам) состояние с незначительной положительной динамикой – тремор уменьшился, улучшилась походка и нормализовался эмоциональный статус. С 15 лет гиперкинезы усилились, была неоднократно госпитализирована по поводу гиперкинезов верхних и нижних конечностей с фокальными правосторонними моторными пароксизмами без утраты сознания и в дальнейшем с утратой сознания, не купирующимися приемом диазепама. С 15-летнего возраста осуществлялся подбор противоэpileптической терапии различными препаратами, включая клоназепам, карбамазепин, леветирацетам, фенобарбитал, топирамат, ламотриджин в различных комбинациях и дозировках – без эффекта. Одной из причин экстренных госпитализаций в возрасте 17 лет стал рецидив генерализованных клонических судорог с нарушением дыхания в виде респираторных пауз с десатурацией до уровня SpO₂ 92–94 %. Тогда же в стационаре была начата терапия ВК в дозе 300 мг 2 раза в сутки, которую девочка продолжала получать в дальнейшем амбулаторно.

На момент поступления в стационар состояние тяжелое, генерализованный приступ тонико-клонических судорог, на осмотр не реагировала. Дыхание самостоятельное, частота 19 в мин, проводится равномерно во все отделы. Частота сердечных сокращений – 94 в мин, артериальное давление 94/52 мм рт. ст. Живот мягкий, доступен глубокой пальпации во всех отделах. Рост 151 см, вес 56 кг. Имеются стигмы дизэмбриогенеза: низкий рост волос, лицевые дизморфии в виде удлиненного фильтра, длинные ресницы, низкий рост, широкое пупочное кольцо, сандалевидная щель, близко посаженные глаза.

В стационаре проведено обследование: ЭЭГ от 12.01.2023 – грубые диффузные изменения электрической активности головного мозга в виде периодического паттерна комплексов Раде-меккера (стереотипные генерализованные разряды волн высокой амплитуды (до 1000 мкВ), следующие с интервалом от нескольких секунд до десятков секунд, в комбинации с острыми волнами или спайками), составляющего 100 % записи, с продолженным региональным замедлением в левой лобно-центральной области и независимым периодическим региональным замедлением в правой височной области. Иктальных паттер-

нов, паттернов эпилептических приступов в ходе исследования не выявлено.

МРТ от 13.01.2023 (динамика по сравнению с МРТ от 15.01.2020): определяется умеренное нарастание атрофических изменений больших полушарий. Желудочки, борозды и субарахноидальные пространства расширены. В латеральных отделах обоих таламусов, а также в проекции проводящих путей задне-лобно-теменных регионов (моторная кора) на корково-подкорковом уровне сохраняются стабильные симметричные негрубо выраженные зоны повышения МР-сигнала в T2 ВІ и Flair. Ограничений диффузии нет. Признаков патологического контрастного усиления нет. Кровоизлияний, отложений металлов нет. Атрофически сокращен объем гиппокампов. Срединные структуры не смещены. Ликвородинамика компенсирована. Кортикальная пластинка без дизгармонических нарушений рисунка. Гипоталамо-гипофизарный регион без участков изменения МР-сигнала и дополнительных макрообразований. Шишковидная железа 7×8 мм, с кальцинатом по периферии, кистозными включениями, участками контрастного усиления. Размер и структура не изменились. Мозолистое тело сформировано правильно. Ствол, мозжечок без особенностей. Дополнительных объемных образований и мальформативных изменений нет. Краниовертебральный переход сформирован правильно. Согласно данным МРТ выполнен дифференциальный диагноз между нейродегенеративным заболеванием, медленно текущей нейроинфекцией и эпилептической энцефалопатией. Нейроинфекция не подтверждена (анализ ликвора без особенностей). Нарушения функции почек и печени не выявлены.

Пациентке выставлен диагноз: эпилептический статус. Сопутствующий диагноз: дегенеративное заболевание нервной системы, дистонически-гиперкинетический синдром. Атактический синдром. Симптоматическая эпилепсия. Правосторонний гемипарез.

В связи с некупируемыми судорогами в отделении реанимации и интенсивной терапии находилась на медикаментозной седации – получала натрия оксibuтират 20 % – 50,0 мл внутривенно (с 11.01.2023 по 14.01.2023). В первый же день госпитализации была интубирована, подключена к аппарату искусственной вентиляции легких. Также получала противоэпилептическую терапию: ВК внутривенно капельно, мидазолам внутривенно для купирования судорожных приступов.

На фоне лечения ВК был осуществлен динамический терапевтический лекарственный мониторинг – определение концентрации ВК в плазме крови с целью оценки безопасности и эффектив-

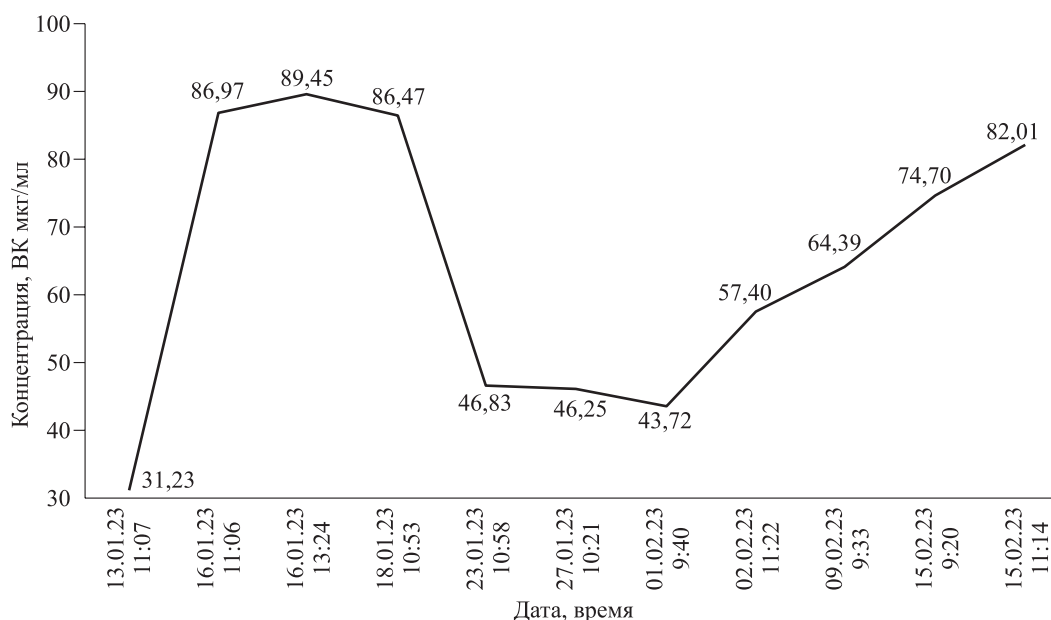


Рис. 1. Концентрация ВК в крови в динамике

Fig. 1. Dynamics of valproic acid concentration in the blood

ности терапии. Как видно из рис. 1, на момент поступления в стационар исходная концентрация ВК была ниже рекомендованного уровня и равнялась 31,23 мкг/мл, что свидетельствует о недостаточной терапии на амбулаторном этапе. В стационаре начальная доза ВК составила 500 мг/сут (внутривенно), со вторых суток она была увеличена до 840 мг/сут, а затем и до 1120 мг/сут (внутривенно). После коррекции дозы ВК состояние больной стабилизировалось, количество эпизо-

дов генерализованных тонико-клонических судорог уменьшилось от 4 приступов за сутки на момент поступления до 0. Как видно из рис. 2, к 7-му дню пребывания в стационаре эпизодов судорог не отмечалось, потребность в неотложной дополнительной противосудорожной терапии не возникала. Больная была экстубирована (18.01.2023).

На 10-е сутки пребывания в стационаре в связи с развитием внутрибольничной левосто-

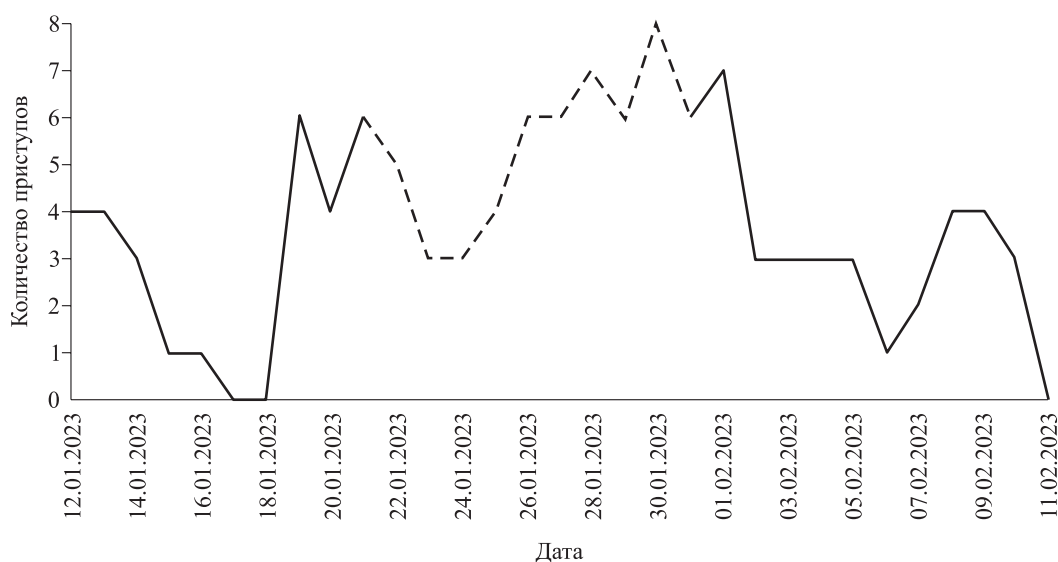


Рис. 2. Количество эпилептических приступов за сутки. Примечание: штриховой линией отмечено количество приступов на фоне приема имипенема/циластатина

Fig. 2. The number of epileptic seizures per day. Note: the dotted line indicates the number of seizures while taking imipenem/cilastatin

ронней полисегментарной плевропневмонии, подтвержденной рентгенологически с высевом *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* при исследовании бронхоальвеолярного лаважа, была назначена антибактериальная терапия: имипенем/циластатин в дозе 1 г 3 раза в день внутривенно струйно, линезолид 600 мг 2 раза в день внутривенно, противогрибковая терапия: флуконазол 200 мг в сут внутривенно. На фоне течения плевропневмонии и сочетанного применения имипенема/циластатина с ВК наблюдалось повторное возникновение приступов (до 6 эпизодов за сутки) и резкое снижение уровня ВК в плазме крови на 12-й день пребывания в стационаре / 3-й день от начала антибактериальной терапии (см. рис. 1). В связи клиническим ухудшением по неврологическим симптомам терапия была дополнительно усилена фенобарбиталом (150 мг/сут с 20.01.2023). Антибактериальная терапия была продолжена. Однако незначительный ответ на комбинированную противосудорожную терапию 23–24.01.2023 сменился неуклонным нарастанием количества приступов за сутки и достиг максимума 30.01.2023 (9-й день от начала антибактериальной терапии). 01.02.2023 ребенок был консультирован клиническим фармакологом. Терапия скорректирована: отменена антибактериальная терапия, заподозрены возможные лекарственные взаимодействия между имипенемом/циластатином и ВК, которые привели к невозможности достижения терапевтической концентрации ВК. После отмены антибактериальной терапии (01.02.2023) и дополнительного повышения суточной дозы ВК до 1500 мг/сут (с 30.01.2023) ее содержание в плазме крови вновь достигло целевых значений (начиная с 02.02.2023) и в последующем увеличивалась. Соответственно, количество приступов генерализованных судорог снизилось на фоне возрастания концентрации ВК в плазме крови.

