

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9556 (Online)

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 11
№ 4
2026



ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9556 (Online)

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 11
№4
2026

Главный редактор

Колесников С.И., академик РАН (РФ, Иркутск – Москва)

Зам. главного редактора

Рычкова Л.В., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)
Сорокинов В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)
Сычёв Д.А., академик РАН (РФ, Москва)
Щуко А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Ответственный секретарь

Жовкля Н.А. (РФ, Иркутск)

Редакционная коллегия

Аль-Джефут М., доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)
Балахонов С.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)
Григорьев Е.Г., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)
Грибовский А.М., д.м.н., профессор (РФ, Архангельск)
Колесникова Л.И., академик РАН (РФ, Иркутск)
Мадаева И.М., д.м.н. (РФ, Иркутск)
Малов И.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)
Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания, Оксфорд)
Нямдаваа К., академик Монгольской академии медицинских наук (Монголия, Улан-Батор)
Савилов Е.Д., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)
Семёнова Н.В., д.б.н. (РФ, Иркутск)
Шпрах В.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)
Юров И.Ю., д.м.н., профессор (РФ, Москва)
Юрева Т.Н., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)
Янагихара Р., доктор наук, профессор (США, Гавайи)

Редакционный совет

Айзман Р.И., д.б.н. (РФ, Новосибирск); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Ахутина Т.В., д.психол.н., профессор (РФ, Москва); Белокрыницкая Т.Е., д.м.н., профессор (РФ, Чита); Бохан Н.А., академик РАН (РФ, Томск); Бывальцев В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Данчинова Г.А., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дубровина В.И., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дыгай А.М., академик РАН (РФ, Томск); Заборовский А.В., д.м.н. (РФ, Москва); Ковров Г.В., д.м.н. (РФ, Москва); Колосов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); Колосова Н.Г., д.б.н., профессор (РФ, Новосибирск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Кривошапкин А.Л., член-корр. РАН (РФ, Москва); Кудлай Д.А., член-корр. РАН (РФ, Москва); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (РФ, Калининград); Манчук В.Т., член-корр. РАН (РФ, Красноярск); Маскин С.С., д.м.н., профессор (РФ, Волгоград); Огарков О.Б., д.м.н. (РФ, Иркутск); Осипов А.Н., член-корр. РАН (РФ, Москва); Осипова Е.В., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Перунова Н.Б., д.м.н., доцент, профессор РАН (РФ); Петрова А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Плеханов А.Н., д.м.н. (РФ, Улан-Удэ); Плотников А.О., к.м.н. (РФ, КНР); Погодина А.В., д.м.н. (РФ, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Савченков М.Ф., академик РАН (РФ, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); Уварова Е.В., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Фотекова Т.А., д.психол.н., доцент (РФ, Абакан); Хохлов А.Л., член-корр. РАН (РФ, Ярославль); Эпштейн О.И., член-корр. РАН (РФ, Москва); Янг Йонгхонг, иностранный член РАН (Китай, Пекин).

Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведённых фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений, а также за то, что в материалах не содержится данных, не подлежащих открытой публикации.

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

Адрес издателя и редакции: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

Тел.: (3952) 20-90-48

<http://actabiomedica.ru> E-mail: journalirk@gmail.com

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР). Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС 77–69383 от 06 апреля 2017 г.

До апреля 2017 г. журнал имел название «Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук» (Бюллетень ВСНЦ СО РАМН). Основан в 1993 году.

Соучредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Фёдорова» Минздрава России) (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А).

Журнал включён в Реферативный журнал и базу данных ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory». Журнал индексируется в таких базах данных, как РИНЦ, Scopus, DOAJ и др.

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук».

Подписной индекс 243447. Свободная цена.

ISSN 2541–9420 (Print)

ISSN 2587–9596 (Online)

Ключевое название: *Acta Biomedica Scientifica*

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9556 (Online)

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 11
Nº4
2026

Chief Editor

Kolesnikov S.I., Member of the RAS (Russia, Irkutsk – Moscow)

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Corresponding Member of the RAS (Russia, Irkutsk)
 Sorokovikov V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
 Sychev D.A., Member of the RAS (Russia, Moscow)
 Shchuko A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Zhovklaya N.A. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Al-Jefout M., MD, Professor (Jordan, Karak)
 Balakhonov S.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
 Grigoryev E.G., Corresponding Member of the RAS (Russia, Irkutsk)
 Grzhibovskii A.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Arkhangelsk)
 Kolesnikova L.I., Member of the RAS (Russia, Irkutsk)
 Madaeva I.M., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk)
 Malov I.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
 Nikitenko L.L., Dr. Sc. (Biol.) (UK, Oxford)
 Nyamdavaa K., Member of Mongolian Academy of Sciences (Mongolia, Ulaanbaatar)
 Savilov E.D., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
 Semenova N.V., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk)
 Shprakh V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
 Yurov I. Yu., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow)
 Iureva T.N., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
 Yanagihara R., MD, Professor (USA, Hawaii)

Editorial Council

Aizman R.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Novosibirsk); Atshabar B.B., Dr. Sc. (Med.), Professor (Kazakhstan, Almaty); Akhutina T.V., Dr. Sc. (Psychol.), Professor (Russia, Moscow); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Chita); Bokhan N.A., Member of the RAS (Russia, Tomsk); Byvaltsev V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Danchinova G.A., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dubrovina V.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dygai A.M., Member of the RAS (Russia, Tomsk); Zaborovsky A.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kovrov G.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kolosov V.P., Member of the RAS (Russia, Blagoveshchensk); Kolosova N.G., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Novosibirsk); Konstantinov Yu.M., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Krivoshepkin A.L., Corresponding Member of the RAS (Russia, Moscow); Kudlay D.A., Corresponding Member of the RAS (Russia, Moscow); Makarov L.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Malyshev V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Kaliningrad); Manchouk V.T., Corresponding Member of the RAS (Russia, Krasnoyarsk); Maskin S.S., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Volgograd); Ogarkov O.B., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Osipov A.N., Corresponding Member of the RAS (Russia, Moscow); Osipova E.V., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Perunova N.B. Dr. Sc. (Med.), Associate Professor, Professor of the RAS (Russia); Petrova A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Plekhanov A.N., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Ulan-Ude); Plotnikov A.O. Cand. Sc. (Med.) (Russia, China); Pogodina A.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Protopopova N.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Savchenkov M.F., Member of the RAS (Russia, Irkutsk); Sutura L.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Sergelen O., Dr. Sc. (Med.), Professor (Mongolia, Ulaanbaatar); Uvarova E.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Fotekova T.A., Dr. Sc. (Psychol.), Associate Professor (Abakan, Moscow); Khokhlov A.L., Corresponding Member of the RAS (Russia, Yaroslavl); Epshtein O.I., Corresponding Member of the RAS (Russia, Moscow); Yang Yonghong, Foreign Member of the RAS (China, Beijing).

The authors of the published articles account for choice and accuracy of the presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

Authors and the Editorial Board's opinions may not coincide.

Address of publisher and editorial board: SC FHHRP. 16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

Тел.: (3952) 20-90-48

<http://actabiomedica.ru> E-mail: journalirk@gmail.com

Acta Biomedica Scientifica is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media (ROSKOMNADZOR). Certificate of Mass Media Registration – PI No FS 77-69383 from 06 April 2017.

Previous title changed after April 2017 – «Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences».

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

Co-founders – Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003), Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (1 Bortsov Revolyutsii str., Irkutsk, Russia, 664003), S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (59A Beskudnikovskiy blvd, Moscow, 127486).

Acta Biomedica Scientifica is in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about our journal is published in Ulrich's Periodicals Directory. The journal is indexed in Russian Science Citation Index (Russian platform), Scopus, DOAJ, etc.

Acta Biomedica Scientifica is included in «List of Russian reviewed scientific periodicals where main scientific results of dissertations for a degree of Candidate and Doctor of Science should be published».

Subscription index is 24347 in Russia. Open price

ISSN 2541–9420 (Print)

ISSN 2587–9596 (Online)

Key title: Acta Biomedica Scientifica

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 4 (2026)

**Колесников
Сергей Иванович**

Академик РАН

Уважаемые коллеги!

Медицина, как и любое другое направление науки, нуждается в динамике и свежем взгляде на факты. Уже накопленный опыт – это как крепкий фундамент, на котором можно возводить новые гипотезы и строить теории из «кирпичиков-фактов». Каждое новое поколение привносит свой подход в науку, поэтому работа молодых ученых так важна для развития общего дела. Первый осенний выпуск журнала Acta Biomedica Scientifica по большей части посвящен работам молодых специалистов из самых разных областей медицины, все работы были представлены в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», прошедшей в июне этого года в ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск).

Первое, что хотелось бы отметить, очень много статей вошли в раздел Экспериментальные исследования. Одна из наиболее заметных работ представлена коллективом авторов из Москвы (**Алексеева Н.А. и соавт.**) о получении HER2-CAR-NK-клеток на основе субпопуляций NK-клеток с различной экспрессией рецепторов KIR и NKG2C для элиминации HER2+ солидных опухолей. NKG2C+ NK-клетки обладали большей чувствительностью к трансдукции. Культуры KIR+NKG2C+ HER2-CAR-NK-клеток с большей эффективностью элиминировали HER2+ клетки-мишени в 3D-модели. Эти свойства делают NK-клетки, коэкспрессирующие KIR и NKG2C, перспективной основой для создания CAR-NK-эффекторов. Еще один коллектив из Новосибирска (**Чепелева Е.В. и соавт.**) оценил биосовместимость экспериментальных прототипов отечественных эндоваскулярных эмболизирующих спиралей из нержавеющей стали с полимерными волокнами. Шёлк, полипропилен, полиэтилентерефталат и рентгеноконтрастные волокна на основе поливинилхлорида с сульфатом бария являются перспективными материалами для создания отечественных эмболизирующих спиралей, сочетающих гемосовместимость и функциональность. Полученные результаты обосновывают дальнейшие доклинические исследования, включая оценку тромбогенности и стабильности фиксации волокон в условиях моделированного кровотока. Еще одна интересная работа проведена специалистами из Новосибирской области, р.п. Кольцово (**Волосникова Е.А. и соавт.**) по изучению адъюванта на основе сквалена ASV24, а именно эффективность усиления гуморального иммунного ответа к различным вирусным антигенам. Полученные данные позволяют рассматривать ASV24 как адъювант для разработки субъединичных вакцин.

Раздел морфологии, физиологии и патофизиологии представлен несколькими работами, здесь хотелось бы отдельно отметить международную работу коллектива авторов из Москвы и Шэньчжэня (КНР) (**Мнацаканян А.О. и соавт.**) о клетках Лейдига как потенциальной мишени препарата на основе секрета мезенхимных стромальных клеток (МСК) при токсическом повреждении сперматогенеза доксорубицином. Полученные результаты открывают перспективы использования секрета МСК в качестве терапевтического средства для восстановления функции семенников. В номер также вошла статья вне рамок конференции, которую хотелось бы отметить как обладающую высоким потенциалом, это работа

авторов из Нижнего Новгорода (**Дерюгина А.В. с соавт.**) о корректирующем действии оксида азота и молекулярного водорода на показатели миокардиальной и эндотелиальной дисфункции в предупреждении полиорганной недостаточности у кардиохирургических больных. Экстракорпоральное применение NO и H₂ показало себя эффективной стратегией коррекции миокардиальной и эндотелиальной дисфункции, что позволяет предотвратить развитие полиорганной недостаточности у кардиохирургических больных.

В раздел микробиологии и вирусологии вошла работа, также заслуживающая особого внимания научного сообщества. Специалистами из Владивостока (**Павленко А.П. и соавт.**) исследовалась стабильность штамма-продуцента анальгетического пептида HCRG21. Результаты показали высокую стабильность уровня продуктивности штамма, что дает возможность использовать его для производства анальгетического пептида HCRG21.

Не менее интересная статья коллектива авторов из Перми (**Баяндина Е.А. и соавт.**), описывающая результаты комбинированного воздействия этоксилированного нонилфенола и наночастиц оксида меди (CuO) на биопленки *Rhodococcus ruber*.

Современные методы обработки информации затронули и направление акушерства и гинекологии. Коллективом авторов из Москвы (**Булатова И.А. и соавт.**) разработана модель прогнозирования кесарева сечения с использованием машинного обучения (Random Forest) после индукции родов. В ходе испытаний модель показала высокую прогностическую эффективность, возможность к внешней валидации и клиническую полезность.

И в заключение хотелось бы отметить работу авторов из Москвы (**Мацаева О.Д. и соавт.**), представленную в разделе Лабораторная диагностика, – о применении сверточных нейронных сетей для автоматизированного классифицирования стадий жизненного цикла *Plasmodium falciparum* в микроскопии мазков крови. Малярия — глобальная проблема мирового здравоохранения, использование глубоких нейронных сетей показало большой потенциал в диагностике и определении стадии развития возбудителя.

Современные методы обработки информации постепенно формируют целое направление развития медицины, предоставляя все больше возможностей специалистам для постановки точных диагнозов и назначения максимально эффективной терапии. Мы будем и дальше следить за развитием этого направления и делиться с нашими читателями современными тенденциями этого направления.

На страницах журнала Вы также найдете статьи по офтальмологии, хирургии, кардиологии, неврологии и нейрохирургии, фтизиатрии. Все работы сложные, емкие, и несут в себе как теоретическую, так практическую ценность. Мы благодарим всех наших авторов и рецензентов, принимавших участие в создании данного выпуска, а также желаем дальнейших успехов молодым специалистам!

Для цитирования: Колесников С.И. Предисловие главного редактора к № 4 (2026). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.1

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 4, 2026

Sergey I. Kolesnikov

Member of the RAS

Dear colleagues!

Medicine, like any other branch of science, needs dynamics and a fresh view of facts. The experience already accumulated is like a solid foundation on which new hypotheses can be erected and theories can be built from "bricks of facts". Each new generation brings its own approach to science, which is why the work of young scientists is so important for the development of the common cause. The first autumn issue of the journal *Acta Biomedica Scientifica* is for the most part devoted to the works of young specialists from the most diverse fields of medicine. All the works were presented within the framework of the VII All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists with International Participation "FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS IN MEDICINE AND BIOLOGY", held in June of this year at the Research Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk).

The first thing I would like to note is that a very large number of articles were included in the Experimental Research section. One of the most notable works is presented by a team of authors from Moscow (**Alekseeva N.A. et al.**) on the production of HER2-CAR-NK cells based on NK cell subpopulations with different expression of KIR and NKG2C receptors for the elimination of HER2+ solid tumors. NKG2C+ NK cells possessed greater sensitivity to transduction. Cultures of KIR+NKG2C+ HER2-CAR-NK cells eliminated HER2+ target cells more efficiently in a 3D model. These properties make NK cells coexpressing KIR and NKG2C a promising basis for the creation of CAR-NK effectors. Another team from Novosibirsk (**Chepeleva E.V. et al.**) assessed the biocompatibility of experimental prototypes of domestic endovascular embolizing coils made of stainless steel with polymer fibers. Silk, polypropylene, polyethylene terephthalate, and radiopaque fibers based on polyvinyl chloride with barium sulfate are promising materials for the creation of domestic embolizing coils combining hemocompatibility and functionality. The obtained results substantiate further preclinical studies, including assessment of thrombogenicity and stability of fiber fixation under conditions of simulated blood flow. Another interesting work was conducted by specialists from the Novosibirsk region, urban-type settlement Koltsovo (**Volosnikova E.A. et al.**) on the study of the squalene-based adjuvant ASV24, namely the effectiveness of enhancing the humoral immune response to various viral antigens. The obtained data allow considering ASV24 as an adjuvant for the development of subunit vaccines.

The section of morphology, physiology and pathophysiology is represented by several works: here I would like to separately note the international work of a team of authors from Moscow and Shenzhen (People's Republic of China) (**Mnatsakanyan A.O. et al.**) on Leydig cells as a potential target of a preparation based on the secretome of mesenchymal stromal cells (MSCs) in toxic damage to spermatogenesis by doxorubicin. The obtained results open prospects for the use of the MSC secretome as a therapeutic agent for restoring testicular function. The issue also includes an article outside the framework of the conference, which I would like to note as high-potential: this is the work of authors from Nizhny Novgorod (**Deryugina A.V. et al.**) on the corrective effect of nitric oxide and molecular hydrogen on the parameters of myocardial and endothelial dysfunction in the prevention of multiple organ failure in cardiac surgery patients. The extracorporeal use of NO and H₂ has proven to be an effective

strategy for correcting myocardial and endothelial dysfunction, which helps prevent the development of multiple organ failure in cardiac surgery patients.

The section of microbiology and virology includes a work that also deserves special attention from the scientific community. Specialists from Vladivostok (**Pavlenko A.P. et al.**) studied the stability of the producer strain of the analgesic peptide HCRG21. The results showed high stability of the strain's productivity level, which makes it possible to use it for the production of the analgesic peptide HCRG21.

No less interesting is the article by a team of authors from Perm (**Bayandina E.A. et al.**), describing the results of the combined effect of ethoxylated nonylphenol and copper oxide (CuO) nanoparticles on biofilms of *Rhodococcus ruber*.

Modern methods of information processing have also affected the field of obstetrics and gynecology. A team of authors from Moscow (**Bulatova I.A. et al.**) developed a model for predicting cesarean section using machine learning (Random Forest) after induction of labor. During testing, the model showed high predictive efficiency, the possibility of external validation, and clinical usefulness.

In conclusion, I would like to note the work of authors from Moscow (**Matsaeva O.D. et al.**), presented in the Laboratory Diagnostics section – on the use of convolutional neural networks for the automated classification of the life cycle stages of *Plasmodium falciparum* in blood smear microscopy. Malaria is a global public health problem, and the use of deep neural networks has shown great potential in the diagnosis and determination of the stage of development of the causative agent.

Modern methods of information processing are gradually forming an entire direction in the development of medicine, providing specialists with ever more opportunities for making accurate diagnoses and prescribing the most effective therapy. We will continue to monitor the development of this direction and share with our readers the current trends in this field.