Обсуждение

В рассматриваемом клиническом случае ребенку с эпилепсией, получавшему ВК, был назначен антибиотик из группы карбапенемов – имипенем/циластатин – для лечения нозокомиальной пневмонии. В инструкции по применению имипенема/циластатина указано на возможность снижения сывороточной концентрации ВК, в связи с чем в период лечения рекомендовано проведение терапевтического лекарственного мониторинга. Как видно из рисунков, уменьшение содержания ВК в крови сопровождалось ухудшением неврологической симптоматики. С одной стороны, наличие сопутствующего заболевания в виде пнев-

монии могло отразиться на течении эпилепсии, с другой стороны, дестабилизация состояния ребенка была ассоциирована с изменением фармакокинетических параметров ВК. При анализе возможных лекарственных взаимодействий при помощи чекера Drug Interaction Checker (интернет-ресурс www.drugs.com) (ВК, фенобарбитал, мидазолам, имипенем, линезолид, флуконазол) выявлено одно потенциально значимое взаимодействие – ВК и имипенема.

Заключение

Представленный случай демонстрирует крайнюю необходимость повышения осведомленности о лекарственном взаимодействии ВК с имипенемом/циластатином среди медицинских работников, включая врачей отделения неотложной помощи, неврологов и фармакологов. Терапевтический мониторинг концентрации вальпроата в сыворотке крови необходим, когда комбинированная терапия имипенемом/циластатином и ВК неизбежна. Следует избегать одновременного применения имипенема/циластатина с ВК у детей в связи с их потенциально значимым взаимодействием, сопровождающимся снижением концентрации вальпроата в сыворотке крови до субтерапевтических значений. Применение терапевтического лекарственного мониторинга концентрации ВК может обеспечить своевременное изменение тактики лечения пациента и предупредить потерю контроля над эпилептическими приступами при совместном применении ВК с имипенемом/циластатином, снизить риск развития нежелательных явлений, тем самым способствуя повышению эффективности проводимой терапии.

Список литературы / References

1. Fine A., Wirrell E.C. Seizures in children. *Pediatr. Rev.* 2020;41(7):321–347. doi: 10.1542/pir.2019-0134
2. Muthaffar O.Y., Almahmudi S.M., Alrabghi M.O., Bin Mahfouz M.M., Alfawaz N.S. Valproic acid for children below 2 years of age with epilepsy. *Neurosciences (Riyadh)*. 2021;26(4):357–365. doi: 10.17712/nsj.2021.4.20210075
3. Al-Quteimat O., Laila A. Valproate interaction with carbapenems: review and recommendations. *Hosp. Pharm.* 2020;55(3):181–187. doi: 10.1177/0018578719831974
4. Williams J.H., Jayaraman B., Swoboda K.J., Barrett J.S. Population pharmacokinetics of valproic acid in pediatric patients with epilepsy: considerations for dosing spinal muscular atrophy patients. *J. Clin. Pharmacol.* 2012;52(11):1676–1688. doi: 10.1177/0091270011428138

5. Rahman M., Nguyen H. Valproic acid. StatPearls [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559112>
6. Ghodke-Puranik Y., Thorn C.F., Lamba J.K., Leeder J.S., Song W., Birnbaum A.K., Altman R.B., Klein T.E. Valproic acid pathway: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet. Genomics*. 2013;23(4):236–241. doi: 10.1097/FPC.0b013e32835ea0b2
7. Lheureux P.E., Penaloza A., Zahir S., Gris M. Science review: carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity – what is the evidence? *Crit. Care*. 2005;9(5):431–440. doi: 10.1186/cc3742
8. Xu S., Chen Y., Zhao M., Guo Y., Wang Z., Zhao L. Population pharmacokinetics of valproic acid in epileptic children: Effects of clinical and genetic factors. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2018;122:170–178. doi: 10.1016/j.ejps.2018.06.033
9. Monostory K., Nagy A., Tóth K., Búdi T., Kiss Á., Déri M., Csukly G. Relevance of CYP2C9 function in valproate therapy. *Curr. Neuropharmacol.* 2019;17(1):99–106. doi: 10.2174/1570159X15666171109143654
10. Levy R.H., Koch K.M. Drug interactions with valproic acid. *Drugs*. 1982;24(6):543–56. doi: 10.2165/00003495-198224060-00004
11. Chen I.L., Lee C.H., Hsiao S.C., Shih F.Y. Interactions between carbapenems and valproic acid among the patients in the intensive care units. *J. Crit. Care*. 2021;62:151–156. doi: 10.1016/j.jcrc.2020.12.005
12. Lee M.C., Sun Y.H., Lee C.H., Wu A.J., Wu T.W. Interaction between valproic acid and carbapenems: Case series and literature review. *Tzu Chi Medical Journal*. 2012;24(2):80–84. doi: 10.1016/j.tcmj.2012.02.008
13. Thomas C., Priano J., Smith T.L. Meropenem as an antidote for intentional valproic acid overdose. *Am. J. Emerg. Med.* 2020;38(3), 690.e1–690.e2. doi: 10.1016/j.ajem.2019.09.011
14. Sanivarapu R., Sharma R., Akella J. Thinking out of the box: management of valproic acid toxicity with carbapenems. *BMJ Case Rep.* 2021;14(3):e240140. doi: 10.1136/bcr-2020-240140
15. Smolders E.J., Ter Heine R., Natsch S., Kramers K. Meropenem to treat valproic acid intoxication. *Ther. Drug. Monit.* 2022;44(3):359–362. doi: 10.1097/FTD.0000000000000973
16. Park M.K., Lim K.S., Kim T.E., Han H.K., Yi S.J., Shin K.H., Cho J.Y., Shin S.G., Jang I.J., Yu K.S. Reduced valproic acid serum concentrations due to drug interactions with carbapenem antibiotics: overview of 6 cases. *Ther. Drug. Monit.* 2012;34(5):599–603. doi: 10.1097/FTD.0b013e318260f7b3

Сведения об авторах:

Строк Алина Борисовна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-5769-0450, e-mail: strok_ab@pfur.ru
Ченкуров Михаил Станиславович, к.б.н., ORCID: 0000-0002-8739-2363, e-mail: chenkurov_ms@pfur.ru
Костылева Мария Николаевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-7656-1539, e-mail: mkostyleva@mail.ru
Умуткузина Динара Анисовна, ORCID: 0009-0002-2247-3266, e-mail: dinara.um8@gmail.com

Information about the authors:

Alina B. Strok, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5769-0450, e-mail: strok_ab@pfur.ru
Mikhail S. Chenkurov, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-8739-2363, e-mail: chenkurov_ms@pfur.ru
Maria N. Kostyleva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-7656-1539, e-mail: mkostyleva@mail.ru
Dinara A. Umutkuzina, ORCID: 0009-0002-2247-3266, e-mail: dinara.um8@gmail.com

Поступила в редакцию 28.06.2023
После доработки 21.08.2023
Принята к публикации 06.11.2023

Received 28.06.2023
Revision received 21.08.2023
Accepted 06.11.2023

Тубулярно-ворсинчатая аденома на фоне язвенного колита (клинический случай)

Е.В. Семичев¹, Е.А. Геренг², Т.Н. Чекишева¹, М.А. Кязимова¹

¹ Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России

660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России

634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Резюме

Описывается клинический случай развития тубулярно-ворсинчатой аденомы с умеренной дисплазией эпителия (high grade) с учетом наличия очагов плоскоклеточной метаплазии в эпителии желез. Представленная в статье патология по МКБ-О имеет код 8263/2. **Описание клинического случая.** Пациентке в 2020 г. первично выполнили колоноскопию и диагностировали хронический илеит, а также колит с умеренной, а в отдельных участках высокой активностью воспаления, что наиболее характерно для неспецифического язвенного колита. Пациентка лечилась у гастроэнтеролога. В декабре 2021 г. ей проведена контрольная колоноскопия со взятием гистологического материала. Эндоскопическое заключение: язвенный колит, тотальное поражение, фаза обострения. **Результаты и их обсуждение.** При введении аппарата в прямую кишку на расстоянии 13 см визуализируется новообразование, слизистая оболочка участка бледная, блестящая, при попытке провести аппарат через сужение слизистая оболочка контактно-ранима, при инструментальной пальпации образование смещается конгломератом, взята полифрагментарная биопсия. При исследовании гистологических препаратов ректосигмоидного перехода определяется тубулярно-ворсинчатая аденома с умеренной дисплазией эпителия (high grade) с учетом наличия очагов плоскоклеточной метаплазии в эпителии желез. По данным литературы, при поражении язвенным колитом практически всей толстой кишки в течение более 10 лет имеется повышенный риск возникновения рака толстой кишки (10 %), который увеличивается на 2–5 % ежегодно. Возможность малигнизации имеется у 10–20 % пациентов при длительности заболевания язвенным колитом более 20 лет. Другие исследователи описывают выявленную дисплазию низкой степени как прогрессирующую в дисплазию высокой степени и карциному в 29–54 % случаев. **Заключение.** Исследование пациентов с данной патологией необходимо проводить на фоне тщательной подготовки толстого кишечника современными препаратами с применением высокотехнологических методов верификации и полифрагментарной биопсией с квалифицированной оценкой биоптатов.

Ключевые слова: неспецифический язвенный колит, рак толстого кишечника, тубулярно-ворсинчатая аденома, дисплазия high grade, колоректальный рак.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Семичев Е.В., e-mail: evsemichev@yandex.ru

Для цитирования: Семичев Е.В., Геренг Е.А., Чекишева Т.Н., Кязимова М.А. Тубулярно-ворсинчатая аденома на фоне язвенного колита (клинический случай). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):222–228. doi: 10.18699/SSMJ20230628

Tubular-villous adenoma against the background of ulcerative colitis (clinical case)

E.V. Semichev¹, E.A. Gereng², T.N. Chekischeva¹, M.A. Kyazimova¹

¹ Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University of Minzdrav of Russia

660022, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka st., 1

² Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia

634050, Tomsk, Moskovsky path, 2

Abstract

A clinical case of the development of tubular-villous adenoma with moderate epithelial dysplasia (high grade) is described, taking into account the presence of foci of squamous metaplasia in the epithelium of the glands. The pathology presented in the article according to ICD-O has code 8263/2. **Description of the clinical case.** The patient had an initial colonoscopy in 2020 and was diagnosed with chronic ileitis and colitis with moderate and in some areas high inflammation activity, which is most characteristic of nonspecific ulcerative colitis. The patient was treated by a gastroenterologist. In December 2021, she had a follow-up colonoscopy with the histological material sampling. Endoscopic conclusion: ulcerative colitis, total lesion, exacerbation phase. **Results and discussion.** When the device was inserted into the rectum at a distance of 13 cm, a neoplasm was visualized, the mucosa was pale, shiny, when trying to pass the device through the narrowing of the contact-vulnerable mucosa, with instrumental palpation, the formation was displaced by a conglomerate, a polyfragmentary biopsy was taken. In the study of histological preparations of the recto-sigmoid junction, a tubular-villous adenoma with moderate epithelial dysplasia (high grade) is determined, taking into account the presence of foci of squamous metaplasia in the epithelium of the glands. According to the literature, with ulcerative colitis affecting almost the entire colon for more than 10 years, there is an increased risk of colon cancer formation (10 %), which increases by 2–5 % annually. The possibility of malignancy is present in 10–20 % of patients with ulcerative colitis for more than 20 years. Other researchers describe the identified low-grade dysplasia as progressing to high-grade dysplasia and carcinoma in 29–54 % of cases. **Conclusions.** The study of patients with this pathology should be carried out against the background of thorough preparation of the large intestine with modern preparations using high-tech verification methods and polyfragmental biopsy with a qualified assessment of biopsy specimens.

Key words: ulcerative colitis, colon cancer, tubulo-villous adenoma, high grade dysplasia, colorectal cancer.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Semichev E.V., e-mail: evsemichev@yandex.ru

Citation: Semichev E.V., Gereng E.A., Chekischeva T.N., Kyazimova M.A. Tubular-villous adenoma against the background of ulcerative colitis (clinical case). *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):222–228. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230628

Введение

Аденомы относятся к наиболее распространенным доброкачественным эпителиальным новообразованиям толстой кишки [1]. В 1948 г. D. Sunderland и G. Binkley впервые выделили ворсинчатую аденому как клинко-морфологический вариант эпителиальных новообразований толстой кишки. На основании морфологического строения отмечают тубулярные, тубулярно-ворсинчатые и ворсинчатые аденомы [2]. В соответствии с современной классификацией доброкачественных опухолей ободочной и прямой кишки (ВОЗ, 2019, 5-е издание) описываемый нами далее клинический случай по МКБ-О имеет код 8263/2 (тубулярно-ворсинчатая аденома, high grade) [3].

Необходимо учитывать тот факт, что нарастание числа ворсинчатых структур и выраженная дисплазия эпителия в аденоме увеличивают риск ее малигнизации [1]. В связи с этим играет важное значение своевременная комплексная курация таких пациентов гастроэнтерологом, эндоскопистом и морфологом для своевременной верификации патологического процесса и проведения канцеропревенции [4–6]. Согласно статистическим данным ВОЗ, в 2020 г. колоректальный рак (КРР) занимал третье место после рака молочной железы и рака легких [7].

Язвенный колит, или неспецифический язвенный колит, представляет собой хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание слизистой оболочки толстой кишки, которое может стать субстратом для развития дисплазии, карциномы *in situ* и даже инвазивной аденокарциномы [8, 9]. Очаги дисплазии с озлокачествлением слизистой оболочки толстого кишечника на фоне язвенного колита представляют собой одну из самых актуальных проблем современной гастроэнтерологии, онкологии и эндоскопии. Пациенты с данным заболеванием относятся к третьей группе (высокого риска) по развитию колоректального рака (около 1 % населения), риск возникновения онкологической патологии при язвенном колите в 8 раз выше, чем в общей популяции. В России частота колоректального рака при язвенном колите составляет 1,6–6,1 % [8].

Развитие рака толстой кишки у пациентов с воспалительными заболеваниями, в отличие от sporadического рака, не имеет четкой последовательности и происходит на участках с хроническим воспалением на фоне диспластических изменений слизистой оболочки [10–12].

В литературе встречается описание очагов плоскоклеточной метаплазии, ассоциированной с язвенным колитом [13–15]. J.D. Lord et al. отмечают около 10 таких случаев в англоязычной

литературе с 1950 г. [14]. Развитие плоскоклеточной метаплазии прямой кишки связано с хроническим воспалением и с его воздействием на слизистую оболочку прямой кишки [14, 15]. Одна из гипотез развития плоскоклеточной метаплазии, а затем рака, заключается в нарушении дифференцировки базальных клеток или плюрипотентных стволовых клеток, индуцированном хроническим раздражителем [15]. Некоторые авторы ассоциируют развитие очагов плоскоклеточной метаплазии и плоскоклеточного рака прямой кишки с наличием у пациентов вируса папилломы человека, в особенности отмечается его 16-й тип [15, 16].

Описание клинического случая

Пациентка Г., 32 года, обратилась 9 июня 2020 г. в частную клинику для проведения плановой колоноскопии в условиях внутривенной седации. Основными жалобами, предъявляемыми пациенткой, были кашицеобразный стул с примесью слизи, боли в проекции толстого кишечника, снижение веса. При обследовании со взятием гистологического материала диагностирован хронический илеит, колит с умеренной, а в отдельных участках высокой активностью воспаления, наиболее характерной для неспецифического язвенного колита. В конце августа этого же года пациентка повторно обратилась в данную клинику для проведения колоноскопии, эндоскопическая картина не имела выраженных изменений. Далее пациентка наблюдалась и лечилась амбулаторно у гастроэнтеролога в течение года.

В декабре 2021 г. пациентке проведена контрольная колоноскопия в этой же клинике со взятием гистологического материала: эндоскопическая картина язвенного колита, тотальное поражение, фаза обострения. При введении аппарата в прямую кишку на расстоянии 13 см визуализируется подслизистое новообразование. Слизистая оболочка в данном участке бледная, блестящая, при попытке провести аппарат через сужение контактно-ранима, при инструментальной пальпации образование смещается конгломератом, взята полифрагментарная биопсия (гистологические препараты окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Крейбергу для выявления кератина и слизи) (рис. 1). Обзорную микроскопию проводили под малым и большим увеличением на световом микроскопе Axioskop 40 FL (Zeiss AG, Германия).

Результаты и их обсуждение

В препарате определяется слизистая и подслизистые оболочки прямой кишки. В подслизистой оболочке отмечаются признаки хронического воспаления с высокой активностью процесса, на

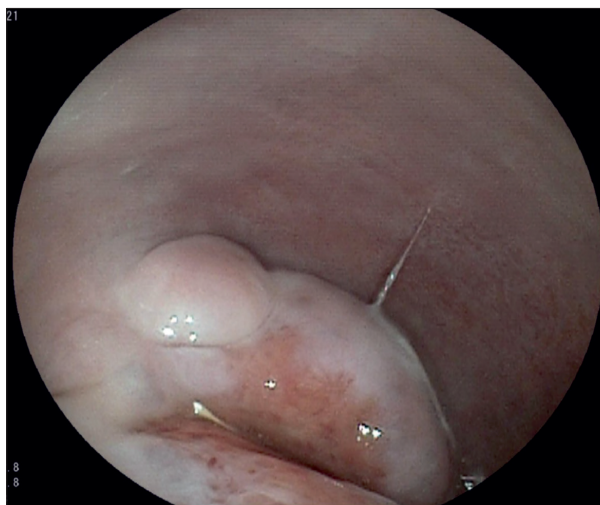


Рис. 1. Эндофотограмма ректосигмоидного перехода у пациентки с неспецифическим язвенным колитом, выполненная с применением видеокOLONОСКОПА EC-530-WL3 (Fujifilm Corp., Япония) без применения ZOOM-технологий

Fig. 1. Endophotogram of the rectosigmoid junction in a patient with ulcerative colitis, performed using video colonoscope EC-530-WL3 (Fujifilm Corp., Japan) without the use of ZOOM technologies

что указывают полнокровные сосудистого русла, отек, выраженный полиморфно-клеточный инфильтрат межворсинчатой и межжелезистой стромы, а также эпителия (рис. 2, а). В подслизистой оболочке определяется густая смешанно-клеточная инфильтрация с наличием полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток. В единичных железах, по краю эрозии, определяются очаги плоскоклеточной метаплазии (рис. 2, б). Выявляется пласт многослойного плоского эпителия с дистрофическими изменениями без подлежащих тканей (рис. 2, в). Участки тубулярно-ворсинчатой аденомы, ворсины высокие, атипично ветвятся, в отдельных полях зрения небольшие, близко расположенные, другие – кистозно расширенные (рис. 2, г). В эпителиальных клетках желез признаки дисплазии, ядра клеток крупные, структура хроматина сетчатая, есть крупные ядрышки. Определяется тубулярно-ворсинчатая аденома с дисплазией эпителия до умеренной степени (high grade), с учетом наличия очагов плоскоклеточной метаплазии в эпителии желез (рис. 2, д).

После изучения результатов гистологического исследования пациентка была направлена на консультацию к врачу-онкологу в Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского.