On the pages of the journal you will also find articles on ophthalmology, surgery, cardiology, neurology and neurosurgery, and phthisiology. All the works are complex, comprehensive, and carry both theoretical and practical value. We thank all our authors and reviewers who took part in the creation of this issue, and wish further success to young specialists!

For citation: Kolesnikov S.I. Editor-in-Chief's preface to Issue 4, 2026. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.1

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие главного редактора к № 4 (2026). Колесников С.И. 5

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Исследование стабильности штамма-продуцента анальгетического пептида HCRG21. Павленко А.П., Кветкина А.Н., Балдаев С.Н., Лейченко Е.В. 12

NK-клетки с коэкспрессией KIR и NKG2C как основа для создания HER2-направленных CAR-NK-эффекторов. Алексеева Н.А., Стрельцова М.А., Коваленко Е.И. 21

Клетки Лейдига как потенциальная мишень препарата на основе секретомы мезенхимных стромальных клеток при токсическом повреждении сперматогенеза доксорубицином. Мнацаканян А.О., Басалова Н.А., Сагарадзе Г.Д.1, Liang Yingying, Нагибин Н.В., Попов В.С., Ефименко А.Ю. 29

Корректирующее действие оксида азота и молекулярного водорода на показатели миокардиальной и эндотелиальной дисфункции в предупреждении полиорганной недостаточности у кардиохирургических больных. Дерюгина А.В., Пичугин В.В., Богуш А.В., Полозова А.В., Князева Е.А., Таранов Е.В., Жильев С.А., Пахомов И.А., Таламанова М.Н., Данилова Д.А., Бричкин Ю.Д. 38

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Прогнозирование кесарева сечения после индукции родов с использованием машинного обучения (Random Forest). Булатова И.А., Саланова М.Ш., Пониманская М.А., Десятник К.А., Панина О.Б. 49

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Сравнительная характеристика конститутивной и индуцибельной систем экспрессии белка I1 вируса папилломы человека 18 типа в *Kluyveromyces lactis*. Рар А.А., Волосникова Е.А., Беленькая С.В., Гогина Я.С., Щербаков Д.Н. 62

КАРДИОЛОГИЯ

Кардиальный саркоидоз: эпидемиология, этиология, патогенез и патоморфология (обзор литературы). Тарадин Г.Г., Ракитская И.В., Христуленко А.Л. 71

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Применение сверточных нейронных сетей для автоматизированного классифицирования стадий

CONTENTS

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Editor-in-chief's preface to issue 4, 2026. Kolesnikov S.I. 5

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

Stability study of the producer strain of the analgesic peptide HCRG2. Pavlenko A.P., Kvetkina A.N., Baldaev S.N., Leychenko E.V. 12

NK cells coexpressing KIR and NKG2C as a basis for HER2-targeted CAR-NK effectors. Alekseeva N.A., Streltsova M.A., Kovalenko E.I. 21

Leydig cells as a potential target of a drug based on mesenchymal stromal cell secretome in doxorubicin induced toxic damage of spermatogenesis. Mnat-sakanyan A.O., Basalova N.A., Sagaradze G.D., Liang Yingying, Nagibin N.V., Popov V.S., Efimenko A.Yu. 29

The corrective effect of nitric oxide and molecular hydrogen on parameters of myocardial and endothelial dysfunction in the prevention of multiple organ failure in cardiac surgery patients. Deryugina A.V., Pichugin V.V., Bogush A.V., Polozova A.V., Knyazeva E.A., Taranov E.V., Zhilyayev S.A., Pakhomov I.A., Talamanova M.N., Danilova D.A., Brichkin Yu.D. 38

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

Prediction of cesarean delivery after induction of labor using machine learning (Random Forest). Bulatova I.A., Salanova M.S., Ponimanskaya M.A., Desyatnik K.A., Panina O.B. 49

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Comparative characterization of constitutive and inducible expression systems for human papillomavirus type 18 I1 protein in *Kluyveromyces lactis*. Rar A.A., Volosnikova E.A., Belenkaya S.V., Gogina Ya.S., Shcherbakov D.N. 62

CARDIOLOGY

Cardiac sarcoidosis: epidemiology, etiology, pathogenesis and pathomorphology (literature review). Tara-din G.G., Rakitskaya I.V., Khristulenko A.L. 71

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

Application of convolutional neural networks for automated classification of life cycle stages of *Plasmodium*

жизненного цикла *Plasmodium falciparum* в микроскопии мазков крови. Мацаева О.Д., Гринев А. Б.

85

falciparum in blood smear microscopy. Matsaeva O.D., Grinev A.B.

Слёзная жидкость, слюна и моча как биологические матрицы для оценки свободнорадикального гомеостаза (обзор литературы). Лесная А.С., Семёнова Н.В., Даренская М.А., Гончаров И.С., Крушинская Н.В., Колесникова Л.И.

94

Tear fluid, saliva and urine as biological matrices for assessing free radical homeostasis (literature review). Lesnaya A.S., Semenova N.V., Darenskaya M.A., Goncharov I.S., Krushinskaya N.V., Kolesnikova L.I.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Комбинированное воздействие этоксилированного нонилфенола и наночастиц оксида меди (CuO) на биопленки *Rhodococcus ruber*. Баяндина Е.А., Куюкина М.С., Ившина И.Б.

108

Combined effect of ethoxylated nonylphenol and copper oxide nanoparticles (CuO) on *Rhodococcus ruber* biofilms. Bayandina E.A., Kuyukina M.S., Ivshina I.B.

Обоснование выбора штаммов лактобацилл для создания пробиотического микробного консорциума на основе их биологической безопасности. Зугеева Р.Е., Смурова Н.Е., Горкавенко А.С., Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В.

117

Rationale of the selection of lactobacilli strains for the development of a probiotic microbial consortium based on their biological safety. Zugeeva R.E., Smurova N.E., Gorkavenko A.S., Klimenko E.S., Belkova N.L., Semenova N.V., Rychkova L.V.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Распределение β III-тубулина в обонятельных луковицах людей разного пола при старении. Мальков А.А., Прощина А.Е., Кривова Ю.С., Харламова А.С., Годовалова О.С., Гулимова В.И., Бучака А.С., Сонин Г.А., Грушецкая Е.О., Савельев С.В.

126

β III-tubulin distribution in the human olfactory bulb: effects of aging and sex. Malkov A.A., Proshchina A.E., Krivova Yu.S., Kharlamova A.S., Godovalova O.S., Gulimova V.I., Buchaka A.S., Sonin G.A., Grushetskaya E.O., Saveliev S.V.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

Модели прогнозирования исходов черепно-мозговой травмы у пожилых людей с учётом когнитивного статуса. Агарков Н.М., Павлов О.Г., Яковлев А.П., Иванов В.А., Бахарева А.А., Федосеев И.М.

136

Models for predicting traumatic brain injury outcomes in the older patients, accounting for cognitive status. Agarkov N.M., Pavlov O.G., Yakovlev A.P., Ivanov V.A., Bakhareva A.A., Fedoseyev I.M.

Неврологические проявления у женщин с постковидным синдромом. Катманова Е.В., Сливницына Н.В., Васильева Л.С., Русанова Д.В., Протасова Е.Н., Шевченко О.И., Лахман О.Л.

145

Neurological manifestations in women with post-COVID syndrome. Katamanova E.V., Slivnitsyna N.V., Vasilieva L.S., Rusanova D.V., Protasova E.N., Shevchenko O.I., Lakhman O.L.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Рефракционные топографические карты в оценке качества оптической системы глаза с ИОЛ сложного дизайна. Розанова О.И., Цыбжитова Б.А.

157

Refractive topographic maps in assessing the quality of the ocular optical system with complex-design IOLs. Rozanova O.I., Tsybzhitova B.A.

ПЕДИАТРИЯ

Сравнительная оценка состава микробиоты толстой кишки у подростков с ожирением и нормальной массой тела. Логачева О.А., Филина Н.Ю., Болотова Н.В., Чередникова К.А., Пылаев Т.Е., Николаева Н.В.

166

Comparative assessment of the colonic microbiota composition in adolescents with obesity and normal body weight. Logacheva O.A., Filina N.Yu., Bolotova N.V., Cherednikova K.A., Pylaev T.E., Nikolaeva N.V.

ФТИЗИАТРИЯ

Видовое разнообразие нетуберкулёзных микобактерий, выделенных от пациентов в Иркутской

Species diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from patients in Irkutsk Region (a retrospective

области (ретроспективное исследование). Орлова Е.А., Кулинич С.В., Кондратов И.Г., Доржиева М.Е., Суздальницкий А.Е., Огарков О.Б.

177

study). Orlova E.A., Kulinich S.V., Kondratov I.G., Dorzhieva M.E., Suzdalnitsky A.E., Ogarkov O.B.

ХИРУРГИЯ

SURGERY

Прогностические параметры, влияющие на эффективность удаления доброкачественных эпителиальных новообразований типа LST толстой и прямой кишки. Архипова А.А., Анищенко В.В., Абакарова Д.Х.

190

Prognostic parameters affecting the effectiveness of removing benign epithelial neoplasms of the LST type in the colon and rectum. Arkhipova A.A., Anishchenko V.V., Abakarova D.Kh.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL RESEARCHES

Адьювант на основе сквалена ASV24: эффективность усиления гуморального иммунного ответа к различным вирусным антигенам. Волосникова Е.А., Рар А.А., Есина Т.И., Гогина Я.С., Олькин С.Е., Мордвина Е.Д., Шаньшин Д.В., Ушкаленко Н.Д., Исаева А.А., Гайворонский С.И., Щербаков Д.Н.

197

Squalene-based adjuvant ASV24: the effectiveness of enhancing the humoral immune response against various viral antigens. Volosnikova E.A., Rar A.A., Esina T.I., Gogina Ya.S., Ol'kin S.E., Mordvinova E.D., Shan'shin D.V., Ushkalenko N.D., Isaeva A.A., Gayvoronskiy S.I., Shcherbakov D.N.

Взаимосвязь между экспрессией контрольных точек иммунитета и цитокинового профиля М2-подобных макрофагов, индуцированных эффероцитозом. Максимова А.А., Тыринова Т.В., Сахно Л.В., Тихонова М.А., Шевела Е.Я., Останин А.А., Черных Е.Р.

205

Association between immune checkpoint expression and the cytokine profile of M2-like macrophages induced by efferocytosis. Maksimova A.A., Tyrinova T.V., Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Shevela E.Ya., Ostanin A.A., Chernykh E.R.

Лучевые признаки дегградации и морфологическая реакция мягких тканей на имплантаты Mg–2Zn–2Ga и титана в эксперименте *in vivo*. Кунижев К.А., Редько Н.А., Иванов А.А., Невская Е.Е., Комиссаров А.А., Баженов В.Е., Дробышев А.Ю.

215

Radiological signs of degradation and soft-tissue response to Mg–2Zn–2Ga and titanium implants *in vivo*. Kunizhev K.A., Redko N.A., Ivanov A.A., Nevskaya E.E., Komissarov A.A., Bazhenov V.E., Drobyshev A.Yu.

Моделирование гестационного сахарного диабета у животных: оптимизация режима введения стрептозотоцина на фоне высокожировой диеты. Бороздина Н.А., Горячева Н.А., Слащева Г.А., Павлов В.М., Попкова Д.В., Гладких И.Н., Дьяченко И.А.

225

Modeling of gestational diabetes mellitus in animals: optimization of the streptozotocin administration regimen against the background of a high-fat diet. Borozdina N.A., Goryacheva N.A., Slashcheva G.A., Pavlov V.M., Popkova D.V., Gladkikh I.N., Dyachenko I.A.

Оценка биосовместимости экспериментальных прототипов отечественных эндоваскулярных эмболизирующих спиралей из нержавеющей стали с полимерными волокнами. Чепелева Е.В., Докучаева А.А., Вавер А.А., Владимиров С.В., Бородин В.П., Козырь К.В., Бадоян А.Г., Баранов А.А., Махмудов М.А., Крестьянинов О.В.

240

Biocompatibility assessment of experimental prototypes of russian endovascular embolization coils made of stainless steel with polymer fibers. Chepeleva E.V., Dokuchaeva A.A., Vaver A.A., Vladimirov S.V., Borodin V.P., Kozyr K.V., Badoian A.G., Baranov A.A., Makhmudov M.A., Krestyaninov O.V.

Трипсин как индуктор агрегации тромбоцитов в эксперименте *in vitro* и предположительные механизмы её реализации. Галак И.Р.

251

Trypsin as an inducer of platelet aggregation in an *in vitro* experiment and its putative mechanisms. Galak I.R.

СПИСОК ОПЕЧАТОК

ERRATUM

ERRATUM: Соломатина М.В., Казачкова Е.А., Шаршов К.А., Глущенко А.В., Шестопалов А.М. Экологические аспекты циркуляции парамиксовирусов в популяциях диких птиц на территории континентальной Евразии. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(3): 47-56. doi: 10.29413/ABS.2026-11.3.6

260

ERRATUM: Solomatina M.V., Kazachova E.A., Sharshov K.A., Alekseev A. Yu., Shestopalov A.M. Ecological aspects of paramyxovirus circulation in wild bird populations on the territory of continental Eurasia. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(3): 47-56. doi: 10.29413/ABS.2026-11.3.6

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА HCRG21

Павленко А.П.^{1,2},
Кветкина А.Н.²,
Балдаев С.Н.²,
Лейченко Е.В.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО «Дальневосточный
федеральный университет», Передовая
инженерная школа (690922,
г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, д. 10,
Россия)

² Тихоокеанский институт
биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
ДВО РАН (690022, г. Владивосток,
проспект 100-летия Владивостоку, 159)

Автор, ответственный за переписку:
Павленко Александра Павловна
e-mail: apavlenko141@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Разработка новых, более эффективных обезболивающих препаратов, обладающих высоким сродством к биологическим мишеням, является актуальной задачей. Кандидатом для разработки нового анальгетического препарата стал пептид HCRG21 морской анемоны *Heteractis magnifica* – блокатор TRPV1-канала.

Цель исследования. Провести исследование генетической и экспрессионной стабильности штамма *Escherichia coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, продуцирующего гибридный белок SMT3_HCRG21.

Материалы и методы. Жизнеспособность клеток рабочей посевной культуры (РПК) при последовательных пассажах оценивали путем расчета титра клеток в каждом пассаже. Количество генераций РПК определяли на основании значений титра жизнеспособных клеток для каждого пассажа по соответствующей формуле. Уровень экспрессии гибридного белка в последовательных пассажах клеток был рассчитан посредством отношения количества гибридного белка к общему белку клеточного лизата. Содержание белка определяли по методу Лоури и с помощью электрофореза. Методами ПЦР и электрофоретического разделения определяли размер участка ДНК, кодирующего гибридный белок SMT3_HCRG21, а также проводили секвенирование по Сэнгеру для подтверждения подлинности вставки.

Результаты. Показано, что при последовательных пересевах титр клеток варьирует от $8,3 \cdot 10^7$ до $1,7 \cdot 10^9$ клеток/мл, а среднее число генераций составило $10,4 \pm 2,3$. В результате амплификации пДНК клонов 10, 90 и 140 генераций были получены фрагменты длиной около 600 н.п., что соответствует длине нуклеотидной последовательности генетической конструкции pSMT3_HCRG21 (541 н.п.). Нуклеотидные последовательности полученных ПЦР-фрагментов оказались полностью идентичны заявленному в паспорте штамма-продуцента. Продемонстрировано, что среднее содержание гибридного белка между генерациями сохранялось на уровне 16 %, что свидетельствует о высокой стабильности уровня продуктивности штамма.

Заключение. Биосинтетическая активность и количество жизнеспособных клеток штамма *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 остаются стабильными, таким образом, штамм может быть использован для производства анальгетического пептида HCRG21.

Ключевые слова: анальгетический пептид, штамм-продуцент *Escherichia coli*, стабильность штамма, рабочая посевная культура

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 14.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Павленко А.П., Кветкина А.Н., Балдаев С.Н., Лейченко Е.В. Исследование стабильности штамма-продуцента анальгетического пептида HCRG21. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 12-20. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.2

STABILITY STUDY OF THE PRODUCER STRAIN OF THE ANALGESIC PEPTIDE HCRG21

**Pavlenko A.P.^{1,2},
Kvetkina A.N.²,
Baldaev S.N.²,
Leychenko E.V.^{1,2}**

¹ Far Eastern Federal University, Advanced Engineering School (10 Ajax Bay, Russky Island, Vladivostok 690922, Russian Federation)

² G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, (100-letiya Vladivostoka Prospekt, 159, Vladivostok 690022, Russian Federation)

Corresponding author:

Aleksandra P. Pavlenko

e-mail: apavlenko141@gmail.com

ABSTRACT

*The development of new, more effective analgesic drugs with high affinity for biological targets is a critical challenge. The peptide HCRG21, a TRPV1 channel blocker derived from the sea anemone *Heteractis magnifica*, is considered as a promising candidate for a new analgesic drug.*

Aim. *To investigate the genetic and expression stability of the *Escherichia coli* strain *Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21*, which produces the SMT3_HCRG21 fusion protein.*

Materials and methods. *The viability of the working seed lot (WSL) during sequential passaging was assessed by calculating the cell titer in each passage. The number of generations of WSL cells was determined based on the viable cell titer values for each passage using an appropriate equation. The expression level of the fusion protein during continuous cell passaging was calculated as the ratio of the fusion protein amount to the total cellular protein in the cell lysate. Protein content was determined using the Lowry method and electrophoresis. The size of the DNA region encoding the SMT3_HCRG21 fusion protein was determined by PCR and electrophoretic separation, and Sanger sequencing was performed to confirm its genetic identity as specified in the strain passport.*

Results. *During continuous passaging, the cell titer has been shown to vary from $8.3 \cdot 10^7$ to $1.7 \cdot 10^9$ cells/mL, and the average number of generations was 10.4 ± 2.3 . Following pDNA amplification of clones from 10, 90, and 140 generations the PCR fragments of approximately 600 bp in length were obtained, which correspond to the length of the nucleotide sequence of the pSMT3_HCRG21 genetic construct (541 bp). The nucleotide sequences of the obtained PCR fragments were identical to those specified in the strain passport. It was demonstrated that the average content of the fusion protein across generations remained at 16 %, indicating a high stability of the strain productivity level.*

Conclusions. *The biosynthetic activity and viable cell titer of the *E. coli* strain *Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21* remained stable; therefore, the strain can be used for industrial production of the analgesic peptide HCRG21.*

Key words: *Analgesic peptide; *Escherichia coli* producer strain; genetic stability; working cell culture*

Received: 31.03.2026

Accepted: 14.08.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Pavlenko A.P., Kvetkina A.N., Baldaev S.N., Leychenko E.V. Stability study of the producer strain of the analgesic peptide HCRG21. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 12-20. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.2

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой современной медицины является недостаточная эффективность и безопасность используемых анальгетических препаратов. Существующие группы препаратов, такие как нестероидные противовоспалительные средства и опиоидные анальгетики, обладают серьезными побочными эффектами и не подходят для длительного применения вследствие высоких рисков развития зависимости, толерантности и токсичности [1]. Поиск новых соединений, обладающих анальгетическими свойствами, и разработка на их основе обезболивающих лекарственных средств является важной биомедицинской задачей.