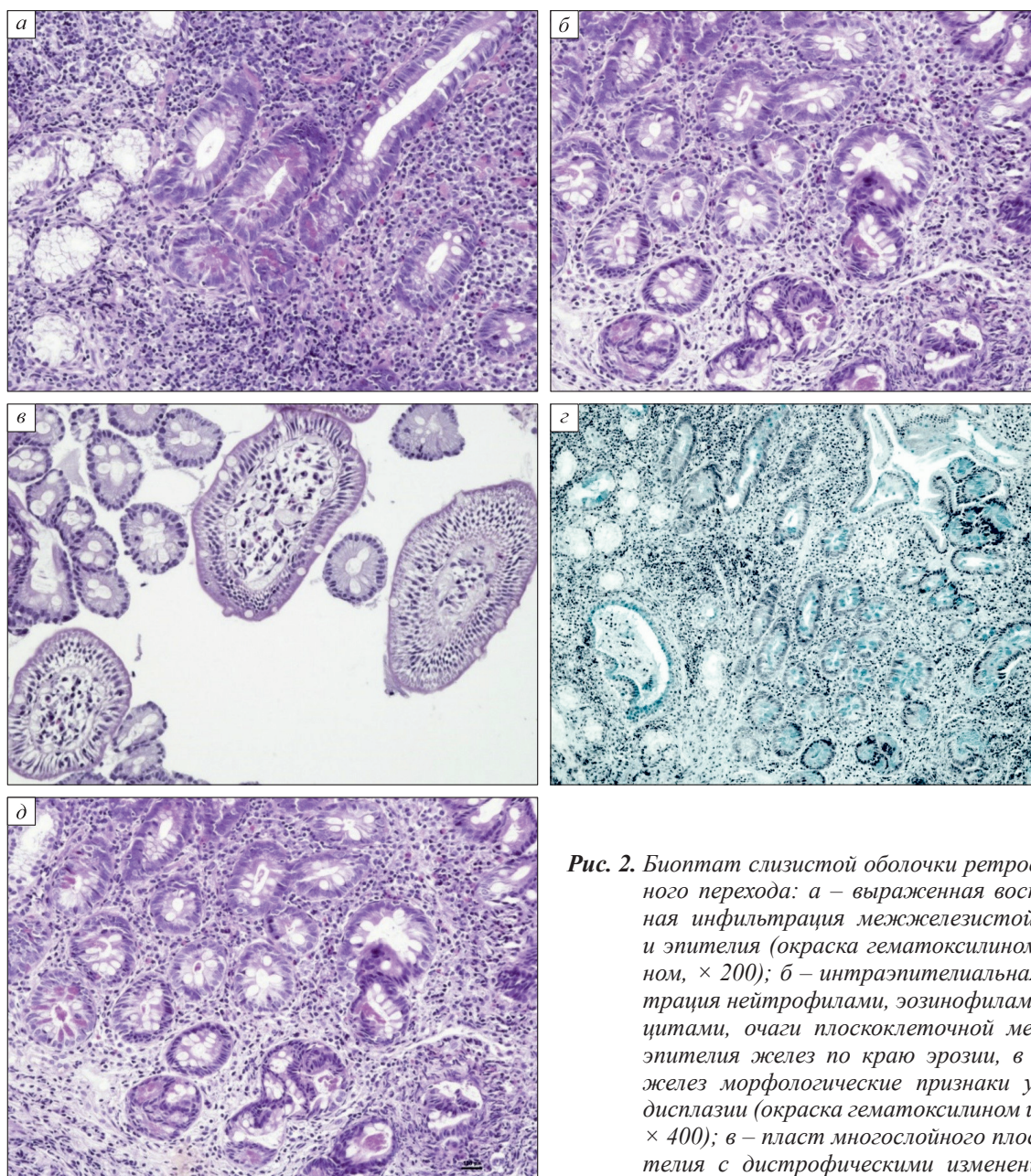


Рис. 2. Биоптат слизистой оболочки ретросигмовидного перехода: а – выраженная воспалительная инфильтрация межжелезистой стромы и эпителия (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$); б – интраэпителиальная инфильтрация нейтрофилами, эозинофилами, лимфоцитами, очаги плоскоклеточной метаплазии эпителия желез по краю эрозии, в эпителии желез морфологические признаки умеренной дисплазии (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$); в – пласт многослойного плоского эпителия с дистрофическими изменениями, без подлежащих тканей (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$); г – тубулярно-ворсинчатая

аденома, кистозно-расширенные концевые отделы желез, эпителиально-слизистая пробка в просвете железы, положительная окраска по Крейбергу, полиморфно-клеточная инфильтрация (окраска по Крейбергу, $\times 200$); д – тубулярно-ворсинчатая аденома, в эпителии желез определяются признаки дисплазии умеренной степени в сочетании с очагами плоскоклеточной метаплазии, (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$)

Fig. 2. Mucosal biopsy of the retrosigmoid junction: а – severe inflammatory infiltration of the interglandular stroma and epithelium (hematoxylin and eosin staining, $\times 200$); б – intraepithelial infiltration with neutrophils, eosinophils, lymphocytes, foci of squamous metaplasia of the epithelium of the glands along the edge of erosion, in gland epithelium morphological signs of moderate dysplasia (hematoxylin and eosin staining, $\times 400$); в – a layer of stratified squamous epithelium with dystrophic changes, without underlying tissues (hematoxylin and eosin staining, $\times 400$); г – tubulo-villous adenoma, cystic-dilated terminal sections of the glands, д – epithelial-mucosal plug in the lumen of the gland, positive Kreiberg stain, polymorphocellular infiltration (Kreiberg staining, $\times 200$); д – tubulo-villous adenoma, in the epithelium of the glands, signs of moderate dysplasia are determined in combination with foci of squamous metaplasia (hematoxylin and eosin staining, $\times 200$)

Анализ данных литературы демонстрирует редкость своевременной идентификации плоскоклеточной метаплазии, дисплазии (высокой и низкой степени) прямой и сигмовидной кишки. Ряд исследований показывает настораживающую картину, что при поражении язвенным колитом практически всей толстой кишки в течение более 10 лет (патологический процесс распространяется до печеночного изгиба) имеется повышенный риск возникновения рака толстой кишки (10 %), который увеличивается на 2–5 % ежегодно. Возможность малигнизации имеется у 10–20 % пациентов при длительности заболевания язвенным колитом более 20 лет [1, 17, 18]. Другие исследователи утверждают, что дисплазия низкой степени прогрессирует в дисплазию высокой степени и карциному в 29–54 % случаев [8].

Одними из первых в диагностике плоскоклеточной метаплазии на фоне длительного язвенного колита стали T. Maruoka et al., подтверждая случай при колоноскопии с использованием красителя Люголя и прицельной биопсии [19]. K. Fu et al. предлагают совместное использование хромоэндоскопии с 0,4%-м индигокарминовым красителем, которая позволяет ограничить здоровый участок и узкоспектральную визуализацию для более детального наблюдения картины [1, 13]. J.D. Lord et al. также рекомендуют использование узкополосной визуализации (narrow band imaging, NBI) и зондовой конфокальной лазерной эндомикроскопии (probe-based confocal laser endomicroscopy, pCLE) для ранней диагностики плоскоклеточной метаплазии, считая, что в режиме белого света диагностика затруднена [15]. Но все же последний позволяет обнаружить четкую границу между здоровым участком и патологическим очагом. Для окончательного подтверждения диагноза в обязательном порядке используется прицельная биопсия.

Частота выявления предраковых состояний говорит о сложности идентификации дисплазии. Время, в течение которого она перерождается в карциному, и частота такого перерождения неизвестны [8]. Для диагностики язвенного колита с развитием данного осложнения целесообразно проводить колоноскопию с использованием NBI, технологии спектрального цветового выделения FICE, виртуальной хромоэндоскопии i-Scan, виртуальной хромоэндоскопии VIST, pCLE, позволяющих осмотреть изменения сосудистого рисунка тканей, с обязательным взятием полифрагментарного биопсийного материала и квалифицированной оценкой биоптатов [1, 3, 8].

Заключение

Описываемый клинический случай расценивается нами как осложнение, возникшее на фоне активного течения неспецифического язвенного колита. Обследование пациентов с данной патологией необходимо проводить на фоне тщательной подготовки толстого кишечника современными препаратами, при повторных исследованиях желательна дополнительное применение высокотехнологических методов верификации (осмотр пациентов на эндоскопическом оборудовании экспертного класса в условиях внутривенной седации, а именно: выполнение колоноскопии с использованием колпачков, разглаживающих слизистую оболочку, применение технологий NBI, FICE, i-Scan, VIST) и проведение полифрагментарной биопсии с квалифицированной оценкой биоптатов. Помимо эндоскопических методик диагностики, не стоит пренебрегать оценкой клинической картины, динамики течения заболевания на фоне проводимого лечения с применением современных методов лабораторной диагностики.

Список литературы

1. Боткина Д.Д., Фесенко Д.В., Панях М.Б. Клинико-морфологическая характеристика аденом толстой кишки. *FORCIPE*. 2022;5(S3):601–602.
2. Digestive System Tumors. WHO Classification of Tumours, 5th ed., vol. 1. 2019. P. 157–191.
3. Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В. Новое в классификации доброкачественных эпителиальных опухолей толстой кишки (ВОЗ, 2019, 5-е изд.). *Арх. патол.* 2020;82(2):35–42. doi: 10.17116/patol20208202135
4. Драпкина О.М., Кашин С.В., Куваев Р.О., Кайбышева В.О., Крайнова Е.А., Шепель Р.Н., Никонов Е.Л. Современный алгоритм диагностики и ведения пациентов с хроническим атрофическим гастритом и кишечной метаплазией желудка. *Профил. мед.* 2023;26(1):7–10. doi: 10.17116/profmed2023260117
5. Бикбавова Г.Р., Ахмедов, В.А., Новиков Д.Г., Подсохин А.Н., Подсохин С.Н. Неинвазивные методы диагностики язвенного колита. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2020;8(180):114–121. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-180-8-114-121
6. Расулов А.О., Куликов А.Э., Мадьяров Ж.М., Расулов З.Р. Колоректальный рак на фоне язвенного колита (обзор литературы). *Колоректология*. 2023;22(1):138–146. doi: 10.33878/2073-7556-2023-22-1-138-146
7. Идиятуллина Э.Т., Павлов В.Н. Современные аспекты эпидемиологии, диагностики и терапии

колоректального рака. *Мед. вестн. Башкортостана*. 2017;12(4):115–121.

8. Колодей Е.Н. Язвенный колит и рак толстой кишки. Актуальные и нерешенные вопросы диагностики. *Мед. альм.* 2013;1(25):74–78.

9. Главнов П.В., Лебедева Н.Н., Кашченко В.А., Варзин С.А. Язвенный колит и болезнь Крона. Современное состояние проблемы этиологии, ранней диагностики и лечения (обзор литературы). *Вестн. СПбГУ. Мед.* 2015;4:48–72.

10. Архипова О.В. Эндоскопическая диагностика дисплазии слизистой оболочки толстой кишки у пациентов с язвенным колитом (обзор литературы). *Доказат. гастроэнтерол.* 2020;9(1):68–76. doi: 10.17116/dokgastro2020901168

11. Фадеева Н.А., Артыкова Г.Б., Филимонов А.Ю., Филина Д.С., Видяева Н.С., Чудных С.М., Князев О.В., Хомерики С.Г., Никольская К.А., Бордин Д.С., Парфенов А.И. Трудности дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника. *Эффектив. фармакотерапия.* 2022;18(14):58–65. doi: 10.33978/2307-3586-2022-18-14-58-64

12. Вербовский А.Н., Пирогов С.С., Матушкова О.С., Перфилов С.В., Вакурова Е.С., Перфильев И.Б. Эндоскопическая резекция слизистой оболочки с диссекцией в подслизистом слое как метод лечения поверхностных эпителиальных новообразований желудочно-кишечного тракта. *Доказат. гастроэнтерол.* 2019;8(1-1):50–57. doi: 10.17116/dokgastro2019801150

13. Fu K., Tsujinaka Y., Hamahata Y., Matsuo K., Tsutsumi O. Squamous metaplasia of the rectum associated with ulcerative colitis diagnosed using narrow-band imaging. *Endoscopy.* 2008;40(Suppl 2):45–46. doi: 10.1055/s-2007-966861

14. Lord J.D., Upton M., Hwang J. Confocal endomicroscopic evaluation of colorectal squamous metaplasia and dysplasia in ulcerative colitis. *Gastrointest. Endosc.* 2011;73(5):1064–1066. doi: 10.1016/j.gie.2010.09.002

15. Cheng H.M., Sitrin M.D., Satchidanand S.K., Novak J.M. Colonic squamous cell carcinoma in ulcerative colitis: Report of a case and review of the literature. *Can. J. Gastroenterol.* 2007;21(1):47–50. doi: 10.1155/2007/904081

16. Zagórowicz E., Paweł A., Rawa-Gołębiewska A., Orłowska J. Extensive squamous metaplasia in the rectum stained with a Lugol's solution in patient with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Endoscopy.* 2014;46(Suppl. 1 UCTN):377. doi: 10.1055/s-0034-1377374

17. Стяжкина С.Н., Климентов М.Н., Неганова О.А., Габдуллина П.Ф., Ермолаева А.П. Риск злокачественных процессов в толстом кишечнике при язвенном колите. *Modern Science.* 2019;5(2):52–55.

18. Лычковская Е.В., Вайс Е.Ф., Салмина А.Б., Салмин В.В. Оптическая биопсия с использованием

экзогенных флуорофоров. *Сиб. мед. обозрение.* 2015;2(92):5–14.

19. Maruoka T., Hasegawa K., Nagasako K. Squamous cell metaplasia without dysplasia of the colonic mucosa in ulcerative colitis. *Gastrointest Endosc.* 1990;36(1):65–66. doi: 10.1016/s0016-5107(90)70929-7

References

1. Botkina D.D., Fesenko D.V., Paneyakh M.B. Clinical and morphological characteristics of colon adenomas. *FORCIPE.* 2022;5(S3):601–602. [In Russian].

2. Digestive System Tumors. WHO Classification of Tumours, 5th ed., vol. 1. 2019. P. 157–191.

3. Oleinikova N.A., Malkov P.G., Danilova N.V. A new one in the classification of benign colon epithelial tumors (WHO, 2019, 5th edition). *Arkhiv patologii = Archive of Pathology.* 2020;82(2):35–42. [In Russian]. doi:10.17116/patol20208202135

4. Drapkina O.M., Kashin S.V., Kuvaev R.O., Kaibysheva V.O., Krainova E.A., Shepel R.N., Nikonov E.L. Modern algorithm of diagnostics and management of patients with chronic atrophic gastritis and intestinal metaplasia of the stomach. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health.* 2023;26(1):7–10. [In Russian]. doi: 10.17116/profmed2023260117

5. Bikbavova G.R., Akhmedov V.A., Novikov D.G., Podsokhin A.N., Podsokhin S.N. Non-invasive methods for the diagnosis of ulcerative colitis. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2020;8(180):114–121. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-180-8-114-121

6. Rasulov A.O., Kulikov A.E., Madyarov Zh.M., Rasulov Z.R. Colorectal cancer in ulcerative colitis (review). *Koloproktologiya = Coloproctology.* 2023;22(1):138–146. [In Russian]. doi: 10.33878/2073-7556-2023-22-1-138-146

7. Idiyattullina E.T., Pavlov V.N. Modern aspects of epidemiology, diagnosis and treatment of colorectal cancer. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Herald of Bashkortostan.* 2017;12(4):115–121. [In Russian].

8. Kolodei E.N. Ulcerative colitis and colon cancer. The present-day and open questions of diagnostics. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac.* 2013;1(25):74–78. [In Russian].

9. Glavnov P.V., Lebedeva N.N., Kashchenko V.A., Varzin S.A. Ulcerative colitis and Crohn's disease. The current state of the problem of an etiology, early diagnosis and treatment (review of literature). *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Meditsina = Bulletin of Saint-Petersburg University. Medicine.* 2015;4:48–72. [In Russian].

10. Arkhipova O.V. Detection of colonic dysplasia in patients with ulcerative colitis (literature review). *Dokazatel'naya gastroenterologiya = Russian Journal*

of Evidence-Based Gastroenterology. 2020;9(1):68–76. [In Russian]. doi:10.17116/dokgastro2020901168

11. Fadeeva N.A., Artykova G.B., Filimonov A.Yu., Filina D.S., Vidyayeva N.S., Chudnykh S.M., Knyazev O.V., Khomeriki S.G., Nikolskaya K.A., Bordin D.S., Parfenov A.I. Clinical case of complicated course of crohn's disease in an elderly patient. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*. 2022;18(14):58–65. [In Russian]. doi: 10.33978/2307-3586-2022-18-14-58-64

12. Verbovsky A.N., Pirogov S.S., Matushkova O.S., Perfilov S.V., Vakurova E.S., Perfilov I.B. Endoscopic submucosal dissection in the treatment of superficial gastrointestinal epithelial tumors. *Dokazatel'naya gastroenterologiya = Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2019;8(1-1):50–57. [In Russian]. doi: 10.17116/dokgastro2019801150

13. Fu K., Tsujinaka Y., Hamahata Y., Matsuo K., Tsutsumi O. Squamous metaplasia of the rectum associated with ulcerative colitis diagnosed using narrow-band imaging. *Endoscopy*. 2008;40(Suppl 2):45–46. doi: 10.1055/s-2007-966861

14. Lord J.D., Upton M., Hwang J. Confocal endomicroscopic evaluation of colorectal squamous metaplasia and dysplasia in ulcerative colitis. *Gastrointest. Endosc.* 2011;73(5):1064–1066. doi: 10.1016/j.gie.2010.09.002

15. Cheng H.M., Sitrin M.D., Satchidanand S.K., Novak J.M. Colonic squamous cell carcinoma in ulcerative colitis: Report of a case and review of the literature. *Can. J. Gastroenterol.* 2007;21(1):47–50. doi: 10.1155/2007/904081

16. Zagórowicz E., Paweł A., Rawa-Gołębiewska A., Orłowska J. Extensive squamous metaplasia in the rectum stained with a Lugol's solution in patient with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Endoscopy*. 2014;46(Suppl 1 UCTN):377. doi: 10.1055/s-0034-1377374

17. Styazhkina S.N., Klimentov M.N., Neganova O.A., Gabdullina P.F., Ermolaeva A.P. The risk of malignant processes in the large intestine in ulcerative colitis. *Modern Science*. 2019;5(2):52–55. [In Russian].

18. Lychkovskaya E.V., Weiss E.F., Salmina A.B., Salmin V.V. The optical biopsy with the use of exogenous fluorophores. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*. 2015;2(92):5–14. [In Russian].

19. Maruoka T., Hasegawa K., Nagasako K. Squamous cell metaplasia without dysplasia of the colonic mucosa in ulcerative colitis. *Gastrointest Endosc.* 1990;36(1):65–66. doi: 10.1016/s0016-5107(90)70929-7

Сведения об авторах:

Семичев Евгений Васильевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-2386-5798, e-mail: evsemichev@yandex.ru

Геренг Елена Андреевна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-7226-0328, e-mail: e-gereng@mail.ru

Чекишева Татьяна Николаевна, ORCID: 0000-0001-6905-980X, e-mail: maks726@mail.ru

Кязимова Мария Азизагаевна, ORCID: 0009-0008-5678-2896, e-mail: mariakyazimova@mail.ru

Information about the authors:

Evgeny V. Semichev, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-2386-5798, e-mail: evsemichev@yandex.ru

Elena A. Gereng, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-7226-0328, e-mail: e-gereng@mail.ru

Tatyana N. Chekisheva, ORCID: 0000-0001-6905-980X, e-mail: maks726@mail.ru

Maria A. Kyazimova, ORCID: 0009-0008-5678-2896, e-mail: mariakyazimova@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2023

После доработки 12.07.2023

Принята к публикации 12.09.2023

Received 16.06.2023

Revision received 12.07.2023

Accepted 12.09.2023

Клиническое наблюдение эндомиокардита Леффлера

С.С. Яшин, Ю.Р. Юнусова, М.Н. Чадаева

Самарский государственный медицинский университет Минздрава России
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

Резюме

Эозинофильный эндомиокардит вызывается инфильтрацией эозинофилами тканей сердца с развитием специфического воспаления. Главным этиологическим фактором заболевания является значительное увеличение уровня эозинофилов в периферической крови. Причинами синдрома Леффлера могут быть такие факторы и патологические состояния, как идиопатический гиперэозинофильный синдром, аллергические заболевания, паразитарные инфекции, аутоиммунные процессы, онкологические заболевания. Представлен клинический случай синдрома Леффлера с поражением сердца, легких, печени, почек и поджелудочной железы у пациента 84 лет. В статье обсуждаются сложности дифференциальной диагностики данного синдрома из-за индивидуальности клинической картины и признаков течения. Своевременная диагностика подобного состояния позволит не допустить быстрого развития тяжелых осложнений и провести соответствующую терапию, что значительно продлит жизнь пациентов с синдромом Леффлера. Однако при наличии неспецифических симптомов диагностика данного заболевания может представлять диагностическую сложность для врача.