В этом контексте перспективным кандидатом для создания анальгетического препарата нового поколения является пептид HCRG21, аминокислотная последовательность которого была выведена на основе последовательности транскрипта, полученного в результате секвенирования библиотеки кДНК морской анемоны *Heteractis magnifica* (ранее ошибочно определенной как *Heteractis crispa*) [2]. Пептид HCRG21 (6228 Да) состоит из 56 а.о. и относится к структурному семейству пептидов Кунитц-типа, которые, как известно, способны ингибировать сериновые протеазы и модулировать различные типы ионных каналов [2–4]. Было показано, что рекомбинантный аналог HCRG21 является ингибитором трипсина и химотрипсина (K_i $2,0 \cdot 10^{-7}$ и $7,0 \cdot 10^{-7}$ М соответственно) и отрицательным аллостерическим модулятором канала TRPV1 (IC_{50} 6,9 мкМ) [2]. Известно, что канал TRPV1 отвечает за передачу болевых сигналов, а антагонисты TRPV1 предотвращают боль, блокируя рецепторы на чувствительных нейронах и вызывая тем самым длительную анальгезию, что делает их реальной альтернативой традиционным анальгетикам [5, 6]. Исследования *in vivo* на различных моделях боли и воспаления продемонстрировали выраженное пролонгированное анальгетическое действие HCRG21 [7–9].

Пептидная природа HCRG21 обуславливает перспективы производства лекарственных препаратов на его основе биосинтетическим способом. Ключевое преимущество биосинтеза заключается в контролируемом получении безопасных целевых соединений в промышленном масштабе с возможностью оптимизировать и удешевить процесс очистки готового препарата.

Основными биосинтетическими этапами получения пептидного препарата являются создание штамма-продуцента, изучение его стабильности в лабораторных и промышленных условиях, наработка и выделение пептида, и изучение стабильности препарата пептида при использовании и хранении.

Целью данной работы являлось изучение стабильности штамма-продуцента *Escherichia coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, который планируется использовать в дальнейшем производстве пептида HCRG21 в промышленных масштабах для создания на его основе лекарственного препарата.

Изучение стабильности включало определение биосинтетической активности и количества жизнеспособных клеток и числа генераций рабочей посевной культуры штамма-продуцента, определение подлинности и уровня продуктивности главной посевной культуры штамма-продуцента и определение размера и подлинности гена, кодирующего гибридный белок SMT3_HCRG21, при последовательных пересевах культуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение количества жизнеспособных клеток и биосинтетической активности культуры

Для определения количества жизнеспособных клеток в культуре штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 была приготовлена рабочая посевная культура (РПК) в 15%-ном стерильном растворе глицерина в конечном объеме 100 мл и проведена серия последовательных пассажей (12 пассажей). В качестве посевного материала для первого пассажа использовали РПК, для каждого последующего пассажа – культуральную жидкость (КЖ) предыдущего посева. Используя технику последовательных десятикратных разведений, РПК и КЖ каждого пассажа разводили в стерильном физиологическом растворе и высевали на чашки Петри в трех повторах. Титр клеток в 1 мл культуры рассчитывали по формуле:

$$T = d \times n \times 10,$$

где d – разведение, n – среднее количество выросших колоний.

Для определения биосинтетической активности штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 КЖ пассажей I, III, VI, IX и XII инкубировали при 37°C и интенсивной аэрации (220 об/мин) до достижения оптической плотности 1–1,2 при длине волны 600 нм. Продукцию гибридного белка в клетках индуцировали изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозидом (ИПТГ), после чего клетки инкубировали при 37°C при постоянном перемешивании (220 об/мин) в течение 5 часов. После разрушения бактериальных клеток с помощью ультразвука клеточный лизат был подвергнут центрифугированию (10000 об/мин, 10 мин, 4°C). Гибридный белок выделяли методом аффинной хроматографии на колонке с Ni-NTA-агарозой (Machery-Nagel Protino®, Германия) по инструкции производителя. Концентрацию суммарного и гибридного белка определяли с помощью колориметрического метода Лоури [10]. Биосинтетическую активность культуры штамма-продуцента оценивали как отношение содержания гибридного белка SMT3_HCRG21 к суммарному белку в супернатанте, значение выражали в %.

Определение числа генераций культуры в рабочем банке

Количество генераций РПК штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 определяли

на основании значений, полученных при определении титра жизнеспособных клеток для каждого пассажа. Число генераций в пассажах рассчитывали по формуле:

$$k = \frac{\lg n_k - \lg n_0}{\lg 2},$$

где n_0 – число клеток в дозе посевного материала (объем 0,1 мл), равное титру клеток в соответствующем пассаже, n_k – число клеток в культуральной жидкости, объем которой равен 100 мл, по окончании инкубации.

Обработка полученных данных была проведена с помощью программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft Office, США).

Определение подлинности и уровня продуктивности штамма

Суспензию клеток главной посевной культуры (ГПК) штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 высевали на чашки Петри и инкубировали в термостате при 37°C в течение 16 часов до появления единичных колоний. Выросшие колонии ресуспендировали в 50 мл жидкой питательной среды и инкубировали при 37°C и 220 об/мин в течение 8–9 часов до ОП₆₀₀ = 1–1,2 (пассаж 1). Полученную клеточную культуру объемом 0,08 мл переносили в свежую стерильную питательную среду объемом 50 мл и инкубировали при 37°C и 220 об/мин в течение 8–9 часов до ОП₆₀₀ = 1–1,2. Процедуру повторяли до XIV пассажа.

Для оценки подлинности и уровня экспрессии гибридного белка клетками штамма-продуцента клетки 6 колоний из пассажей I, IX и XIV переносили в стерильные колбы с 50 мл жидкой питательной среды и инкубировали при тех же условиях. Полученную суспензию делили на два равных объема, один из которых использовали для выделения плазмидной ДНК (пДНК). К оставшейся части КЖ добавляли ИПТГ до конечной концентрации 0,5 мМ и инкубировали КЖ при 37°C, 220 об/мин в течение 5 часов. Полученную биомассу гомогенизировали с помощью ультразвука, клеточный лизат осветляли центрифугированием (10000 об/мин, 10 мин, 4°C).

Оценку уровня экспрессии гибридного белка SMT3_HCRG21 в супернатанте и молекулярную массу гибридного белка определяли с помощью электрофореза в 12%-ном полиакриламидном геле по методу Лэммли [11]. Анализ белков клеточного лизата на электрофореграммах и определение содержания гибридного белка SMT3_HCRG21 осуществляли с помощью системы визуализации iBrightFL1500 (Invitrogen, Thermo Scientific, США) и соответствующего ПО. Расчет суммарной интенсивности всех полос и процентного содержания гибридного белка SMT3_HCRG21 осуществляли с помощью программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft Office, США).

Одобрение проведения исследования Локальным этическим комитетом не требуется.

Установление размера гена, кодирующего гибридный белок SMT3_HCRG21

Выделение пДНК из КЖ проводили с помощью коммерческого набора Plasmid Miniprep (Евроген, Россия)

по инструкции производителя. Фрагмент гена, кодирующего гибридный белок SMT3_HCRG21, получали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием универсальных Т7-праймеров на амплификаторе DNA Engine Thermal Cycler (Bio-Rad, США) с применением коммерческого набора Encyclo plus (Евроген, РФ). Амплификацию ДНК проводили при следующих условиях: 95°C, 60 сек; 95°C, 10 сек; 30 циклов 55°C, 30 сек, 72°C, 60 сек; 72°C, 5 мин. Электрофоретический анализ ПЦР-продуктов выполняли в 1%-ном агарозном геле с использованием маркера длин ДНК (100+ bp, Евроген, РФ). Нуклеотидную последовательность подтверждали секвенированием с использованием стандартных Т7-праймеров и коммерческого набора реактивов BigDyeTM Terminator v.3.1 (Thermo Scientific, США) на генетическом ДНК-анализаторе SeqStudio (Applied Biosystems, США) в соответствии с рекомендациями производителей.

Статистический анализ

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программного обеспечения OriginPro 8.5 (OriginLab Corporation, США). Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с поправкой Тьюки, различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важных этапов валидации технологического процесса и обязательным условием для промышленного производства рекомбинантных пептидов является изучение стабильности их штаммов-продуцентов. Это позволяет гарантировать производство безопасного и эффективного целевого пептида с минимальными экономическими потерями для производителя. Основными критериями по изучению стабильности штамма-продуцента являются подтверждение подлинности и чистоты культуры, ее генетической и экспрессионной стабильности.

В данной работе была изучена стабильность штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, который продуцирует гибридный белок SMT3_HCRG21, содержащий анальгетический пептид HCRG21 [12, 13]. *E. coli* представляет собой наиболее широко и успешно используемую систему для синтеза гетерологичных белков и пептидов. Экспрессионная конструкция на основе плазмидного вектора pSMT3 включает в себя последовательность, кодирующую гибридный белок, состоящий из пептида HCRG21, гексагистидиновой метки, сайта для гидролиза протеазой Ulp-1 и белка-партнера SMT3. Гексагистидиновая метка необходима для выделения гибридного белка из клеточного лизата с помощью металл-аффинной хроматографии. Белок партнер SMT3 распознается и выселяется специфической протеазой Ulp-1 [12, 13]. В отличие от используемого в лабораторной практике бромциана, применение ферментативного гидролиза

позволяет использовать целевой пептид в качестве медицинского препарата.

Для определения жизнеспособности клеток культуры штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 было проведено 12 последовательных пассажей рабочей посевной культуры. Количество пассажей было выбрано на основе принципа разумной достаточности. В результате было показано, что среднее количество выросших колоний в 12 последовательных пассажах варьирует от 8 до 34 при разведении КЖ в 10^6 раз и от 3 до 16 – при разведении в 10^7 раз (табл. 1). Минимальное значение титра жизнеспособных клеток составило $8,3 \cdot 10^7$ клеток/мл в пассаже VI и максимальное – $1,7 \cdot 10^9$ клеток/мл в пассаже X. Основываясь на полученных значениях титра жизнеспособных клеток в каждом пассаже было рассчитано количество генераций клеток культуры. Установлено, что количество генераций между пассажами варьирует от 7,1 до 14,2, тогда как общее количество генераций в 12 последовательных пассажах культуры оказалось равным 124,4. Следовательно, расчетное среднее количество генераций в одном пассаже составляет $10,4 \pm 2,3$.

Для оценки биосинтетической активности культуры штамма-продуцента был определен уровень экспрессии гибридного белка SMT3_HCRG21 клетками РПК из КЖ пассажей I, III, VI, IX и XII. Для этого КЖ инкубировали с индуктором экспрессии ИПТГ, после чего клетки были гомогенизированы и гибридный белок был выделен с помощью Ni-NTA-аффинной хроматографии. Концентрация суммарного белка и гибридного

белка в клеточных лизатах была определена по методу Лоури. Показано, что содержание гибридного белка SMT3_HCRG21 в КЖ пассажей I, III, VI, IX и XII варьирует от 8 до 18 % от суммарного белка (табл. 1), тогда как среднее значение количества гибридного белка составляет $12,8 \pm 4,5$ %. Хотя было обнаружено незначительное различие в количестве гибридного белка в пассажах VI и IX по сравнению с пассажем I; между I и XII пассажами достоверного различия не наблюдалось, что свидетельствует об экспрессионной стабильности культуры штамма-продуцента в условиях проведенных испытаний.

Для проверки подлинности и уровня продуктивности штамма-продуцента было проведено 14 последовательных пассажей ГПК. Перед производством в лабораторном и промышленном масштабах лекарственного препарата стабильность высокопродуктивных бактериальных штаммов должна быть продемонстрирована как минимум в течение 10 пассажей вследствие потенциальной возможности мутации или потери бактериальными клетками плазмиды. С учетом того, что за один пассаж в культуре штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 происходит около 10 генераций, для оценки генетической и экспрессионной стабильности были выбраны пассажи I, IX и XIV (10, 90 и 140 генераций соответственно). Для этого было отобрано по шесть колоний пассажей I, IX и XIV, которые инкубировали в жидкой питательной среде до достижения необходимой оптической плотности. Из половины объема каждого образца была выделена

ТАБЛИЦА 1
РЕЗУЛЬТАТЫ ПОДСЧЕТА ТИТРА
ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ КЛЕТОК КУЛЬТУРЫ ШТАММА-
ПРОДУЦЕНТА, ЧИСЛА ГЕНЕРАЦИЙ И ОЦЕНКИ
БИОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

№ пассажа	Разведение (d)	Среднее количество колоний (n)	Титр клеток в 1 мл культуральной жидкости (n_k)	Расчетное количество генераций	Количество гибридного белка SMT3_HCRG21, % от суммарного белка клеток
Рабочая посевная культура	10^5	13,3	$1,3 \cdot 10^7$	-	-
I	10^6	15,7	$1,6 \cdot 10^8$	13,5	$17,5 \pm 0,9$
II	10^6	12,0	$1,2 \cdot 10^8$	9,6	-
III	10^6	12,7	$1,3 \cdot 10^8$	10,0	$18,0 \pm 1,4$
IV	10^7	11,0	$1,1 \cdot 10^9$	13,1	-
V	10^7	6,0	$6,0 \cdot 10^8$	9,1	-
VI	10^6	8,3	$8,3 \cdot 10^7$	7,1	$9,4 \pm 1,6^*$
VII	10^7	16,0	$1,6 \cdot 10^9$	14,2	-
VIII	10^6	34,0	$3,4 \cdot 10^8$	7,7	-
IX	10^6	34,3	$3,4 \cdot 10^8$	10,0	$8,4 \pm 2,1^{**}$
X	10^7	16,7	$1,7 \cdot 10^9$	12,3	-
XI	10^7	6,7	$6,7 \cdot 10^8$	8,6	-
XII	10^7	3,7	$3,7 \cdot 10^8$	9,1	$12,1 \pm 0,8$

Примечания: достоверные отличия представлены как $^*(p \leq 0,05)$ и $^{**}(p \leq 0,01)$ относительно количества гибридного белка в пассаже I. Данные представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего ($n = 3$).

TABLE 1
RESULTS OF VIABLE CELL TITER, NUMBER
OF GENERATIONS, AND BIOSYNTHETIC ACTIVITY
OF THE PRODUCING STRAIN CULTURE ASSESSMENT

ДНК; оставшаяся клеточная суспензия была индуцирована ИПТГ для количественной оценки содержания гибридного белка.

Для подтверждения генетической стабильности штамма-продуцента был установлен размер гена, кодирующего гибридный белок SMT3_HCRG21. Для этого из КЖ шести колоний 10, 90 и 140 генераций была выделена пДНК и проведена ПЦР с использованием универсальных Т7 праймеров, комплементарных участкам Т7 промотора и терминатора. Выбор олигонуклеотидных праймеров связан с тем, что в плазмидном векторе экспрессия целевых генов находится под регуляцией Т7 промотора. В результате ПЦР-амплификации пДНК клонов 10, 90 и 140 генераций были получены фрагменты ДНК длиной около 600 н.п. (рис. 1), что соответствует

длине нуклеотидной последовательности (541 н.п.) генетической конструкции pSMT3_HCRG21 с учетом Т7-праймеров (20 н.п. для каждого праймера).