Ключевые слова: эндомиокардит, синдром Леффлера, эозинофилы, кардиомиопатия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Яшин С.С., e-mail: s.s.yashin@samsmu.ru

Для цитирования: Яшин С.С., Юнусова Ю.Р., Чадаева М.Н. Клиническое наблюдение эндомиокардита Леффлера. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):229–234. doi: 10.18699/SSMJ20230629

Clinical case of Loeffler's endomyocarditis

S.S. Yashin, Yu.R. Yunusova, M.N. Chadayeva

Samara State Medical University of Minzdrav of Russia
443099, Samara, Chapaevskaya st., 89

Abstract

Eosinophilic endomyocarditis is caused by direct infiltration of heart tissue by eosinophils with the development of specific inflammation. The main etiological factor of the disease is a significant increase in the level of eosinophils in peripheral blood. Loeffler syndrome can be caused by such factors and pathological conditions as idiopathic hypereosinophilic syndrome, allergic diseases, parasitic infections, autoimmune processes, cancer. A clinical case of Loeffler syndrome in an 84-year-old patient with heart, lung, liver, kidney and pancreatic lesions is presented. Difficulties of differential diagnostics of this syndrome because of individual clinical picture and signs of the course are discussed in the article. Timely diagnosis of such a condition will prevent the rapid development of severe complications and carry out appropriate therapy, which will significantly prolong the life of patients with Loeffler syndrome. However, in the presence of nonspecific symptoms, the diagnosis of this disease may be diagnostically difficult for the physician.

Key words: endomyocarditis, Loeffler's syndrome, eosinophils, cardiomyopathy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Yashin S.S., e-mail: s.s.yashin@samsmu.ru

Citation: Yashin S.S., Yunusova Yu.R., Chadayeva M.N. Clinical case of Loeffler's endomyocarditis. *Sibirskiy nauchnyy medicinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):229–234. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230629

Введение

Эозинофильный эндомиокардит, или синдром Леффлера, – редко встречающееся приобретенное воспалительное заболевание эндокарда и миокарда, характеризующееся преобладанием эозинофильного компонента в воспалительном инфильтрате и диастолической дисфункцией желудочков в клинической картине. Встречается в основном в субтропиках и тропиках, чаще всего – у мужчин 30–50 лет, случаи у детей и пожилых единичные. Диагностика синдрома Леффлера затруднена отсутствием кардиомегалии и многообразием клинических вариантов застойного симптомокомплекса.

На сегодняшний день эндокардит Леффлера рассматривают как проявление гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), протекающего с преимущественным поражением сердца. ГЭС включает две клинические формы: синдром Леффлера I (летучие эозинофильные инфильтраты в легких) и синдром Леффлера II (эндокардит Леффлера). Поражение сердца – основная причина осложнений и летальных исходов при ГЭС [1]. Выделяют первичный, вторичный и идиопатический гиперэозинофильные синдромы. Первичный тип связан с миелопролиферативными заболеваниями (лейкоз, лимфома). Вторичный гиперэозинофильный синдром является исходом аллергических, паразитических заболеваний либо опухолевых процессов, когда количество эозинофилов резко увеличено. Идиопатический тип – крайне редкий вариант, при котором гиперэозинофилия развивается без видимой причины [2, 3]. В течении эндокардита Леффлера выделяют три стадии: острое воспаление и некроз (первые 1–2 мес.), стадия тромбоза (2–10 мес.), стадия фиброза (1–2 года). Фиброзу подвергается эндо- и миокард, хорды и нередко клапаны. Таким образом развивается рестриктивная кардиомиопатия с пороками сердца [2].

Повышенное количество эозинофилов (более 15000/л) приводит к инфильтрации этими клетками тканей сердца, легких, центральной нервной системы, селезенки и желудочно-кишечного тракта [4]. При дегрануляции эозинофилов выделяются катионные белки, вызывающие повреждение в эндо- и миокарде. Катионные белки также способны связываться с анионами эндотелиальных белков и в дальнейшем снижать антикоагулянтную активность, что может привести к тромбообразованию [5]. Крайне редко подобное поражение сердца бывает изолированным (только сердце) и первичным (скорее, идиопатическим). Поражение сердца зависит не только от количества эозинофилов, но и от числа активированных клеток, подвергшихся дегрануляции.

Дегранулирующие клетки должны составлять не меньше 15–20 % всех циркулирующих эозинофилов. Помимо сердца, в патологический процесс могут вовлекаться и ряд других органов – мелкие сосуды, легкие, костный и головной мозг [1]. Также дегрануляция эозинофилов может приводить к фиброзу и рестриктивным нарушениям гемодинамики [6, 7].

Клиническая картина индивидуальна для каждого пациента, можно выделить и общие признаки течения. На начальных стадиях заболевания пациент может предъявлять жалобы на болезненность в области живота, потерю массы тела, усталость, повышение температуры, общую слабость, лихорадку, кашель, сыпь. Несмотря на то что поражение сердца вначале может протекать бессимптомно, у 50 % пациентов одышка появляется уже на ранних этапах заболевания. Конечной стадией развития является выраженная рестриктивная кардиомиопатия с признаками нарастающей сердечной недостаточности, которая характеризуется резким снижением функции одного или обоих желудочков с их острой диастолической дисфункцией [2, 8]. Позже к симптомам присоединяется увеличение живота из-за асцита, кровохарканье, резкое ухудшение общего состояния по причине метаболических нарушений [1].

Проявления миокардита на ЭКГ включают изменения сегмента ST и зубца T, атриовентрикулярную блокаду, блокаду ветви пучка и желудочковую аритмию, т.е. в его диагностике ЭКГ не имеет специфических показателей [9]. Цветное доплеровское ультразвуковое исследование является еще одним неинвазивным способом получить информацию о структуре сердца, клапанах, движении стенки желудочка и наличии отеков стенок желудочков, также о наличии тромба и перикардального выпота [10]. Однако многие факторы влияют на точность результатов доплерографии сердца, таким образом, у пациентов с определенными заболеваниями могут быть ложноотрицательные результаты. Тем не менее данный метод может помочь устранить определенные факторы интерференции. Уровень заболеваемости низкий, но есть вероятность в постановке ошибочного диагноза.

На МРТ можно наблюдать отеки миокарда, которые обнаруживаются по локальной или диффузной гиперинтенсивности. Примерно у 32–57 % пациентов с миокардитом имеется перикардальный выпот. МРТ-визуализация может точно оценить количество, распределение и гемодинамическую значимость перикардального выпота.

Биопсия эндокарда является золотым стандартом диагностики миокардита и играет важную роль в развитии заболевания. В одном исследо-

вании сообщалось, что она показала эозинофильную инфильтрацию миокарда, которая почти полностью утихла, и после двух недель лечения наблюдалось значительное клиническое восстановление. Кроме того, образцы биопсии эндомиокарда, полученные через 60 дней после первой биопсии, показали, что эозинофильный миокардит стихает, сопровождаясь альтернативным фиброзом и нормальным миокардом. Тем не менее данный метод имеет несколько ограничений, таких как необходимость технической поддержки и травма. Биопсия также является не очень чувствительным методом исследования (примерно 50 %), так как инфильтрация обычно очаговая. Острый инфаркт миокарда, тромбоз левого желудочка или образование аневризмы являются противопоказаниями для ее проведения. Риски биопсии миокарда увеличиваются с очевидным увеличением сердца, тяжелой сердечной недостаточностью и недавней инфекцией. Поэтому выполнение данной процедуры ограничено [9].

В настоящее время нет масштабных клинических испытаний для медикаментозной терапии эозинофильного миокардита. Существующие методы лечения в основном включают симптоматическую и иммуносупрессивную терапию. Конкретных данных относительно прогноза эозинофильного миокардита нет: около 10 % пациентов умрут во время госпитализации и примерно 30 % проживут менее трех лет. В дополнение к рутинному наблюдению для выписанных пациентов при возможности должна рассматриваться регулярная эндомиокардиальная биопсия [9].

Клиническое наблюдение

Пациент Ч., 85 лет, был доставлен бригадой скорой медицинской помощи в Самарскую областную клиническую гериатрическую больницу в марте 2022 г. с направительным диагнозом: Сердечная недостаточность неуточненная. Жалобы при поступлении на нарастающие в последние 2–3 недели общую слабость, одышку при минимальной физической нагрузке, перебои в работе сердца, сердцебиение, периодические эпизоды потери сознания с падениями (последние три года), боли в спине, суставах, пояснице. Фибрилляция предсердий, постоянная форма на протяжении нескольких лет. Три года назад в Самарском областном клиническом кардиологическом диспансере был поставлен диагноз: ИБС. Фибрилляция предсердий, постоянная форма с тахи-, нормосистолией желудочков. Относительная недостаточность митрального и трикуспидального клапанов 1–2 ст. Неполная блокада правой ножки пучка Гиса. По результатам эхокардиографического обследования диастолическая дисфункция левого желудочка по 1 типу.

По данным объективного осмотра общее состояние средней степени тяжести. Кожные покровы бледно-розовые. В легких дыхание ослаблено в нижних отделах. Хрипы в нижних отделах легких. Частота дыхательных движений – 22 в минуту. Артериальное давление 100/50 мм рт. ст. Ритм неправильный. Частота сердечных сокращений 122 в минуту. Пульс 104 уд/мин. Живот в эпигастриальной области чувствительный при пальпации. Печень выступает из-под края реберной дуги на 1,5 см. Отеки стоп, голеней до верхней трети. Симптом Пастернацкого положительный справа и слева.

Из анамнеза известно, что в 2007 г. пациенту была проведена трансуретральная резекция простаты по поводу рака предстательной железы II стадии, проведен курс гормонотерапии. После операции рецидивов не наблюдалось. Наблюдался в поликлинике по месту жительства по поводу хронической ишемии головного мозга и вестибулярных нарушений. Принимал ацетилсалициловую кислоту 75 мг, винпоцетин 5 мг, бетатагистин 24 мг, розувастатин 10 мг, мемантин 10 мг, пирибедил 50 мг. Антиаритмическую и гипотензивную терапию не получал.

Консультация невролога: Гипотония неясной этиологии. Дисциркуляторная энцефалопатия 3-й ст., смешанного генеза, субкомпенсация. Синкопальные пароксизмы.

Общий анализ крови показал следующее: анемия легкой степени тяжести (количество эритроцитов $3,7 \times 10^{12}/л$, содержание гемоглобина 102 г/л), тромбоцитопения (количество тромбоцитов $140 \times 10^9/л$), лейкоцитоз (количество лейкоцитов $22,3 \times 10^9/л$). Лейкоформула: базофилы 1 %, эозинофилы 3 %, палочкоядерные нейтрофилы 0 %, сегментоядерные нейтрофилы 76 %, лимфоцитопения 8 %, моноцитоз 12 %. Абсолютное содержание эозинофилов 682/мкл. Выполнена коагулограмма: протромбиновый индекс снижен (57 %), международное нормализованное отношение повышено (1,74), активированное частичное тромбопластиновое время удлинено (26,4 с). Анализ на тропонин I отрицательный.