Для подтверждения подлинности гена, кодирующего гибридный белок SMT3_HCRG21, было проведено секвенирование полученных ПЦР-фрагментов. В результате было установлено, что полученные нуклеотидные последовательности полностью идентичны заявленной в паспорте штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, и включают участки, кодирующие гексагистиновую метку, белок-партнер SMT3, сайт для расщепления протеазой Ulp-1, пептид HCRG21 и стоп-кодон, что соответствует аминокислотной последовательности гибридного белка (рис. 2). Это свидетельствует о подлинности штамма-продуцента

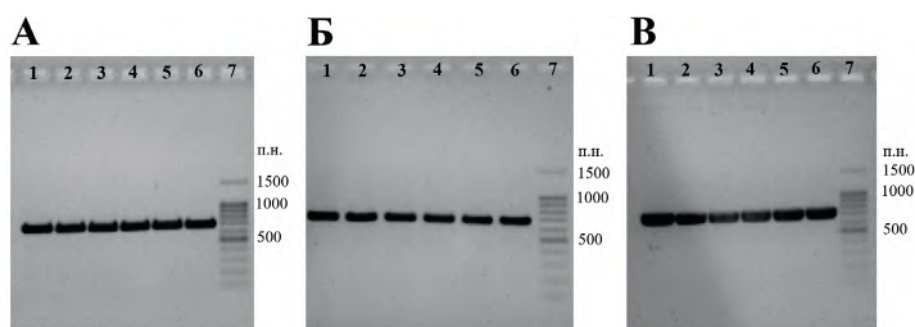


РИС. 1.
Электрофореграммы продуктов амплификации пДНК клонов (1–6) 10 (А), 90 (Б) и 140 (В) генераций продуцента гибридного белка SMT3_HCRG21. 1–6 – фрагменты пДНК клонов 1–6, 7 – маркер длин ДНК (100+ bp, Евроген). п.п. – пар нуклеотидов

FIG. 1.
Electropherograms of pDNA amplification products of clones (1–6) of 10 (A), 90 (B) and 140 (V) generations of the producer of the hybrid protein SMT3_HCRG21. Lanes 1–6: PCR fragments amplified from DNAs of clones 1–6; lane 7: DNA Ladder 100+ bp. bp – base pairs

GAGTCGTATCCATATGGTGAAGTATCACCACCATCATCACCATGGCTCAGGCTTAGTTCCTCGT	64	
M V K Y H H H H H H G S G L V P R		17
GGCAGTGCCTCCATGAGCGATAGTGAAGTCAACCAAGAAGCGAAACCGGAAGTGAACCTGAAG	128	
G S A S M S D S E V N Q E A K P E V K P E		38
TGAAACCGGAGACCCACATCAACCTGAAAGTGAGTGATGGCAGTTCTGAGATCTTCTCAAGAT	192	
V K P E T H I N L K V S D G S S E I F F K I		60
CAAGAAGACCACTCCGTTACGTCGTCTGATGGAGGCGTTTGCAGAACGCCAAGGCAAGAAATG	256	
K K T T P L R R L M E A F A K R Q G K E M		81
GATAGTCTTCGCTTCTGTATGATGGCATTTCGATTCAGCTGATCAGACTCCAGAAGATCTGG	320	
D S L R F L Y D G I R I Q A D Q T P E D L		102
ACATGGAAGACAACGACATCATTGAAGCAGATCGTGAACAGATTGGTGGTCGTGGCATCTGCAG	384	
D M E D N D I I E A H R E Q I G G R G I C S		124
CGAACCGAAAGTGGTTGGTCCGTGCACTGCGTACTTTCGTCGCTTCTACTTTGACTCTGAGACT	448	
E P K V V G P C T A Y F R R F Y F D S E T		145
GGCAAGTGCACACCGTTTCATCTATGGTGGCTGTGAAGGGAATGGCAACAACCTTTGAGACCTTAC	512	
G K C T P F I Y G G C E G N G N N F E T L		166
GTGCGTGTGTCGATCTGTCGTGCTAAGTTCGAGTGGC	551	
R A C R A I C R A *		175

РИС. 2.
Нуклеотидная последовательность, полученная в результате секвенирования ПЦР-фрагментов клеток клона 1 10-й генерации штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, и выведенная аминокислотная последовательность гибридного белка SMT3_HCRG21. Розовым цветом показана последовательность белка-партнера SMT3 и сайт расщепления протеазой Ulp-1, голубым – последовательность HCRG21, гексагистиновая метка (6xHis-tag) подчеркнута, * – стоп-кодон.

FIG. 2.
Nucleotide sequence, determined by sequencing of PCR fragments from clone 1 of 10 generation of strain *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, and deduced amino acid sequence of hybrid protein SMT3_HCRG21. SMT3 and Ulp-1 site sequence is colored pink, HCRG21 sequence is shown in blue. 6xHis-tag is underlined; * – stop codon.

и его способности в течение длительного культивирования сохранять плазмиду и производить целевой гибридный белок.

Уровень продуктивности штамма оценивали по относительному количеству гибридного белка, который был получен после индукции экспрессии ИПТГ в клеточной суспензии клонов 10, 90 и 140 генераций. Согласно электрофоретическому анализу клеточных лизатов, полученных в результате экспрессии с последующей гомогенизацией ультразвуком (рис. 3), полоса гибридного белка была выявлена во всех образцах. Молекулярная масса SMT3_HCRG21 составила около 20 кДа, что соответствует расчетной массе гибридного белка (19,785 кДа). Следует отметить, что полосы гибридного белка на электрофореграммах имели практически одинаковую интенсивность как при 10, так и при 90 и 140 генерациях клеток. Используя систему визуализации и анализа белковых полос в полиакриламидном геле, было определено количественное содержание гибридного белка SMT3_HCRG21 в каждой генерации по отношению к суммарному содержанию белка. Установлено,

что среднее содержание гибридного белка в клонах 10 генераций клеток штамма-продуцента составило $16,2 \pm 1,6 \%$, тогда как в клонах 90 и 140 генераций – $16,5 \pm 1,9 \%$ и $16,0 \pm 1,3 \%$ соответственно (табл. 2). При этом среднее содержание гибридного белка между генерациями сохранялось на уровне 16 %, что свидетельствует о высокой стабильности уровня продуктивности штамма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном исследовании показано, что рабочая посевная культура клеток штамма-продуцента *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21, который планируется использовать в производстве анальгетического пептида HCRG21 в промышленных масштабах, сохраняет жизнеспособность и экспрессионную стабильность на протяжении как минимум 12 последовательных пассажей, при этом число генераций культуры в пределах одного пассажа сохраняется на уровне 10.

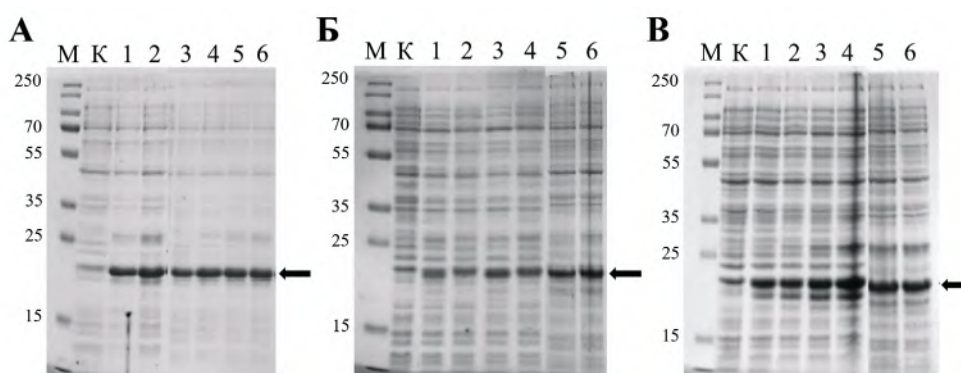


РИС. 3.

Электрофореграммы клеточных лизатов 10 (А), 90 (Б) и 140 (В) генераций главного банка штамма-продуцента гибридного белка SMT3_HCRG21. 1–6 – клеточные лизаты колоний 1–6; М – маркер молекулярных масс, К – лизат клеток, не подвергавшихся индукции экспрессии (контроль). Стрелками указан гибридный белок

FIG. 3.

Electrophoregrams of cell lysates obtained from 10 (A), 90 (B) u 140 (B) generations of primary strain bank. 1–6 – cell lysates of clones 1–6; M – protein ladder; K – lysate from cells incubated without IPTG (negative control). The arrows indicate the fusion protein

ТАБЛИЦА 2

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГИБРИДНОГО БЕЛКА SMT3_HCRG21 В ПРОЦЕССЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ ПЕРЕСЕВОВ (ДЛЯ ШЕСТИ КОЛОНИЙ)

TABLE 2

DYNAMICS OF SMT3-HCRG21 FUSION PROTEIN EXPRESSION DURING SUCCESSIVE PASSAGES FOR SIX COLONIES

№ колонии	Количество гибридного белка SMT3_HCRG21, % от суммарного белка клеток		
	10 генераций	90 генераций	140 генераций
1	15	19	17
2	16	17	14
3	17	15	15
4	15	18	16
5	19	14	17
6	15	16	17

Анализ плазмидной ДНК и уровень продукции гибридного белка в клонах 10, 90 и 140 генераций позволил установить, что данный штамм-продуцент обладает генетической и экспрессионной стабильностью на протяжении 14 последовательных пассажей. Размер и последовательность гена, кодирующего гибридный белок, соответствует заявленному в паспорте штамма-продуцента. Таким образом, штамм-продуцент *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3_HCRG21 является стабильным и может быть использован в производстве анальгетического пептида HCRG21.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках стратегического технологического проекта «Биоэкономика и здоровьесбережение» Программы развития Дальневосточного федерального университета в рамках участия университета в программе стратегического академического лидерства «Приоритет-2030». Программа «Приоритет-2030» реализуется Минобрнауки России в рамках национального проекта «Молодежь и дети».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cazacu I, Mogosan C, Loghin F. Safety issues of current analgesics: an update. *Clujul Med.* 2015; 88: 128–36. doi: 10.15386/cjmed-413
2. Monastyrnaya M, Peigneur S, Zelepuga E, Sintsova O, Gladkikh I, Leychenko E, et al. Kunitz-Type Peptide HCRG21 from the Sea Anemone *Heteractis crispa* Is a Full Antagonist of the TRPV1 Receptor. *Mar Drugs.* 2016; 14(12): 229. doi: 10.3390/md14120229
3. Kvetkina AN, Leychenko EV, Yurchenko EA, Pisyagin EA, Peigneur S, Tytgat Y, et al. A New Iq-Peptide of the Kunitz Type from the *Heteractis magnifica* Sea Anemone Exhibits Neuroprotective Activity in a Model of Alzheimer's Disease. *Russ J Bioorg Chem.* 2018; 44: 416–23. doi: 10.1134/S106816201804012X
4. Mishra M. Evolutionary Aspects of the Structural Convergence and Functional Diversification of Kunitz-Domain Inhibitors. *Journal of Molecular Evolution.* 2020; 88: 537–548. doi: 10.1007/s00239-020-09959-9
5. Carnevale V, Rohacs T. TRPV1: A Target for Rational Drug Design. *Pharmaceuticals (Basel).* 2016; 9(3): 52. doi: 10.3390/ph9030052
6. Maximiano TKE, Carneiro JA, Fattori V, Verri WA. TRPV1: Receptor structure, activation, modulation and role in neuro-immune interactions and pain. *Cell Calcium.* 2024; 119: 102870. doi: 10.1016/j.cerca.2024.102870
7. Синцова О.В., Паликов В.А., Паликова Ю.А., Климович А.А., Гладких И.Н., Андреев Я.А., и др. Пептидный блокатор ионного канала TRPV1 проявляет длительный анальгетический эффект в модели тепловой стимуляции. *Доклады Российской Академии Наук, Науки о Жизни.* 2020; 493: 423–426. [Sintsova OV, Palikov VA, Palikova YuA, Klimovich AA, Gladkikh IN, Andreev YaA, et al. Peptide blocker of ion channel TRPV1 exhibits a long analgesic effect in the heat stimulation model. *Doklady Biological Sciences.* 2020; 493: 423–426. (In Russ.)). doi: 10.31857/s268673892003018x
8. Патент РФ № 2755206 C1, 2020 Средство пролонгированного анальгетического действия и лекарственный препарат на его основе / Лейченко Е.В., Синцова О.В., Гладких И.Н., Климович А.А., Монастырская М.М., Дьяченко И.А., и др. Заявитель и патентообладатель Федеральное гос. бюджетное учреждение науки Тихоокеан. институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН–№ 2020117918/04; заявл. 20.05.2020; опубл. 14.09.2021, Бюл. № 26 – 24с. 2021. [RU 2755206 C1, 2020 Agent with prolonged analgesic action and medicinal product based thereon / Leychenko EV, Sintsova OV, Gladkikh IN, Klimovich AA, Monastyrnaya MM, Diachenko IA, et al. Proprietor: G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences (PIBOC FEB RAS)–Application: 2020117918, 20.05.2020; Date of publication: 14.09.2021 Bull. № 26 – 24p. 2021. (In Russ.)].
9. Sintsova O, Gladkikh I, Klimovich A, Palikova Y, Palikov V, Styshova O, et al. TRPV1 Blocker HCRG21 Suppresses TNF- α Production and Prevents the Development of Edema and Hypersensitivity in Carrageenan-Induced Acute Local Inflammation. *Biomedicines.* 2021; 9(7): 716. doi: 10.3390/biomedicines9070716
10. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193:265–275.
11. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259): 680–685. doi: 10.1038/227680a0
12. Патент РФ № 2798545 C1, 2022 Рекомбинантная плазмидная ДНК pSMT3_HCRG21, кодирующая гибридный белок SMT3-HCRG21, штамм бактерий *Escherichia coli* BL21(DE3)/pSMT3_HCRG21 – продуцент анальгетического пептида HCRG21 и способ получения рекомбинантного анальгетического пептида HCRG21 / Терешин М.Н., Степаненко В.Н., Лейченко Е.В., Козловская Э.П., Подволоцкая А.Б., Текутьева Л.А., и др. Заявитель и патентообладатель Федеральное гос. бюджетное учреждение науки Тихоокеан. институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, ООО «АРНИКА»–№ 2022125725; заявл. 03.10.2022; опубл. 23.06.2023 Бюл. № 18 – 13с. 2023. [RU 2798545 C1, 2022 Recombinant plasmid DNA pSMT3_HCRG21 encoding a hybrid protein SMT3-HCRG21, bacterial strain *Escherichia coli* BL21(DE3)/pSMT3_HCRG21 – producer of HCRG21 analgesic peptide and method of producing recombinant HCRG21 analgesic peptide / Tereshin MN, Stepanenko VN, Leychenko EV, Kozlovskaya EP, Podvolotskaya AB, Tekuteva LA, et al. Proprietor(s): G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences (PIBOC FEB RAS), Limited Liability Company "ARNIKA" (LLC "ARNIKA") – Application: 2022125725, 03.10.2022; Date of publication: 23.06.2023 Bull. № 18 – 13p. 2023. (In Russ.)].

13. Tereshin MN, Komyakova AM, Stepanenko VN, Myagkikh IV, Shoshina NS, Korolkova YV, et al. Optimized method for the recombinant production of a sea anemone's peptide. *Mendeleev Communications*. 2022; 32: 745–746. doi: 10.1016/j.mencom.2022.11.012

Сведения об авторах

Павленко Александра Павловна – младший научный сотрудник департамента комплексных проектов, Передовая инженерная школа «Институт биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем», ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»; младший научный сотрудник лаборатории молекулярной фармакологии и биомедицины, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН; e-mail: apavlenko141@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-0861-3997>

Кветкина Александра Николаевна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной фармакологии и биомедицины, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН; e-mail: kvetkinaa@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0937-002X>

Балдаев Сергей Николаевич – младший научный сотрудник лаборатории морской биохимии, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН; e-mail: baldaevsergey@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6681>

Лейченко Елена Владимировна – кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник Департамента комплексных проектов, Передовая инженерная школа «Институт биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем», ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»; заведующий лабораторией молекулярной фармакологии и биомедицины, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН; e-mail: leychenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2360-1365>

Information about the authors

Aleksandra P. Pavlenko – junior researcher at the Department of Complex Projects, Advanced Engineering School «Institute of Biotechnology, Bioengineering and Food Systems», Far Eastern Federal University; junior researcher at the Laboratory of Molecular Pharmacology and Biomedicine, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences; e-mail: apavlenko141@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-0861-3997>

Aleksandra N. Kvetkina – Cand. Sc. (Chem.), researcher at the Laboratory of Molecular Pharmacology and Biomedicine, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences; e-mail: kvetkinaa@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0937-002X>

Sergey N. Baldaev – junior researcher at the Laboratory of Marine Biochemistry, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences; e-mail: baldaevsergey@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6681>

Elena V. Leychenko – Cand. Sc. (Chem.), Associate Professor, senior researcher at the Department of Complex Projects, Advanced Engineering School «Institute of Biotechnology, Bioengineering and Food Systems», Far Eastern Federal University; The Head of the Laboratory of Molecular Pharmacology and Biomedicine, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences; e-mail: leychenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2360-1365>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

НК-КЛЕТКИ С КОЭКСПРЕССИЕЙ KIR И NKG2C КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ HER2-НАПРАВЛЕННЫХ CAR-НК-ЭФФЕКТОРОВ

**Алексеева Н.А.,
Стрельцова М.А.,
Коваленко Е.И.**

ФГБУН ГНЦ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (117437, г. Москва, вн.тер.г. муниципальный округ Коньково, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Алексеева Надежда Алексеевна
e-mail: nadalex@inbox.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Для создания HER2-направленных CAR-НК-клеточных эффекторов важен выбор субпопуляции НК-клеток с высоким цитотоксическим потенциалом и чувствительностью к генетической модификации. Особый интерес в контексте терапии солидных опухолей представляют лицензированные KIR⁺ НК-клетки, экспрессирующие активирующий рецептор NKG2C.

Цель исследования. Получение HER2-CAR-НК-клеток на основе субпопуляций НК-клеток с различной экспрессией рецепторов KIR и NKG2C для элиминации HER2⁺ солидных опухолей.

Методы. НК-клетки HCMV-серопозитивного донора выделяли методом негативной магнитной сепарации из выделенных в градиенте плотности мононуклеаров периферической крови. Субпопуляции НК-клеток с различной экспрессией KIR и NKG2C получали методом клеточной сортировки и культивировали при стимуляции IL-2 и фидерными клетками. НК-клетки модифицировали геном, несущим конструкцию HER2-CAR, посредством ретровирусной трансдукции. Цитотоксическую активность полученных культур против сфероидов SKOV-3 детектировали по уровню дегранулирующих CD107a⁺ НК-клеток и по доле нежизнеспособных SytoxBlue⁺ опухолевых клеток в сфероиде.

Результаты. Получены HER2-CAR-НК-эффекторы на основе субпопуляций с различной экспрессией KIR и NKG2C. Показано, что NKG2C-экспрессирующие НК-клетки вне зависимости от экспрессии KIR обладают большей чувствительностью к ретровирусной трансдукции. При коинкубации полученных культур субпопуляций НК-клеток с HER2⁺ сфероидами опухолевых клеток SKOV-3 во фракции трансдуцированных клеток, несущих рецептор HER2-CAR, наблюдалась доля дегранулировавших клеток CD107a⁺, более чем в 4 раза превышающая уровень дегрануляции во фракции немодифицированных НК-клеток. Также в сфероиде SKOV-3 после коинкубации с KIR⁺NKG2C⁺ трансдуцированными НК-эффекторами наблюдалась меньшая доля жизнеспособных клеток по сравнению со сфероидом, который инкубировался с культурами KIR⁺NKG2C⁻.

Заключение. NKG2C⁺ НК-клетки обладали большей чувствительностью к трансдукции. Культуры KIR⁺NKG2C⁺ HER2-CAR-НК-клеток с большей эффективностью элиминировали HER2⁺ клетки-мишени в 3D-модели. Эти свойства делают НК-клетки, коэкспрессирующие KIR и NKG2C, перспективной основой для создания CAR-НК-эффекторов.

Ключевые слова: НК-клетки, NKG2C, HER2, ингибирующий рецептор KIR, химерный антигенный рецептор, адаптивная иммунотерапия

Статья поступила: 01.04.2026
Статья принята: 07.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Алексеева Н.А., Стрельцова М.А., Коваленко Е.И. НК-клетки с коэкспрессией KIR и NKG2C как основа для создания HER2-направленных CAR-НК-эффекторов. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 21-28. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.3

NK CELLS COEXPRESSING KIR AND NKG2C AS A BASIS FOR HER2-TARGETED CAR-NK EFFECTORS

**Alekseeva N.A.,
Streltsova M.A.,
Kovalenko E.I.**

Shemyakin-Ovchinnikov Institute
of Bioorganic Chemistry of the Russian
Academy of Science (Inner-city municipal
district of Konkovo, Miklukho-Maklay st.,
16/10, bldg. 1, Moscow 117437, Russian
Federation)

Corresponding author:
Nadezhda A. Alekseeva
e-mail: nadalex@inbox.ru

ABSTRACT

Background. For the development of HER2-targeted CAR NK cell effectors, it is important to select an NK cells subset with high cytotoxic potential and sensitivity to genetic modification. In the context of solid tumor therapy, licensed KIR⁺ NK cells expressing the activating receptor NKG2C are of particular interest.

Aim. To obtain HER2-CAR-NK cells based on NK cell subsets with different expression of KIR and NKG2C receptors for the elimination of HER2⁺ solid tumors.

Materials and methods. NK cells from an HCMV-seropositive donor were isolated by negative magnetic separation from peripheral blood mononuclear cells isolated by density gradient centrifugation. NK cell subsets with different expression of KIR and NKG2C were obtained by cell sorting and cultured with stimulation by IL-2 and feeder cells. NK cells were modified with a gene carrying the HER2-CAR construct via retroviral transduction. The cytotoxic activity of the cultures against SKOV-3 spheroids was detected by the level of degranulating CD107a⁺ NK cells and the proportion of nonviable SytoxBlue⁺ tumor cells in the spheroid.

Results. HER2-CAR-NK effectors were obtained based on subsets with different KIR and NKG2C expression. It was shown that NKG2C-expressing NK cells, regardless of KIR expression, have greater sensitivity to retroviral transduction. Upon co-incubation of the obtained cultures of NK cell subsets with HER2⁺ SKOV-3 tumor cell spheroids, in the fraction of transduced cells bearing the HER2-CAR receptor, the proportion of degranulated CD107a⁺ cells was more than 4-fold higher than the level of degranulation in the fraction of unmodified NK cells. Also, in SKOV-3 spheroids after co-incubation with KIR⁺ NKG2C⁺ transduced NK effectors, a lower proportion of viable cells was observed compared to spheroids that were incubated with KIR⁺ NKG2C⁻ cultures.

Conclusion. NKG2C⁺ NK cells exhibited greater sensitivity to transduction. Cultures of KIR⁺NKG2C⁺ HER2-CAR-NK cells eliminated HER2⁺ target cells more efficiently in a 3D model. These properties make NK cells coexpressing KIR and NKG2C a promising basis for the CAR-NK effectors development.

Key words: NK cells, NKG2C Receptor, HER2, Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor, Chimeric Antigen Receptors, adoptive immunotherapy

Received: 01.04.2026
Accepted: 07.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Alekseeva N.A., Streltsova M.A., Kovalenko E.I. NK cells coexpressing KIR and NKG2C as a basis for HER2-targeted CAR-NK effectors. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 21-28. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.3

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные солидные опухоли по сей день являются одной из основных причин смертности в человеческой популяции. Экспрессия некоторых маркеров в опухоли может способствовать избеганию иммунного надзора, а также стимуляции роста раковых клеток, что зачастую приводит к экспансии опухоли, метастазированию и неблагоприятному исходу заболевания. В частности, высокий риск рецидива ассоциирован с экспрессией рецептора эпидермального фактора роста 2 типа (HER2/ErbB-2) [1]. Оверэкспрессия HER2 встречается в тканях опухоли молочной железы, яичника, кишечника. Таргетная терапия HER2⁺ опухолей может значительно повысить выживаемость пациентов, а также снизить неизбежное поражение здоровых тканей, которое наблюдается при более консервативных методах лечения, таких как химио- и радиотерапия. В настоящее время активно применяется и совершенствуется адаптивная терапия иммунными клетками, несущими на своей поверхности антиген-направленные рецепторы CAR (chimeric antigen receptor) [2]. Широко применяются CAR-T-лимфоциты, однако создание противораковых агентов на основе NK-клеток представляет особый интерес, поскольку NK-клетки, в отличие от Т-клеток, не провоцируют развитие реакции трансплантат против хозяина [3]. CAR-NK-клетки уже эффективно применяются в терапии гематологических опухолей, в частности, CD19-CAR-NK-клетки зарекомендовали себя как высокоэффективные агенты против CD19-экспрессирующих опухолей [4]. Однако солидные опухоли, в отличие от гематологических патологий, представляют собой трехмерные структуры с плотными межклеточными контактами и особым микроокружением, включающим ряд растворимых и мембран-связанных супрессирующих факторов. В связи с этим требуется разработка новых подходов к повышению эффективности NK-клеточной терапии. Одним из таких подходов является выбор субпопуляции NK-клеток для введения CAR-конструкта. Эти клетки должны сочетать в себе высокое содержание цитотоксических гранул, выраженный пролиферативный потенциал для эффективного накопления *in vitro*, а также высокую чувствительность к генетической модификации.

Популяция NK-клеток отличается широким фенотипическим и функциональным разнообразием. По новейшей классификации, основанной на транскриптомном анализе, выделяют три основные когорты NK-клеток: цитотоксические клетки NK1, регуляторные NK2 и адаптивные клетки со свойствами памяти NK3 [5]. Известно, что накопление слабодифференцированных и чувствительных к растворимым факторам клеток NK2 в тканях солидных опухолей ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [6]. NK2 не только отличаются низким цитотоксическим потенциалом, но также экспрессируют на высоком уровне ингибирующий рецептор NKG2A [5]. Многие измененные ткани как зараженные вирусом, так и подвергшиеся

злокачественной трансформации экспрессируют лиганд NKG2A – молекулу HLA-E, благодаря чему успешно избегают иммунного надзора. Ось NKG2A-HLA-E является известным чекпойнтом, существует множество подходов к блокированию взаимодействия иммунных клеток по этой оси, включая блокирующие антитела к NKG2A и генную модификацию эффекторных клеток [7]. Однако HLA-E способен распознавать не только ингибирующий рецептор NKG2A, но также активирующий рецептор NKG2C [8]. Высокий уровень экспрессии NKG2C свойственен адаптивным клеткам когорты NK3 [5]. Наиболее хорошо изучены адаптивные клетки, пул которых формируется в ходе цитомегаловирусной инфекции (HCMV). Накопление NKG2C-позитивных клеток обусловлено тем, что один из белков HCMV кодирует пептид, гомологичный лидерной последовательности HLA класса I (HLA-I), который образует комплекс с HLA-E и представляется на поверхности зараженной клетки [9]. HCMV-специфические адаптивные клетки несут фенотип CD57⁺NKG2C⁺ и отличаются высокой продолжительностью жизни, а также выраженным уровнем антителозависимой цитотоксичности, что потенциально позволяет использовать их в сочетанной терапии с моноклональными антителами.

Помимо этого, адаптивным NK-клеткам когорты NK3, как высокодифференцированным функционально зрелым эффекторам, свойственна экспрессия ингибирующих рецепторов KIR к собственным HLA-I. Экспрессирующие KIR NK-клетки проходят лицензирование в окружении здоровых тканей организма. Лицензированные NK-клетки отличаются высоким содержанием литических гранул с гранзимом В и перфорином [10]. KIR-позитивные клетки проявляют высокую цитотоксичность против мишеней, не экспрессирующих их лиганды. Многие измененные клетки отличаются сниженной экспрессией HLA-I, что мешает Т-клеткам их узнавать и элиминировать. Известно, что адаптивные NK-клетки с фенотипом KIR⁺NKG2C⁺ обладают повышенной цитотоксичностью в отношении клеток острой миелоидной лейкемии [11]. Таким образом, NK-клетки, коэкспрессирующие ингибирующие рецепторы KIR и активирующий рецептор NKG2C, могут являться перспективной основой для создания высокотоксичных генномодифицированных противораковых CAR-эффекторов.

Целью настоящего исследования стало получение HER2-направленных эффекторов на основе NK-клеток с различной экспрессией маркеров KIR2DL2/3 и NKG2C и проверка их противоопухолевой активности в отношении сфероидов HER2-экспрессирующей линии рака яичников SKOV-3.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

NK-клетки получены методом негативной магнитной сепарации из выделенных в градиенте плотности мононуклеаров периферической крови здорового HCMV-серопозитивного индивида, давшего

информированное согласие на участие в эксперименте. Этические нормы в ходе экспериментальных работ соответствовали принципам Хельсинкской декларации, исследование было одобрено Комитетом по этике Российского национального исследовательского медицинского университета им. Пирогова (протокол № 169 от 20 ноября 2017 г.). Титр антител к HCMV был определен методом иммуноферментного анализа (Вектор-Бест, Россия). Далее NK-клетки были помечены моноклональными антителами KIR2DL2/3-FITC, NKG2C-PE, CD56-PE-Vio615 (MiltenyiBiotec, Германия) и посредством клеточного сортировщика FACSVantageDiVa (BectonDickinson, США), оснащенного лазерами 405, 488 и 638 нм, отсортированы на субпопуляции KIR2DL2/3⁻NKG2C⁻, KIR2DL2/3⁻NKG2C⁺, KIR2DL2/3⁺NKG2C⁻ и KIR2DL2/3⁺NKG2C⁺. Полученные клетки культивировали в среде, содержащей 45 % среды NK MACS (MiltenyiBiotec, Германия) и 45 % DMEM (Панэко, Россия) при добавлении 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS) (HyClone, США), 2 мМ л-глутамина (Панэко), 1 % пирувата натрия (Панэко) и 1 % антибиотика-антимикотика (Sigma-Aldrich, США), при 5 % CO₂, 37 °C. В качестве активирующих стимулов были использованы IL-2 в концентрации 100 ед./мл (Hoffmann-La-Roche, Швейцария) и облученные фидерные клетки K562-mbIL21 с мембраносвязанным IL-21. Вектор, несущий ген *HER2-CAR*, состоял из последовательностей, кодирующих антителоподобную молекулу DARPIn G3 – модуль распознавания антигена, аффинный к IV домену HER2; EF1a – конститутивный человеческий промотор hEF1a; c-мус – внеклеточный фрагмент для детекции CAR на поверхности; IgG1 – шарнирную область из человеческого IgG1; CD28-CD3 cyto – сигнальный регион; GFP – репортерный белок. Для накопления вирусных частиц, несущих вектор *HER2-CAR*, клетки линии PhoenixAmpho (любезно предоставленные д.б.н, проф. А.В. Филатовым (Институт Иммунологии, Россия)) подвергли трансфекции плазмидой, несущей конструкцию *HER2-CAR*. Трансфекция проводилась в обработанных полилизинем чашках Петри в среде DMEM, содержащей 3 % FBS. Через 48 ч среду, содержащую накопленные вирусные частицы, собирали и концентрировали ультрацентрифугированием при 21 000 g в течение 2,5 часов при 4°C. Через 7 дней активации выделенные субпопуляции NK-клеток были подвергнуты ретровирусной трансдукции вирусными частицами, несущими конструкцию *HER2-CAR*. Трансдукция проводилась в 96-луночных планшетах, предварительно обработанных раствором ретронектина (20 µg/mL, Clontech/Takara, USA). Эффективность трансдукции определяли по экспрессии c-Мус, фрагмента внеклеточного домена CAR. Для оценки цитотоксической активности полученных CAR-NK-эффекторов получали 3D-культуры (сфероиды) SKOV-3. По 20 000 клеток SKOV-3 сажали в лунки агарозных форм и культивировали в полной среде DMEM в течение 3 дней, как было описано ранее [12]. Цитотоксичность NK-клеток определяли методом проточной цитометрии по уровню дегрануляции (CD107a⁺) и доле SytoxBlue⁺ нежизнеспособных опухолевых

клеток после коинкубации *HER2-CAR*-эффекторов и *HER2*⁺ мишеней в соотношении Е:Т = 1:1 в течение 4 ч. Коинкубацию проводили при добавлении монензина и моноклональных антител CD107a-PerCP (BioLegend, США). Краситель SytoxBlue (Invitrogen, США) добавляли непосредственно перед измерением, которое проводили на цитометре LongCyte (Challenbio, Китай), оснащенный тремя лазерами, 405, 488 и 638 нм. Обработка данных проводилась в программах FlowJo (FlowJo LLC, США) и GraphPadPrism 8.0 (StatsoftInc., США). Измерения проводились в 3–5 технических повторностях, число повторностей определялось количеством выделенных из крови NK-клеток каждой из субпопуляций. Для анализа нормально распределенных данных применялся *t*-тест Стьюдента, для множественного сравнения данных с ненормальным распределением применялся тест Краскела – Уоллиса либо парный непараметрический тест Вилкоксона. При *p* < 0.05 выборки считались достоверно различными.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве мишеней в нашем исследовании были использованы 3D-культуры (сфероиды) линии опухоли яичника SKOV-3. Формирование трехмерной структуры может быть сопряжено с изменением экспрессии поверхностных маркеров, в том числе тех, на которые направлена таргетная терапия. Поэтому перед сокультивированием с NK-клеточными эффекторами мы оценили поверхностную экспрессию молекул *HER2*, *HLA-E* и *HLA-A,B,C* клетками SKOV-3 в 2D- и 3D-культурах. При формировании сфероидов наблюдалось повышение уровня экспрессии *HER2* (MFI (2D) = 115, MFI (3D) = 255), а также увеличение процентного содержания *HLA-E*-экспрессирующих клеток. Уровень экспрессии *HLA* класса I оставался неизменным (рис. 1А). Для последующих экспериментов мы выбрали HCMV-серопозитивного индивида с высокой долей NKG2C⁺ клеток (14 %) и оценили процентное содержание субпопуляций с различной экспрессией KIR и NKG2C (рис. 1Б). Поскольку индивид обладал генотипом *HLA-C1/C2*, среди ингибирующих рецепторов KIR для анализа популяционного состава и последующей сортировки был выбран рецептор KIR2DL2/3, лигандом которого является молекула *HLA-C1*. Таким образом, NK-клетки, экспрессирующие KIR2DL2/3 (далее KIR), с высокой вероятностью обладали характеристиками лицензированных клеток с высоким цитотоксическим потенциалом против клеток SKOV-3, обладающих генотипом *HLA-C2/C2*. Субпопуляция наименее дифференцированных клеток KIR⁻NKG2C⁻ составила 66,7 %, KIR⁻NKG2C⁺ – 9,12 %, KIR⁺NKG2C⁻ – 20,4 %, наиболее малочисленная субпопуляция клеток, коэкспрессирующих KIR и NKG2C, – 3,75 %. Далее, посредством клеточной сортировки, пул NK-клеток был разделен на 4 субпопуляции с различной экспрессией KIR и NKG2C. Через 10 дней активации *in vitro* по уровню дегранулирующих клеток CD107a⁺ была оценена их цитотоксическая активность в отношении

сфероидов SKOV-3. Наблюдалась тенденция к более активной дегрануляции в культурах более дифференцированных клеток KIR⁺, наименьшая доля клеток CD107a⁺ детектировалась в клетках, не экспрессирующих ни KIR, ни NKG2C (рис. 1B). На седьмой день культуры NK-клеток с различной экспрессией KIR и NKG2C посредством ретровирусной трансдукции были модифицированы геном, несущим конструкцию химерного рецептора HER2-CAR. Эффективность трансдукции определяли по уровню экспрессии молекулы с-Мус, входящей в состав внеклеточного домена HER2-CAR. Наибольшие доли клеток с-Мус⁺ были выявлены в популяциях NKG2C-позитивных NK-клеток (рис. 1Г).

Чтобы оценить цитотоксическую активность культур NK-клеток после трансдукции гена HER2-CAR, их коинкубировали со сфероидом HER2-экспрессирующей клетки SKOV-3. Во всех популяциях наблюдалось увеличение доли дегранулирующих клеток CD107a⁺ более чем в 4 раза (рис. 2А). При этом доля дегранулирующих с-Мус⁺ клеток, несущих HER2-CAR на поверхности, не зависела от экспрессии KIR и NKG2C (рис. 2Б). Также была оценена жизнеспособность опухолевых клеток в сфероиде после коинкубации с трансдуцированными

KIR⁺ NK-клетками. Сфероиды SKOV-3 после коинкубации с NKG2C-позитивными NK-эффекторами содержали больше нежизнеспособных клеток по сравнению со сфероидом, который инкубировался с NKG2C-негативными культурами (рис. 2Б).