Биохимический анализ крови выявил элевацию активности печеночных ферментов (АлАТ 117 Ед/л, АсАТ 98 Ед/л), гипопроteinемию (содержание общего белка 56 г/л), повышение уровня азотистых продуктов обмена (концентрация креатинина 186 мкмоль/л, мочевины – 11,2 ммоль/л). В общем анализе мочи: содержание белка 0,8 г/л, лейкоциты в большом количестве, эритроциты – 10–15 в поле зрения.

По данным электрокардиографии: вольтаж снижен, фибрилляция предсердий, электрическая ось сердца не отклонена, блокада правой ножки пучка Гиса, гипертрофия правого желудочка,

диффузное нарушение процесса реполяризации. Выполнена компьютерная томография органов грудной клетки: умеренный застой по малому кругу кровообращения. Двусторонний малый гидроторакс. Кардиомегалия. Атеросклероз аорты.

На момент нахождения в стационаре пациент получал инфузионную терапию, калия хлорид 1,5 мг в сутки, индапамид 1,5 мг в сутки, спиронолактон 50 мг в сутки, карведилол 12,5 мг 2 раза в день, лозартан 25 мг в сутки, аторвастатин 10 мг в сутки, цефтриаксон 1 г в сутки.

На второй день госпитализации врач вызван в палату. При осмотре: пациент без сознания, зрачки широкие, OD=OS, фотореакция отсутствует, кожные покровы цианотичные, холодные, влажные, дыхание отсутствует, пульсация на сонных артериях отсутствует, артериальное давление не определяется, частота дыхательных движений 0, частота сердечных сокращений 0. Начаты реанимационные действия. Вызван реаниматолог. Место проведения реанимации – палата. Массаж сердца осуществлялся непрямой метод, 100 нажатий в минуту. Проведена интубация трахеи, искусственная вентиляция легких мешком Амбу. Реанимационные мероприятия по протоколу ACLS проводились на протяжении 30 минут, безуспешны. Констатирована биологическая смерть.

Заключительный клинический диагноз: Основное заболевание ИБС. Фибрилляция предсердий, постоянная форма, тахисистолия. Хроническая сердечная недостаточность НПБ стадии, III функционального класса по NYHA. Дыхательная недостаточность II степени. Дегенеративные изменения атриовентрикулярных клапанов. Осложнения: Двусторонний гидроторакс. Застойная пневмония. Отек легких. Тромбоэмболия легочной артерии? Сопутствующие заболевания: Церебральный атеросклероз. Хроническая ишемия головного мозга II–III степени. Гипотония. Хроническая анемия легкой степени тяжести. Хронический тубулоинтерстициальный нефрит. Рак предстательной железы (после комбинированного лечения в 2007 г.).

На патолого-анатомическом вскрытии обнаружено: сердце массой 400 г, миокард на разрезе коричневого цвета с мелкими белесоватыми прослойками, в области межжелудочковой перегородки миокард красноватого цвета, эндокард утолщен, гладкий, блестящий, атриовентрикулярные клапаны утолщены, деформированы. Интима аорты с наличием обильного количества атероматозных бляшек, коронарные артерии с наличием обильного количества бляшек с кальцинозом, стенозирующих просвет до 40 %. В полостях сердца и крупных сосудах смешанные сгустки крови.

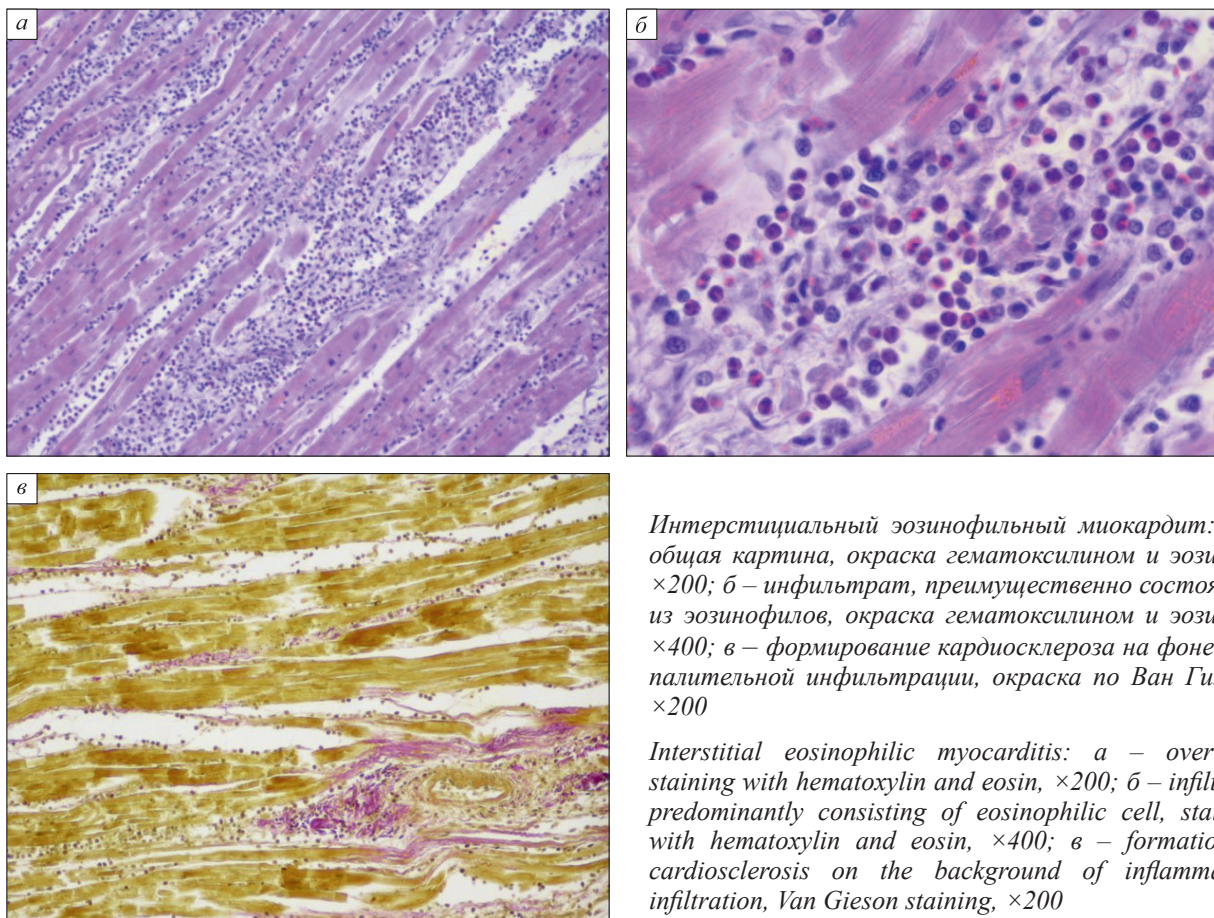
Ткань легких во всех отделах полнокровная, с поверхности разреза стекает кровь и обильная

отечная жидкость, масса правого легкого 670 г, левого – 540 г. Слизистая оболочка гортани, трахеи и крупных бронхов бледно-синюшная. В просвете трахеи и главных бронхов слизь. Печень массой 1650 г, с гладкой капсулой, на разрезе коричневатого-желтоватого цвета с крапом, напоминающим мускатный орех. Поджелудочная железа дольчатая, серо-розового цвета. Почки массой 250 г, капсула белесоватая, плотная, снимается с трудом, поверхность бугристая с наличием многочисленных западающих рубцов, ткань почек синюшная, дряблой консистенции, граница между слоями стерта, корковый слой обычной толщины. Селезенка массой 560 г, с гладкой капсулой, пульпа темно-вишневого цвета, соскоба не дает.

Проведено гистологическое исследование препаратов в рутинной окраске методом световой микроскопии. Миокард умеренно полнокровный, с отеком стромы, массивной интерстициальной инфильтрацией из большого количества эозинофилов с примесью лимфогистиоцитарных элементов, полиморфно-ядерных лейкоцитов. Во всех полях зрения многочисленные очаги фиброза стромы (рисунок, а, б).

Легкие – умеренное кровенаполнение, многочисленные поля ателектаза, по альвеолярным перегородкам инфильтрация из лимфогистиоцитарных элементов и небольшого количества эозинофилов, в просвете альвеол следы отечной жидкости. Печень – умеренное полнокровие по центральным отделам долек, по портальным трактам массивная инфильтрация из лимфогистиоцитарных элементов, полиморфно-ядерных лейкоцитов, большого количества эозинофилов. Почки – умеренное неравномерное полнокровие, белковая дистрофия эпителия почечных канальцев, гиалиноз стенок сосудов и отдельных клубочков, отложения в строме слабозонофильных масс, диффузная воспалительная инфильтрация с преобладанием эозинофилов и полиморфно-ядерных лейкоцитов, фокусы некроза. Селезенка – выраженное неравномерное кровенаполнение, гиалиноз стенок сосудов, значительное количество эозинофилов в красной пульпе, в отдельных полях зрения структуры, напоминающие макрофагальные гранулемы. Поджелудочная железа – слабое кровенаполнение, массивная инфильтрация из большого количества эозинофилов, полиморфно-ядерных лейкоцитов, некроз экзокринных желез, выраженный отек островков Лангерганса, резко выраженный липоматоз в дольках и междольковых пространствах.

Дополнительно выполнено окрашивание гистологических препаратов по Ван Гизону для определения развивающегося фиброза миокарда. Выявлены волокна коллагена разной степени зрелости и разной толщины (рисунок, в).



Интерстициальный эозинофильный миокардит: а – общая картина, окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$; б – инфильтрат, преимущественно состоящий из эозинофилов, окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; в – формирование кардиосклероза на фоне воспалительной инфильтрации, окраска по Ван Гизону, $\times 200$

Interstitial eosinophilic myocarditis: a – overview, staining with hematoxylin and eosin, $\times 200$; б – infiltrate, predominantly consisting of eosinophilic cell, staining with hematoxylin and eosin, $\times 400$; в – formation of cardiosclerosis on the background of inflammatory infiltration, Van Gieson staining, $\times 200$

Заключительный патолого-анатомический диагноз

Основное заболевание: эндомиокардит Леффлера (склероз эндокарда, эозинофильный миокардит) с эозинофильным поражением печени по типу острого гепатита, поражением легких по типу интерстициальной пневмонии, поражением почек по типу острого интерстициального нефрита, поджелудочной железы по типу острого панкреатита. Осложнения: Отек легких. Сопутствующие заболевания: Рак предстательной железы (после комбинированного лечения, по данным истории болезни). Амилоидоз почек.

При сопоставлении клинического и патолого-анатомического диагнозов выявлено расхождение II категории ввиду объективных причин: кратковременности пребывания в стационаре (11 ч) и сложностей диагностики основного заболевания.