ОБСУЖДЕНИЕ

В своем исследовании мы показали, что субпопуляции с различной экспрессией KIR2DL2/3 и NKG2C обладают различной цитотоксической активностью в отношении сфероидов SKOV-3. Наименьшим уровнем дегрануляции отличались клетки субпопуляции KIR⁺ NKG2C⁻, представляющие собой слабодифференцированные клетки, содержащие также клетки когорты NK2, для которых свойственна высокая экспрессия NKG2A, молекулы-чекпойнта [5]. Мы показали, что клетки SKOV-3 экспрессируют HLA-E и способны через ось NKG2A-HLA-E подавлять цитотоксическую реакцию иммунных клеток. Помимо этого, известно, что некоторые опухоли, в том числе и клетки SKOV-3, способны продуцировать хемокины-аттрактанты CXCL9/10

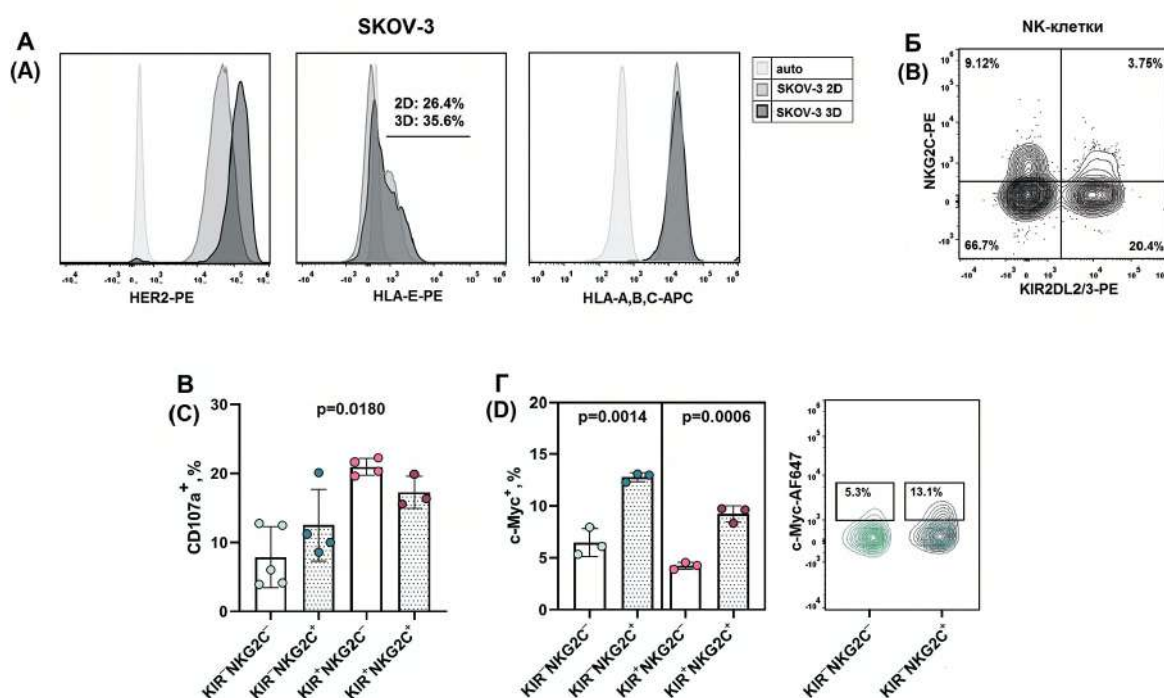


РИС. 1.

Цитотоксическая активность и эффективность трансдукции NK-клеток с различной экспрессией KIR и NKG2C. **А**—уровень экспрессии молекул HER2, HLA-E и HLA-A,B,C в 2D- и 3D-культурах опухолевой линии SKOV-3; **Б**—распределение субпопуляций по уровню экспрессии маркеров KIR и NKG2C в пуле NK-клеток индивида перед сортировкой на субпопуляции; **В**—доля дегранулировавших немодифицированных NK-клеток с различной экспрессией KIR и NKG2C при коинкубации со сфероидом SKOV-3; **Г**—эффективность трансдукции NK-клеток с различной экспрессией маркеров KIR и NKG2C (слева), репрезентативные цитометрические данные (справа).

FIG. 1.

Cytotoxic activity and transduction efficiency of NK cells with different expression of KIR and NKG2C. **A**—expression level of HER2, HLA-E and HLA-A,B,C molecules in 2D and 3D cultures of the SKOV-3 tumor line; **B**—distribution of subpopulations by expression level of KIR and NKG2C markers in the NK cell pool of an individual before sorting into subpopulations; **C**—the proportion of degranulated unmodified NK cells with different expression of KIR and NKG2C upon coincubation with SKOV-3 spheroids; **D**—transduction efficiency of NK cells with different expression of KIR and NKG2C markers (left), representative cytometric data (right).

и -11, которые способствуют привлечению в область опухоли CXCR3-позитивных NK-клеток [13, 14]. Такие клетки склонны к тканерезидентности за счет высокой экспрессии ряда молекул межклеточной адгезии, таких как CD44 и CD62L. Зачастую накопление низкодифференцированных NK-клеток в опухоли ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [6, 15]. Цитотоксическую активность клеток KIR⁺NKG2C⁺ можно повысить с помощью генетической модификации, внедрив в них рецептор HER2-CAR. Мы показали, что трансдуцированные клетки KIR⁺NKG2C⁺ не отличаются от остальных субпопуляций по уровню дегрануляции в ответ на инкубацию со сфероидом SKOV-3 и содержат высокие доли клеток CD107a⁺. Тем не менее, низкодифференцированным NK-клеткам свойственна низкая экспрессия перфорина и гранзимов А и В, что свидетельствует об их слабом цитотоксическом потенциале даже при высоких уровнях дегрануляции [5]. Кроме того, в культурах KIR⁺NKG2C⁺ наблюдалась меньшая эффективность трансдукции по сравнению с NKG2C-экспрессирующими

культурами. С учетом низкой цитотоксичности, высокого уровня экспрессии чекпойнта NKG2A, а также низкой чувствительности к трансдукции можно заключить, что NK-клетки субпопуляции KIR⁺NKG2C⁺ могут обладать ограниченным противоопухолевым потенциалом.

NK-клетки, экспрессирующие рецептор KIR2DL2/3, обладали повышенным уровнем дегрануляции в ответ на SKOV-3 по сравнению с KIR2DL2/3-негативными. Лигандами KIR2DL2/3, распознавание которых приводит к ингибированию цитотоксической реакции, являются молекулы HLA-C1 [16]. Линия рака яичников SKOV-3 несет генотип HLA-C2/C2, таким образом, не способна ингибировать цитотоксичность NK-клеток по оси KIR2DL2/3-HLA-C1, что могло приводить к более интенсивной дегрануляции. Известно, что при аллогенной трансплантации костного мозга (ККМ) особенно важен подбор донора с рецепторами KIR, распознающими HLA-I реципиента. Однако в случае миелоидной лейкемии возможна трансплантация донорских тканей, содержащих KIR⁺ NK-клетки, проявляющие

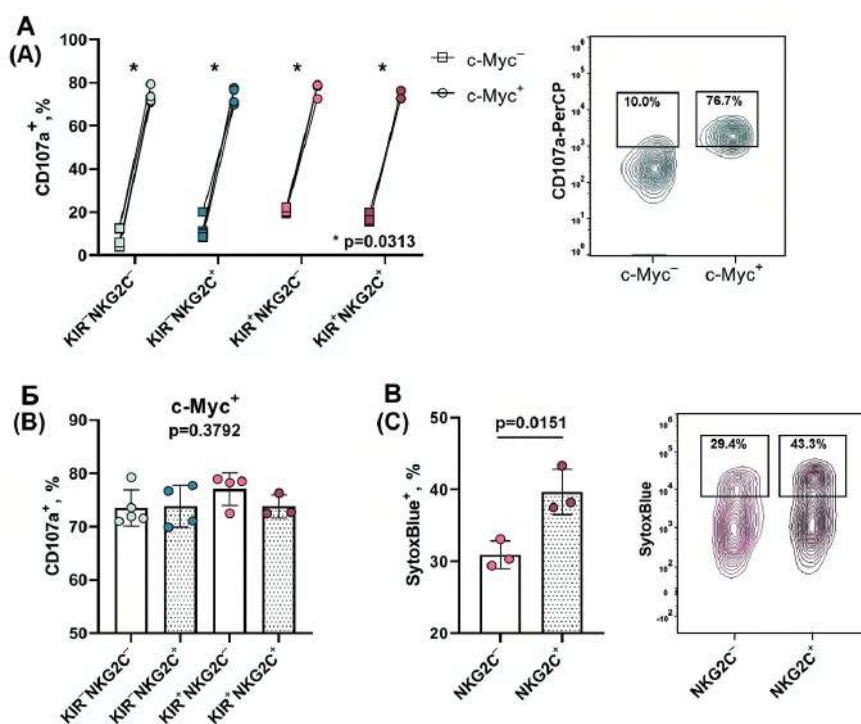


РИС. 2.

Цитотоксическая активность субпопуляций NK-клеток с различной экспрессией KIR и NKG2C, трансдуцированных геном HER2-CAR, в отношении HER2-экспрессирующих сфероидных культур. **А**–доля дегранулировавших CD107a⁺ NK-клеток нетрансдуцированных (c-Myc⁻) и трансдуцированных (c-Myc⁺) в субпопуляциях с различной экспрессией KIR и NKG2C при коинкубации со сфероидом SKOV-3 (слева), репрезентативные цитометрические данные (справа); **Б**–доля дегранулировавших CD107a⁺ NK-клеток в пуле трансдуцированных c-Myc⁺ клеток в субпопуляциях с различной экспрессией KIR и NKG2C при коинкубации со сфероидом SKOV-3; **В**–доля нежизнеспособных SytoxBlue⁺ клеток в сфероиде SKOV-3 после коинкубации с KIR+NKG2C⁺/– NK-клетками, трансдуцированными геном HER2-CAR (слева), репрезентативные цитометрические данные (справа).

FIG. 2.

Cytotoxic activity of HER2-CAR gene-transduced NK cell subpopulations with different KIR and NKG2C expression towards HER2-expressing spheroid cultures. **A**–proportion of degranulated CD107a⁺ NK cells, non-transduced (c-Myc⁻) and transduced (c-Myc⁺) in subsets with different KIR and NKG2C expression co-incubated with SKOV-3 spheroids (left), representative cytometric data (right); **B**–proportion of degranulated CD107a⁺ NK cells in the pool of c-Myc⁺ transduced cells in subsets with different KIR and NKG2C expression co-incubated with SKOV-3 spheroids; **C**–the proportion of nonviable SytoxBlue⁺ cells in SKOV-3 spheroids after incubation with KIR+NKG2C⁺/– NK cells transduced with the HER2-CAR gene (left), representative cytometric data (right).

аллореактивность в отношении клеток донора. Такой подход позволяет установить контроль над клетками лейкемии, и избежать рецидива [17]. Клетки, экспрессирующие KIR, преимущественно относятся к когортам NK1 и NK3, которые отличаются высоким содержанием гранзимов и перфоринов [5]. Кроме того, наличие активирующего рецептора NKG2C позволяет повысить их цитотоксический потенциал в отношении HLA-E-экспрессирующих опухолевых клеток [18, 19]. Дополнительная модификация рецепторами CAR, нацеленными на опухоль-специфичный антиген потенциально увеличит эффективность цитотоксических агентов, коэкспрессирующих KIR и NKG2C. Мы показали, что наибольшая доля нежизнеспособных клеток SKOV-3 наблюдалась в сфероидах, которые коинкубировались с трансдуцированными KIR⁺NKG2C⁺ NK-клетками.

Важно также отметить высокую жизнеспособность таких эффекторов. Клетки, коэкспрессирующие KIR и NKG2C, накапливаются в ходе цитомегаловирусной инфекции, часть из них входит во фракцию адаптивных NK-клеток с высокой продолжительностью циркуляции в организме. Процесс деления NKG2C-экспрессирующих клеток при инфекции HCMV сопровождается накоплением активных форм кислорода и повреждением митохондриальных мембран. Повреждение митохондрий, в свою очередь, индуцирует запуск апоптоза. Однако клетки с высоким потенциалом к аутофагии, в частности, к митофагии, способны элиминировать поврежденные митохондрии и выживать [20]. Таким образом, популяция клеток, ответивших на инфекцию, сокращается, при этом формируется пул клеток памяти с высоким аутофагическим потенциалом. В перспективе такие клетки могут обладать высокой эффективностью в условиях опухолевого микроокружения, где снижены концентрации кислорода и питательных веществ.

NK-клетки высокого уровня дифференцировки, к которым относится и популяция KIR⁺NKG2C⁺, отличаются низкой экспрессией рецепторов к растворимым факторам, в том числе к цитокинам IL-2, IL-15 [5]. Это свойство затрудняет их накопление *in vitro* и усложняет их применение в терапии опухолей. Тем не менее, в настоящее время применяются методы накопления NKG2C⁺ клеток с применением фидерных клеток, экспрессирующих на поверхности HLA-E с пептидом HCMV [21, 22]. При таком способе стимуляции также наблюдается накопление NK-клеток, коэкспрессирующих KIR и NKG2C, обладающих высоким цитотоксическим потенциалом против HLA-E-экспрессирующих мишеней [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

NK-клетки, экспрессирующие ингибирующие рецепторы KIR2DL2/3, обладали высоким уровнем дегрануляции в отношении опухолевых сфероидов SKOV-3, не экспрессирующих лиганды KIR2DL2/3. Экспрессия NKG2C на поверхности NK-клеток была сопряжена с высокой чувствительностью к ретровирусной трансдукции, и KIR2DL2/3⁺NKG2C⁺. NK-клетки,

трансдуцированные геном HER2-CAR, продемонстрировали способность элиминировать HER2⁺ сфероиды опухолевых клеток SKOV-3 с большей эффективностью по сравнению с NKG2C-негативными фракциями. Таким образом, NK-клетки, коэкспрессирующие ингибирующий рецептор KIR и активирующий рецептор NKG2C, могут представлять интерес в контексте создания противораковых CAR-эффекторов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 24-75-10136).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Montero A, Ciérvidе R, García-Aranda M, Rubio C. Postmastectomy radiation therapy in early breast cancer: Utility or futility? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2020;147:102887. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.102887
2. Xia W, Chen J, Hou W, Chen J, Xiong Y, Li H, et al. Engineering a HER₂-CAR-NK Cell Secreting Soluble Programmed Cell Death Protein with Superior Antitumor Efficacy. *Int J Mol Sci*. 2023;24(7):6843. doi: 10.3390/ijms24076843
3. Mehta RS, Rezvani K. Chimeric Antigen Receptor Expressing Natural Killer Cells for the Immunotherapy of Cancer. *Front Immunol*. 2018;9:283. doi: 10.3389/fimmu.2018.00283
4. Mehta RS, Randolph B, Daher M, Rezvani K. NK cell therapy for hematologic malignancies. *Int J Hematol*. 2018;107(3):262–70. doi: 10.1007/s12185-018-2407-5
5. Rebuffet L, Melsen JE, Escalière B, Basurto-Lozada D, Bhandoola A, Björkström NK, et al. High-dimensional single-cell analysis of human natural killer cell heterogeneity. *Nat Immunol*. 2024;25(8):1474–88. doi: 10.1038/s41590-024-01883-0
6. Rezaeifard S, Talei A, Shariat M, Erfani N. Tumor infiltrating NK cell (TINK) subsets and functional molecules in patients with breast cancer. *Mol Immunol*. 2021;136:161–7. doi: 10.1016/j.molimm.2021.03.003
7. André P, Denis C, Soulas C, Bourbon-Caillet C, Lopez J, Arnoux T, et al. Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells. *Cell*. 2018;175(7):1731–1743.e13. doi: 10.1016/j.cell.2018.10.014
8. Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, Söderström K, D'Andrea A, Ogg GS, et al. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature*. 1998;391(6669):795–9. doi: 10.1038/35869
9. Tomasec P, Braud VM, Rickards C, Powell MB, McSharry BP, Gadola S, et al. Surface expression of HLA-E, an inhibitor of natural killer cells, enhanced by human cytomegalovirus gpUL40. *Science*. 2000;287(5455):1031. doi: 10.1126/science.287.5455.1031

10. Goodridge JP, Jacobs B, Saetersmoen ML, Clement D, Hammer Q, Clancy T, et al. Remodeling of secretory lysosomes during education tunes functional potential in NK cells. *Nat Commun.* 2019;10(1):514. doi: 10.1038/s41467-019-08384-x
11. Haroun-Izquierdo A, Vincenti M, Netskar H, van Ooijen H, Zhang B, Bendzick L, et al. Adaptive single-KIR+NKG2C+ NK cells expanded from select superdonors show potent missing-self reactivity and efficiently control HLA-mismatched acute myeloid leukemia. *J Immunother Cancer.* 2022;10(11):e005577. doi: 10.1136/jitc-2022-005577
12. Alekseeva NA, Boyko AA, Shevchenko MA, Grechikhina MV, Streltsova MA, Alekseeva LG, et al. Three-Dimensional Model Analysis Revealed Differential Cytotoxic Effects of the NK-92 Cell Line and Primary NK Cells on Breast and Ovarian Carcinoma Cell Lines Mediated by Variations in Receptor-Ligand Interactions and Soluble Factor Profiles. *Biomedicines.* 2024;12(10):2398. doi: 10.3390/biomedicines12102398
13. Bonanni V, Antonangeli F, Santoni A, Bernardini G. Targeting of CXCR3 improves anti-myeloma efficacy of adoptively transferred activated natural killer cells. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):290. doi: 10.1186/s40425-019-0751-5
14. He M, Ao X, Yang Y, Xu Y, Liu T, Ao L, et al. Construction of self-driving anti-αFR CAR-engineered NK cells based on IFN-γ and TNF-α synergistically induced high expression of CXCL10. *Neoplasia.* 2024;58:101065. doi: 10.1016/j.neo.2024.101065
15. Frazao A, Messaoudene M, Nunez N, Dulphy N, Roussin F, Sedlik C, Zitvogel L, Piaggio E, Toubert A, Caignard A. CD16⁺NKG2A^{high} Natural Killer Cells Infiltrate Breast Cancer-Draining Lymph Nodes. *Cancer Immunol Res.* 2019;7(2):208–218. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0085
16. Uhrberg M, Valiante NM, Shum BP, Shilling HG, Lienert-Weidenbach K, Corliss B, et al. Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity.* 1997;7(6):753–63. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80394-5
17. Velardi A. Role of KIRs and KIR ligands in hematopoietic transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2008;20(5):581–7. doi: 10.1016/j.coi.2008.07.004
18. de Dios O, Ramírez-González MA, Gómez-Soria I, Segura-Collar B, Manosalva J, Megías D, et al. NKG₂C/ KLRC2 tumor cell expression enhances immunotherapeutic efficacy against glioblastoma. *J Immunother Cancer.* 2024;12(8):e009210. doi: 10.1136/jitc-2024-009210
19. Sun Y, Rodgers Furones A, Gultekin O, Khare S, Neo SY, Shi W, et al. Adaptive NK Cells Exhibit Tumor-Specific Immune Memory and Cytotoxicity in Ovarian Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2025;13(7):1080–97. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-24-0852
20. O'Sullivan TE, Johnson LR, Kang HH, Sun JC. BNIP₃- and BNIP₃L-Mediated Mitophagy Promotes the Generation of Natural Killer Cell Memory. *Immunity.* 2015;43(2):331–42. doi: 10.1016/j.immuni.2015.07.012
21. Rölle A, Meyer M, Calderazzo S, Jäger D, Momburg F. Distinct HLA-E Peptide Complexes Modify Antibody-Driven Effector Functions of Adaptive NK Cells. *Cell Rep.* 2018;24(8):1967–1976.e4. doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.069
22. Hammer Q, Rückert T, Borst EM, Dunst J, Haubner A, Durek P, et al. Peptide-specific recognition of human cytomegalovirus strains controls adaptive natural killer cells. *Nat Immunol.* 2018;19(5):453–463. doi: 10.1038/s41590-018-0082-6
23. Phan MTT, Kim J, Koh SK, Lim Y, Yu H, Lee M, и др. Selective Expansion of NKG₂C⁺ Adaptive NK Cells Using K₅₆₂ Cells Expressing HLA-E. *Int J Mol Sci.* 2022;23(16):9426. doi: 10.3390/ijms23169426

Сведения об авторах

Алексеева Надежда Алексеевна – аспирант, младший научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН ГНЦ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; e-mail: nadalex@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6221-5478>

Стрельцова Мария Алексеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН ГНЦ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; e-mail: tardes999@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5403-0753>

Коваленко Елена Ивановна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН ГНЦ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; e-mail: lenkova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8119-8247>

Information about the authors

Nadezhda A. Alekseeva – postgraduate student, junior researcher of the Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science; e-mail: nadalex@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6221-5478>

Maria A. Streltsova – Cand. Sc. (Biol.), researcher of the Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science; e-mail: tardes999@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5403-0753>

Elena I. Kovalenko – Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science; e-mail: lenkova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8119-8247>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

КЛЕТКИ ЛЕЙДИГА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ СЕКРЕТОМА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ДОКСОРУБИЦИНОМ

**Мнацаканян А.О.¹,
Басалова Н.А.¹,
Сагарадзе Г.Д.¹,
Liang Yingying^{1,2},
Нагибин Н.В.¹,
Попов В.С.¹,
Ефименко А.Ю.¹**

¹ Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119234, г. Москва, Ломоносовский проспект, 27, к.10, Россия)

² MSU-BIT University (Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне) (518172, 1 International University Park Road, Shenzhen, Guangdong Province, China)

Автор, ответственный за переписку:
Мнацаканян Анна Олеговна
e-mail: monakova-anya@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Ранее на животных моделях было показано, что секретом мезенхимных стромальных клеток (МСК) может восстанавливаться ниша сперматогонияльной стволовой клетки. На модели токсического повреждения сперматогенеза доксорубицином у мышей показано, что биораспределение секрета МСК при введении под белочную оболочку яичка происходит преимущественно в интерстиции, большую часть которого составляют клетки Лейдига. Однако влияние секрета МСК на клетки Лейдига при повреждении доксорубицином остаётся неизученным.

Цель исследования. Изучить влияние секрета МСК на клетки Лейдига при повреждении доксорубицином *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Повреждение сперматогенеза моделировали на мышах C57Bl/6, которым внутривентриально вводили доксорубицин (суммарно 10 мг/кг). Исследовали 3 группы животных: интактные, с повреждением, с введением секрета МСК. Для исследований *in vitro* к культуре клеток Лейдига добавляли доксорубицин в диапазоне концентраций 0,15–1,5 мкМ и секретом МСК.

Результаты. В результате повреждения доксорубицином *in vivo* масса семенников мышей уменьшается и не восстанавливается после инъекции секрета МСК. Площадь интерстиция при повреждении возрастает, введение секрета МСК приводит к тенденции снижения площади (нормализации) интерстиция. При этом количество клеток Лейдига значительно не изменяется. В исследованиях *in vitro* воздействие на клетки Лейдига доксорубицином вызывает дозозависимую гибель клеток. Добавление секрета МСК к клеткам Лейдига при повреждении способствует увеличению выживаемости клеток и секреции тестостерона, в результате чего общее содержание тестостерона в среде клеток Лейдига возрастает.

Заключение. Секретом МСК может воздействовать на клетки Лейдига при повреждении доксорубицином, увеличивая их количество и секреторную активность, что может способствовать восстановлению интерстиция. Представленные данные обосновывают дальнейшее изучение секрета МСК в качестве перспективного терапевтического средства для восстановления функции семенников.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки, секретом, клетки Лейдига, доксорубицин, ниша, сперматогенез

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 20.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Мнацаканян А.О., Басалова Н.А., Сагарадзе Г.Д., Liang Yingying, Нагибин Н.В., Попов В.С., Ефименко А.Ю. Клетки Лейдига как потенциальная мишень препарата на основе секрета мезенхимных стромальных клеток при токсическом повреждении сперматогенеза доксорубицином. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 29-37. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.4

LEYDIG CELLS AS A POTENTIAL TARGET OF A DRUG BASED ON MESENCHYMAL STROMAL CELL SECRETOME IN DOXORUBICIN INDUCED TOXIC DAMAGE OF SPERMATOGENESIS

Mnatsakanyan A.O.¹,
Basalova N.A.¹,
Sagaradze G.D.¹,
Liang Yingying^{1, 2},
Nagibin N.V.¹,
Popov V.S.¹,
Efimenko A.Yu.¹

¹ Medical Research and Educational
Institute, Lomonosov Moscow State
University (Lomonosovskiy av. 27/10,
Moscow 119234, Russian Federation)

² MSU-BIT University (1 International
University Park Road, Guangdong
Province, Shenzhen 518172, China)

Corresponding author:

Anna O. Mnatsakanyan

e-mail: monakova-anyan@mail.ru

ABSTRACT

Background. Previously, it has been shown in animal models that the secretome of mesenchymal stromal cells (MSCs) can restore the spermatogonial stem cell niche. In a mouse model of doxorubicin-induced toxic damage to spermatogenesis, it was shown that the biodistribution of MSC secretome following administration under the tunica albuginea of the testis occurs mainly in the interstitium, which consists predominantly of Leydig cells. However, the effect of MSC secretome on Leydig cells under doxorubicin-induced damage remains unexplored.

Aim. To study the effect of MSC secretome on Leydig cells under doxorubicin-induced damage in vitro and in vivo.

Materials and Methods. Spermatogenesis damage was modeled in C57Bl/6 mice, which received intraperitoneal injections of doxorubicin at a total dose of 10 mg/kg. Three groups of animals were studied: intact, damaged, and MSC secretome-treated. For in vitro studies, doxorubicin (at concentrations ranging from 0.15 to 1.5 μ M) and MSC secretome were added to Leydig cell cultures.

Results. Following doxorubicin-induced damage in vivo, mouse testis weight decreased and did not recover after MSC secretome injection. The interstitial area increased upon damage, while administration of MSC secretome tended to reduce (normalize) the interstitial area. At the same time, the number of Leydig cells did not change significantly. In in vitro studies, exposure of Leydig cells to doxorubicin induced dose-dependent cell death. Addition of MSC secretome to Leydig cells under damage conditions enhanced cell survival and testosterone secretion, resulting in an increase in total testosterone content in the Leydig cell culture medium.

Conclusion. MSC secretome can act on Leydig cells under doxorubicin-induced damage by increasing their number and secretory activity, which may contribute to interstitial recovery. These findings provide a rationale for further investigation of MSC secretome as a promising therapeutic agent for restoring testicular function.

Keywords: mesenchymal stromal cells, secretome, Leydig cells, doxorubicin, niche, spermatogenesis

Received: 31.03.2026

Accepted: 20.08.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Mnatsakanyan A.O., Basalova N.A., Sagaradze G.D., Liang Yingying, Nagibin N.V., Popov V.S., Efimenko A.Yu. Leydig cells as a potential target of a drug based on mesenchymal stromal cell secretome in doxorubicin induced toxic damage of spermatogenesis. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 29-37. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.4

ВВЕДЕНИЕ

Развитие многих тяжёлых заболеваний может быть связано с нарушением ниши стволовой клетки, которая представляет собой комплекс поддерживающих клеток, внеклеточного матрикса, паракринных факторов, физико-химических параметров [1, 2]. В частности, одной из причин мужского бесплодия может быть повреждение ниши сперматогониальной стволовой клетки (ССК) [3, 4]. В нише ССК можно выделить две основные структурные единицы: семенные канальцы и интерстициальное пространство между канальцами. Основными клеточными компонентами семенных канальцев, входящими в состав поддерживающих сперматогенез клеток ниши ССК, являются перитубулярные миоидные клетки и клетки Сертоли. Окружающее семенные канальцы интерстициальное пространство включает, главным образом, клетки Лейдига (около 80 %), а также мезенхимные и иммунные клетки [5]. Терапевтический агент, направленный на восстановление ниши стволовой клетки, должен действовать на разные компоненты ниши, тем самым восстанавливая её целиком. Таким действием, согласно ранее опубликованным данным, могут обладать мезенхимные стромальные клетки (МСК) за счёт секреции комплекса паракринных биологически активных факторов – секретомы [6, 7]. В составе секретомы МСК можно выделить сотни регуляторных молекул, включая цитокины (IL-6, IL-8 и т.д.), хемокины (CCL2; CXCL-3, CXCL-5, CXCL-10 и др.), факторы роста (VEGF, BDNF, GDNF, FGF, PEGF и др.), белки внеклеточного матрикса (фибронектин, коллагены, ламинины, фибулины, аргин, бигликан и др.), другие регуляторные белки (ингибин А, тромбоспондин-1, MMP-2, MMP-9, програнулин, UPAR, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6, IGFBP-7, Т-кадгерин, PAI-1, PAI-2 и др.) [8]. Важным компонентом секретомы МСК являются регуляторные РНК (микроРНК-21, микроРНК-29с и др.), которые переносятся преимущественно в составе внеклеточных везикул [9, 10].

Ранее было показано, что введение секретомы МСК человека под белочную оболочку яичка на модели токсического повреждения сперматогенеза у мышей доксорубицином способствует восстановлению ниши ССК и, как следствие, сперматогенеза. В результате изучения биораспределения показано, что аналог белковой фракции секретомы МСК рекомбинантный зелёный флуоресцирующий белок (rGFP) при введении под белочную оболочку яичка распределяется преимущественно в интерстиции, большую часть которого составляют клетки Лейдига. Был сделан вывод о том, что клетки Лейдига могут быть первичной мишенью препарата на основе секретомы МСК [11]. Однако, как влияет секретомы МСК на клетки Лейдига при повреждении доксорубицином *in vivo* и *in vitro* до сих пор остаётся неизвестным.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние секретомы МСК на клетки Лейдига при повреждении доксорубицином *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение секретомы мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека

МСК от различных доноров были получены из биобанка Центра регенеративной медицины МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова. Для получения секретомы МСК жировой ткани человека клетки пятого пассажа, достигшие примерно 80 % конфлюэнтности, трижды промывали раствором Хэнкса. Затем раствор заменяли на среду ДМЕМ с низким содержанием глюкозы и инкубировали в течение 7 суток. После этого кондиционированную среду, включающую компоненты секретомы МСК, собирали и очищали от клеточных примесей посредством поэтапного центрифугирования: сначала при 300 g в течение 10 мин при +4°C, затем при 2000 g в течение 30 мин. Для концентрирования секретомы МСК использовали фильтры-концентраторы «JetSpin» (размер пор 10 кДа, Jet Bio-Filtration). Полученный концентрированный раствор дозировали во флаконы по 0,5 мл с последующей лиофилизацией и хранением при температуре +2...+8 °C.

Животные

Исследование проводили на зрелых самцах мышей линии C57Bl/6 в возрасте 3,5–4,0 месяцев с массой тела 15–23 г. Животные были получены из питомника ФИБХ РАН (г. Пущино). Эксперименты выполняли в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU и были одобрены биоэтическим комитетом МГУ имени М.В. Ломоносова (протокол № 90-ж от 17 мая 2019 года). Доксорубицин вводили внутривентриально в дозе 1 мг/кг с периодичностью раз в два дня. Суммарная доза введённого доксорубицина составила 10 мг/кг.

Готовую лекарственную форму секретомы МСК для введения животным получали путём смешивания 1 части по объёму восстановленного из лиофилизата раствора секретомы МСК и 4 частей по объёму свиного коллагена Аппликолл (ООО «МакМеди») для получения необходимой дозы для введения. Готовую лекарственную форму вводили однократно под белочную оболочку яичка сразу после токсического повреждения (на 21 день после начала манипуляций с животными). Таким образом, было сформировано 3 группы: «интактные», «повреждение», «секретомы МСК».

Гистологический анализ семенников

Через три месяца после начала эксперимента животных подвергали эвтаназии с использованием диоксида углерода (CO₂), а на конечном этапе выполняли цервикальную дислокацию. Во время эвтаназии у самцов забирали семенники, материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина в течение 24 часов. После чего по стандартной методике заливали в парафин и готовили гистологические срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Для иммуногистохимического анализа из парафиновых блоков семенников готовили поперечные срезы толщиной 1 мкм, депарафинизировали их в ксилоле и спиртовой батарее с постепенно убывающей концентрацией спирта до воды, после чего проводили

демаскировку антигенов на водяной бане в 0,1 М цитратном буфере в течение 20 минут при 98°C. В исследовании использовали антитела и красители: маркер ДНК — DAPI (D9542, Sigma); маркер клеток Лейдига — CYP11A1 (DF4697, Affinity); контрольные неспецифические антитела IgG (AB-105-C, R&D). Затем добавляли вторые антитела с флуоресцентной меткой Alexa 488 (A11034, Invitrogen).

Микроскопическое исследование выполняли с использованием микроскопа Leica DM600B, оснащённого камерой Leica DFC 420C (Leica Microsystems GmbH) и программным обеспечением LasX, выбирая репрезентативные поля зрения для получения микрофотографий. Обработку и количественный анализ изображений выполняли с использованием программного обеспечения LasX (Leica Microsystems GmbH) и Fiji.

Выделение фракции, обогащенной клетками Лейдига, из семенников грызунов

После эвтаназии у мыши половозрелого возраста забирали семенники и помещали в раствор Хэнкса с 5 % смесью антибиотиков (пенициллин-стрептомицин). В условиях стерильного ламинарного бокса снимали белочную оболочку и отделяли крупные сосуды. В чашке Петри промывали оставшиеся после снятия белочной оболочки семенные канальцы раствором Хэнкса с 5 % антибиотиком. Затем канальцы переносили в стерильную пробирку, добавляли среду ДМЕМ, содержащую 2,5 мг/мл трипсина и ДНКазу 10 мг/мл, и инкубировали при температуре 34–35°C в течение 4–10 мин, периодически помешивая. Добавляли среду, ингибирующую воздействие ферментов, – ДМЕМ + 10 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС), аккуратно перемешивали переворачиванием пробирки. После оседания канальцев жидкость над канальцами, содержащую клетки Лейдига, отбирали в новую пробирку. Повторяли пункт отмывки 5 раз. Полученную суспензию интерстициальных клеток (преимущественно клеток Лейдига) центрифугировали 300 g в течение 10 мин, сливали надосадочную жидкость и осадок пипетировали в среде ДМЕМ-Ф12 + 2%ФБС + 1x инсулин-трансферрин-селенита (ITS), фильтровали полученную суспензию через фильтр 100 мкм.

Модель для оценки специфической активности секрета МСК *in vitro* на клетках Лейдига

Базовая модель на интактных клетках Лейдига была запатентована (патент РФ «Тест-система для оценки стимуляции секреторной активности модельных клеток терапевтическими агентами, направленными на восстановление сперматогенеза» № 2825785 от 29 августа 2024 г.) Клетки Лейдига после выделения (день 0) рассаживали в лунки 48-луночного планшета в среде роста ДМЕМ-Ф12, 1x ITS и 2 % ФБС. На 2-й день после выделения (день 2) все лунки промывали 3 раза раствором Хэнкса и проводили смену среды на среду для культивирования или среду для культивирования, содержащую доксорубин в концентрациях 0,15; 0,5; 1; 1,5 мкМ. Затем на 3-й день клетки промывали 3 раза раствором Хэнкса и добавляли среду ДМЕМ с низкой концентрацией глюкозы (1 г/л) без фенолового красного

или секретом МСК. На 5-й день собирали среду с лунок каждой группы, центрифугировали с режимом 300 g в течение 10 мин для осаждения клеточного дебриса. Затем собирали супернатант и определяли в нём количество тестостерона методом иммуноферментного анализа (CAN-TE-250, DBC).

Иммуноцитохимический анализ

Клеточную культуру после удаления среды промывали раствором фосфатно-солевого буфера (ФСБ) и фиксировали 3,7 % раствором забуференного параформальдегида на ФСБ. Ядра окрашивали раствором DAPI (D9542, Sigma). Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DMi8, снабженного камерой Leica DFC 7000 T (Leica Microsystems GmbH), используя репрезентативные поля зрения для получения фотографий. Обработку и количественный анализ изображений выполняли с использованием программного обеспечения LasX (Leica Microsystems GmbH) и Fiji.