Обсуждение

Данный клинический пример демонстрирует сложности дифференциальной диагностики синдрома Леффлера. Так как эозинофильный эндомиокардит может затрагивать не только сердце, но и другие органы, диагностировать его проблематично. Клиническая картина очень разнообраз-

на, в большинстве случаев синдром Леффлера проявляется эозинофилией, однако по данным обследований относительное содержание эозинофилов нормальное (3 %), а их абсолютное количество повышено, составляя $0,68 \times 10^9$ /л. В литературе описан всего один подобный случай подтвержденного эндокардита без периферической эозинофилии [11].

Патогенез синкопальных состояний при синдроме Леффлера остается мало изученным, хотя и описывается во многих наблюдениях. Так, в одной из современных работ [12] причиной обмороков являлось поражение трикуспидального клапана с тромбозом правого желудочка, а оперативное лечение с протезированием клапана позволило полностью избавить пациента от синкопальных эпизодов. У данного пациента синкопальные пароксизмы, вероятнее всего, были спровоцированы нарушениями внутрисердечной гемодинамики на фоне фибрилляции предсердий и миокардита. Для уточнения патогенеза обмороков целесообразно проводить холтеровское мониторирование ЭКГ.

Признаки сердечной недостаточности позволили заподозрить повреждение миокарда, однако отсутствие маркеров некроза в плазме крови и отсутствие четкой ЭКГ-картины не позволило диа-

гнозировать патологию. Прижизненно клиническая картина была интерпретирована лечащим врачом как проявление фибрилляции предсердий с аритмогенной кардиомиопатией, проявлением которой и стала сердечная недостаточность. В данном случае бикаузальный вариант повреждения миокарда представлялся возможным, но четкая связь фиброзных изменений с эозинофильными инфильтратами по данным гистологического исследования отвергает эту гипотезу.

Признаки повреждения других органов, например почек и печени, у пожилых пациентов зачастую интерпретируются как проявления недиагностированных хронических заболеваний, а поражение легких с точки зрения лучевой диагностики неотличимо от аналогичного при пневмониях различной этиологии.

Эозинофильный эндомиокардит является редким и опасным для жизни заболеванием. Его этиология и патогенез требуют дальнейшего изучения. Так как клиническая картина очень своеобразна, диагностировать синдром Леффлера затруднительно. Заболевание характеризуется эозинофилией, поэтому необходимо расширить наше понимание о его взаимосвязи с другими патологиями. Прогноз больных эозинофильным эндомиокардитом в большинстве случаев неблагоприятный, следовательно, необходимы постоянные усилия в отношении его диагностики и лечения.

Список литературы / References

1. Sheikh H., Siddiqui M., Uddin S.M.M., Haq A., Yaqoob U. The clinicopathological profile of eosinophilic myocarditis. *Cureus*. 2018;10(12):e3677. doi: 10.7759/cureus.3677
2. Mubarik A., Iqbal A.M. Loeffler endocarditis. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018.
3. Dregoes M.I., Iancu A.C., Lazar A.A., Balanescu S. Hypereosinophilic syndrome with cardiac involvement in a patient with multiple malignancies. *Med. Ultrason*. 2018;20(3):399–400. doi: 10.11152/mu-1574
4. Коган Е.А., Благова О.В., Алиева И.Н., Комаров Р.Н., Куклева А.Д. Клинико-морфологическое наблюдение эндомиокардита Леффлера. *Арх. патол.* 2020;82(3):47–50. doi: 10.17116/patol20208203147
5. Kogan E.A., Blagova O.V., Alieva I.N., Komarov R.N., Kukleva A.D. Clinical and morphological observation of Löffler's endomyocarditis. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology*. 2020;82(3):47-50. [In Russian]. doi: 10.17116/patol20208203147
6. Muñoz M.T., Eiras M., Selas S., Garcia J. Loeffler endocarditis associated with a massive right intraventricular thrombus. *Intensive Care Med*. 2018;44(12):2296–2297. doi: 10.1007/s00134-018-5297-3
7. Alam A., Thampi S., Saba S.G., Jermyn R. Loeffler endocarditis: a unique presentation of right-sided heart failure due to eosinophil-induced endomyocardial fibrosis. *Clin. Med. Insights. Case Rep*. 2017;10:1179547617723643. doi: 10.1177/1179547617723643
8. Jin X., Ma C., Liu S., Guan Z., Wang Y., Yang J. Cardiac involvements in hypereosinophilia-associated syndrome: Case reports and a little review of the literature. *Echocardiography*. 2017;34(8):1242–1246. doi: 10.1111/echo.13573
9. Dinis P., Teixeira R., Puga L., Lourenço C., Cachulo M.C., Gonçalves L. Eosinophilic myocarditis: clinical case and literature review. *Arq. Bras. Cardiol*. 2018;110(6):597–599. doi: 10.5935/abc.20180089
10. Zhong Z., Yang Z., Peng Y., Wang L., Yuan X. Diagnosis and treatment of eosinophilic myocarditis. *J. Transl. Autoimmun*. 2021;4:100118. doi: 10.1016/j.jtauto.2021.100118
11. Doyen D., Buscot M., Eker A., Dellamonica J. Endomyocardial fibrosis complicating primary hypereosinophilic syndrome. *Intensive Care Med*. 2018;44(12):2294–2295. doi: 10.1007/s00134-018-5300-z
12. Bohné M., Bohnen S., Voigt H.C., van der Schalk H., Chung D.U., Willems S., Klingel K., Kivelitz D., Bahlmann E. Systemic thrombo-embolic events in a middle-aged male with Loeffler endocarditis without peripheral eosinophilia-a case report. *BMC Cardiovasc. Disord*. 2022;22(1):541. doi: 10.1186/s12872-022-02911-3
13. Zhao Y., Jiang P., Chen X., Yao G. Case report: Different clinical manifestations of the rare Loeffler endocarditis. *Front. Cardiovasc. Med*. 2022;9:970446. doi: 10.3389/fcvm.2022.970446

Сведения об авторах:

Яшин Сергей Сергеевич, ORCID: 0000-0003-3168-3695, e-mail: s.s.yashin@samsmu.ru

Юнусова Юлия Рафаильевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-0026-309X, e-mail: yu.r.yunusova@samsmu.ru

Чадаева Мария Николаевна, ORCID: 0009-0005-3760-1322, e-mail: mchadaewa03@gmail.com

Information about the authors:

Sergey S. Yashin, ORCID: 0000-0003-3168-3695, e-mail: s.s.yashin@samsmu.ru

Yulia R. Yunusova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0026-309X, e-mail: yu.r.yunusova@samsmu.ru

Maria N. Chadaeva, ORCID: 0009-0005-3760-1322, e-mail: mchadaewa03@gmail.com

Поступила в редакцию 30.05.2023

После доработки 27.07. 2023

Принята к публикации 19.09.2023

Received 30.05.2023

Revision received 27.07. 2023

Accepted 19.09.2023

Академик РАН
Леонид Семенович Барбараш
(22.06.1941 — 14.11.2023)



14 ноября 2023 г. в возрасте 82 лет ушел из жизни Леонид Семенович Барбараш, выдающийся советский и российский кардиохирург, талантливый ученый, заслуженный врач Российской Федерации, академик РАН, главный научный сотрудник Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

В 1964 г. Л.С. Барбараш окончил Кемеровский медицинский институт и работал хирургом Центральной районной больницы Кемеровского района. С 1967 по 1969 г. – клинический ординатор кафедры факультетской хирургии Кемеровского медицинского института, с 1970 по 1972 г. – аспирант кафедры сердечно-сосудистой хирургии ЦОЛИУВ.

В 1972 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Трансплантация аортальных ксеноклапанов сердца». С 1973 г. работал на кафедре хирургических болезней КМИ. В 1985 г. защитил докторскую диссертацию на тему «Экспериментально-клиническое обоснование применения новых моделей ксенобиопротезов в хирургическом лечении митрального порока сердца».

С 1978 г. под его непосредственным руководством велась работа по созданию новых моделей биопротезов для сердечно-сосудистой хирургии, результатом чего стало создание в Кемерове первого в стране предприятия по производству биопротезов клапанов сердца и

сосудов. Леонид Семенович Барбараш и его ученики разработали и внедрили в практику сердечно-сосудистых клиник принципиально новое поколение биопротезов, обладающих уникальными свойствами.

Кемеровский кардиологический диспансер, основанный Леонидом Семеновичем в 1990 г., назван в его честь 13 июля 2016 г.

В 2000 г. им была создана единственная в России кафедра кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», которой он заведовал с 2000 по 2007 г., а после этого являлся профессором данной кафедры.

С 2002 по 2012 г. был председателем Кузбасского научного центра (филиал Сибирского отделения РАН).

В 2008 г. организовал Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, где впервые были объединены усилия и научный потенциал кардиологов, кардиохирургов, специалистов по созданию медицинских изделий и были внедрены такие технологии, как реконструктивная хирургия мультифокального атеросклероза, операции при врожденных пороках сердца новорожденным детям, процедуры эндоваскулярной хирургии коронарных и каротидных бассейнов, малоинвазивные технологии в коррекции приобретенных пороков сердца, хирургическая коррекция сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции.

Вершиной организации медицинской помощи при болезнях системы кровообращения и важнейшей вехой в лечении терминальной хронической сердечной недостаточности явилась выполненная впервые в Кузбассе операция ортотопической трансплантации сердца.

Под руководством Леонида Семеновича защищено 14 докторских и 30 кандидатских диссертаций, он является автором более 700 научных трудов.

Л.С. Барбараш имеет региональные, ведомственные и государственные награды: Почетный профессор Кузбасса, Почетный гражданин Кемеровской области, Герой Кузбасса, Отличник Здравоохранения, Заслуженный врач РФ, Почетный работник науки и высших технологий РФ, Орден Почета, Орден Пирогова.

Память о Леониде Семеновиче навсегда останется в сердцах родных, близких, друзей и коллег.

Подписаться на журнал можно по объединенному каталогу «Пресса России»
и каталогу «Урал-Пресс», индекс 11224

Подписано в печать 27.12.2023. Выход в свет 29.12.2023. Формат 60×84/8.
Усл. печ. л. 27,44. Уч.-изд. л. 25,63. Тираж 52 экз. Заказ № 307. Цена свободная.

Адрес издателя:
Сибирское отделение РАН
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 17

Адрес типографии:
Отпечатано в Сибирском отделении РАН
630090, Новосибирск, Морской просп., 2
Тел.: (383) 330-84-66
E-mail: e.lyannaya@sb-ras.ru