Статистический анализ

Для всех данных была применена описательная статистика: данные были проверены на соответствие закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка. В случае нормального распределения были рассчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего. В случае несоответствия данных закону нормального распределения были рассчитаны медиана и квартильный размах. Для оценки данных с признаками нормального распределения использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), а для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, – критерий Краскела – Уоллиса с последующим межгрупповым сравнением средних рангов.

Все статистические расчёты проводились с помощью программы Prism GraphPad (GraphPad Software, США), при этом различия считались значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При повреждении доксорубином масса семенников значительно снижается, введение секрета МСК не влияет на массу семенников (рис. 1).

При токсическом повреждении доксорубином увеличивается площадь интерстиция семенников. При введении секрета МСК под белочную оболочку яичка наблюдается тенденция к снижению (нормализации) площади интерстиция (рис. 2).

Большую часть интерстиция (около 80 %) занимают клетки Лейдига. Мы предположили, что увеличение площади интерстиция может быть связано с увеличением количества клеток Лейдига.

Абсолютное число клеток Лейдига на срез и плотность клеток Лейдига в ткани практически не изменяется при повреждении доксорубином (рис. 3).

Для исследования ответа клеток Лейдига на секрет МСК в модели повреждения доксорубином *in vitro* были выбраны следующие концентрации повреждающего агента 0,15; 0,5; 1,0; 1,5 мкМ.

Как видно из рисунка 4А, в отличие от результатов *in vivo*, при повреждении клеток Лейдига доксорубицином *in vitro* количество клеток дозозависимо снижается. При этом секретом МСК способствует увеличению числа клеток Лейдига при умеренном повреждении (до 1 мкМ доксорубицина), что согласуется с данными экспериментов *in vivo*. Кроме того, секретом МСК при сильном повреждении способствует увеличению количества тестостерона, секретируемого клетками Лейдига (рис. 4Б). Таким образом, при повреждении клеток Лейдига доксорубицином происходит дозозависимое снижение уровня тестостерона преимущественно за счёт уменьшения количества клеток. Повышение общего количества тестостерона при воздействии секрета МСК происходит, по-видимому, за счёт улучшения выживаемости клеток Лейдига и их способности секретировать тестостерон (рис. 4В).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что локальное введение секрета МСК является эффективным терапевтическим подходом для восстановления сперматогенеза, опосредованного воздействием на компоненты ниши

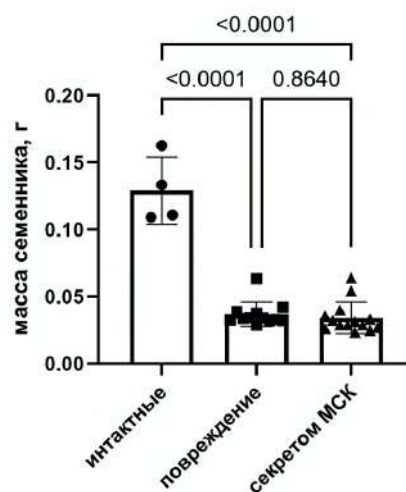


РИС. 1.

Масса семенников мышей снижается при повреждении сперматогенеза доксорубицином. Данные представлены как среднее и стандартное отклонение.

FIG. 1.

Testis weight decreased in mice after doxorubicin-induced spermatogenesis damage. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

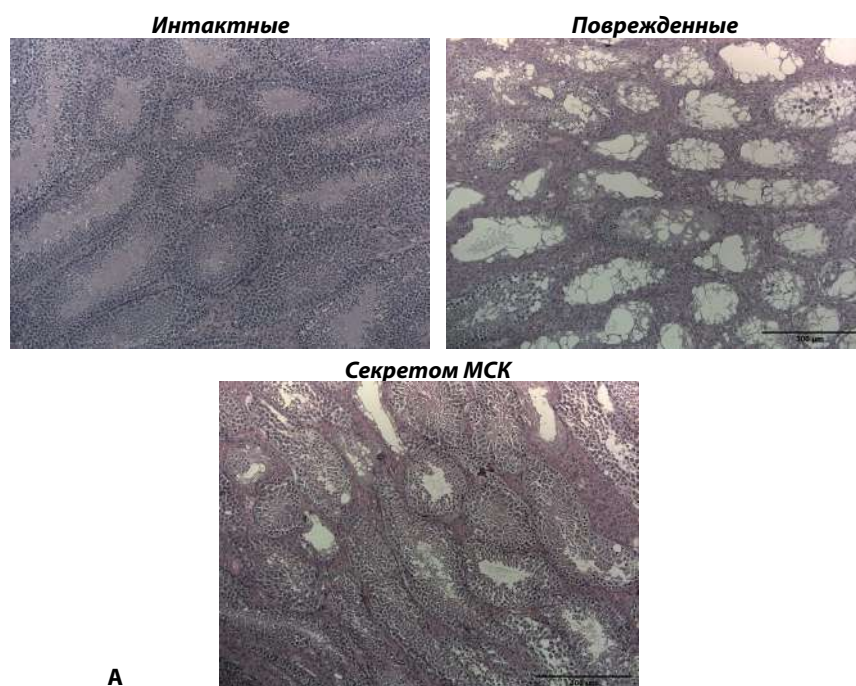


РИС. 2.

Показатели ответа интерстиция на повреждение сперматогенеза доксорубицином у мышей. **А** – гистологическая картина семенников интактных мышей, мышей из группы «повреждение» (повреждение доксорубицином) и мышей из группы «секретом МСК», окраска гематоксилином и эозином. Масштабная линейка отмечает 300 мкм. **Б** – площадь интерстиция на гистологических срезах яичек в пересчёте на одно животное после введения препарата на основе секрета МСК. Данные представлены как среднее и стандартное отклонение.

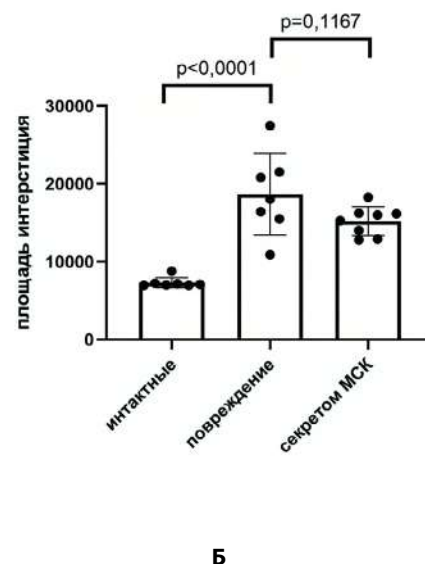


FIG. 2.

Indicators of the interstitial response to doxorubicin induced spermatogenesis damage in mice. **A** – histological analysis of intact mouse testes, testes from the “damage” group (doxorubicin induced damage), and testes from the “MSC secretome” group, stained with hematoxylin and eosin. Scale bar indicates 300 μ m. **B** – interstitial area on testicular histological sections per animal after administration of the MSC secretome based drug. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

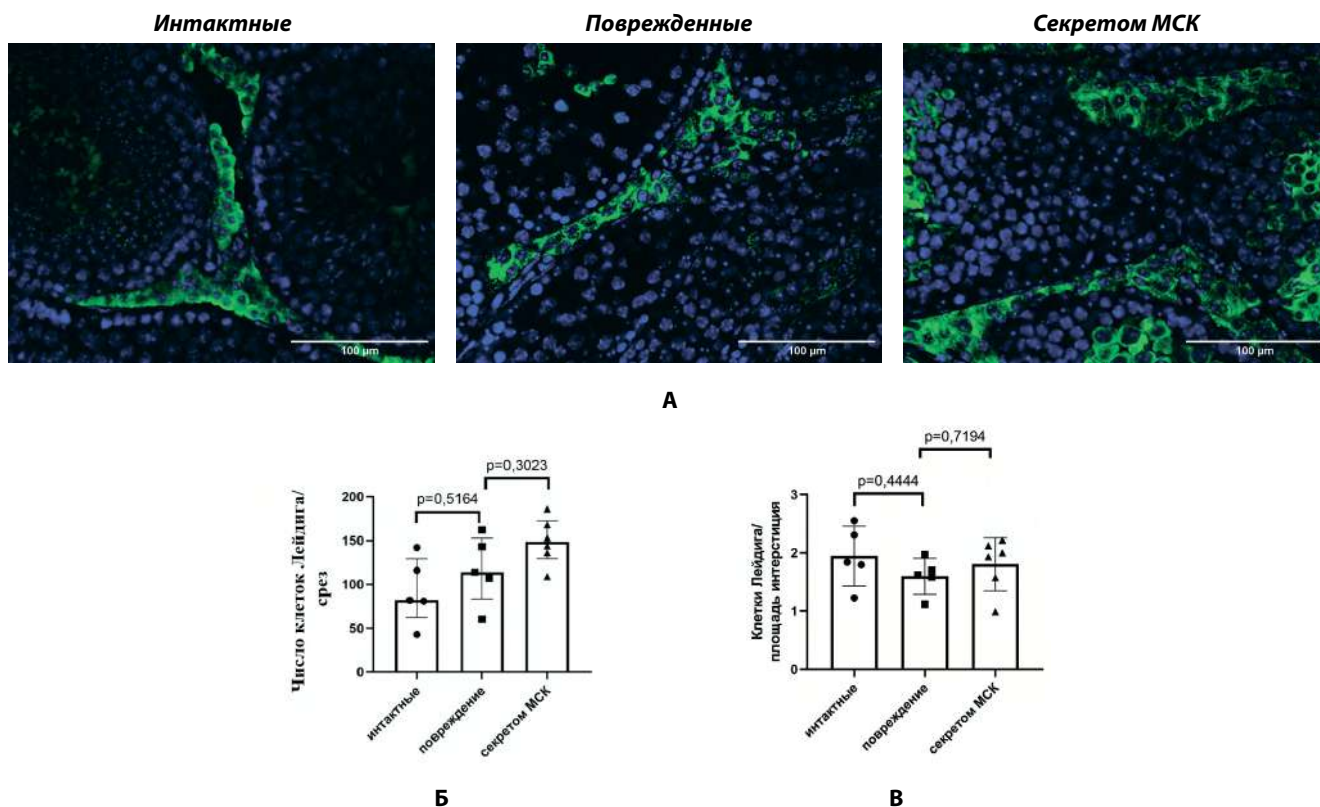


РИС. 3.

Оценка влияния препарата на основе секретома МСК на количество клеток Лейдига на модели токсического повреждения сперматогенеза у мышей. **А** – иммуногистохимический анализ экспрессии CYP11A1 в семенниках intactных мышей, мышей из группы «повреждение» (повреждение доксорубицином) и мышей из группы «секретом МСК». Зелёный псевдоцвет – окраска CYP11A1 (специфический маркер клеток Лейдига), синий псевдоцвет – окраска DAPI (маркер ядер). Масштабный отрезок отмечает 100 мкм. **Б** – количество CYP11A1+ клеток на срез. Результаты представлены как среднее и стандартное отклонение. **В** – количество CYP11A1+ клеток, нормированное на площадь интерстиция. Результаты представлены как среднее и стандартное отклонение.

FIG. 3.

Assessment of the effect of the MSC secretome based drug on Leydig cell numbers in a mouse model of toxic spermatogenesis damage. **A** – immunohistochemical analysis of CYP11A1 expression in the testes of intact mice, mice from the “damage” group (doxorubicin induced damage), and mice from the “MSC secretome” group. Green pseudocolor – CYP11A1 staining (specific marker of Leydig cells); blue pseudocolor – DAPI staining (nuclear marker). Scale bar indicates 100 μ m. **B** – number of CYP11A1+ cells per section. Results are presented as mean $\pm$ standard deviation. **C** – number of CYP11A1+ cells, normalized as mean $\pm$ standard deviation.

ССК [11, 12]. Также было обнаружено, что при введении под белочную оболочку яичка секретом МСК распределяется преимущественно в интерстиции. На основании этого был сделан вывод, что первичная мишень секретома МСК может находиться в интерстициальном пространстве [11]. В настоящем исследовании нами было показано, что при повреждении доксорубицином масса семенников снижается, при этом площадь интерстиция увеличивается, что согласуется с исследованием других авторов. Авторы показали, что разрастание интерстиция является, по-видимому, компенсаторным, поскольку происходит уменьшение площади семенных канальцев [13]. При введении секретома МСК масса семенников не изменяется, однако наблюдается тенденция к уменьшению (нормализации) площади интерстиция, что, возможно, связано с восстановлением единичных семенных канальцев. В состав интерстиция входят главным образом эндокринные клетки

(клетки Лейдига), клетки иммунной системы (макрофаги, Т-клетки, дендритные клетки и др.) и стромальные клетки (фибробласты, МСК и др.) [6, 14]. Как показано в результатах, количество клеток Лейдига в ткани при повреждении практически не меняется. Однако ранее нами было показано, что при повреждении увеличивается число CD163+ и CD206+ M2 макрофагов и CD90+ клеток резидентных МСК, которые могут вносить существенный вклад в изменение площади интерстиция [15, 16]. Введение секретома МСК практически не влияет на количество этих клеток. Интересно, что в модели физиологического повреждения сперматогенеза крипторхизма у крыс наблюдается обратный эффект – при повреждении количество клеток Лейдига существенно увеличивается, что, вероятно, является компенсаторной реакцией, а введение секретома МСК снижает (нормализует) число клеток Лейдига [17]. Две модели демонстрируют разный уровень повреждения

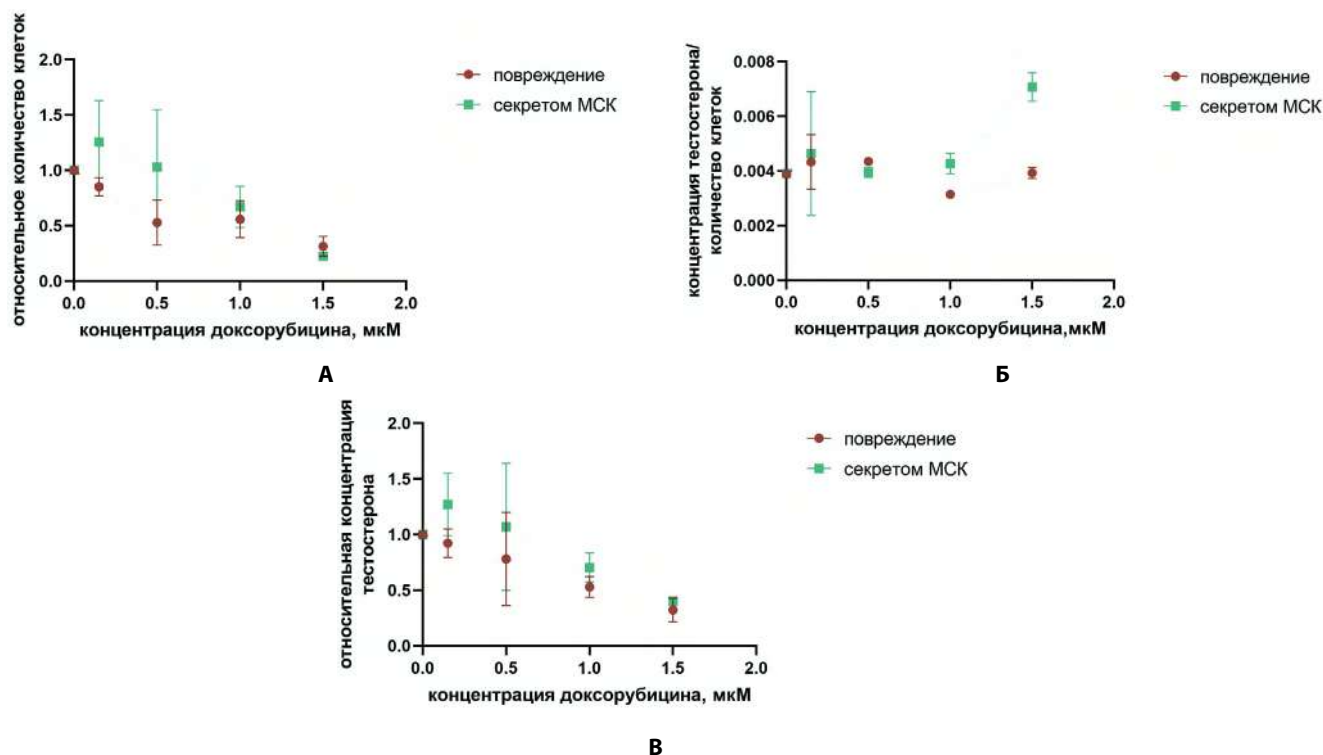


РИС. 4.

Параметры токсического повреждения доксорубицином клеток Лейдига и действия секрета МСК *in vitro*. **А** – зависимость относительного количества клеток Лейдига от степени повреждения доксорубицином и воздействия секрета МСК (значения контроля приняты за единицу). **Б** – зависимость концентрации тестостерона, нормированного на количество клеток, от степени повреждения доксорубицином и воздействия секрета МСК. **В** – зависимость относительной концентрации тестостерона в среде клеток Лейдига от степени повреждения доксорубицином и воздействия секрета МСК (значения контроля приняты за единицу). Данные представлены как медиана $\pm$ SEM, $n = 2$.

FIG. 4.

Parameters of doxorubicin induced toxic damage to Leydig cells and the effect of MSC secretome *in vitro*. **A** – dependence of the relative number of Leydig on the degree of doxorubicin induced damage and exposure to MSC secretome (control values are taken as unity). **B** – dependence of testosterone concentration normalized to cell number on the degree of doxorubicin induced damage and exposure to MSC secretome. **B** – dependence of the relative testosterone concentration in the Leydig cell culture medium on the degree of doxorubicin induced damage and exposure to MSC secretome (control values are taken as unity). Data are presented as median $\pm$ SEM, $n = 2$.

и восстановления интерстиция, что может быть связано с природой повреждения и, как следствие, разным клеточным ответом.

В экспериментах *in vitro* было показано повреждающее действие доксорубина на клетки Лейдига. При добавлении доксорубина в концентрациях 0,15; 0,5; 1,0; 1,5 мкМ наблюдали дозозависимое снижение числа клеток Лейдига. Основные механизмы цитотоксичности доксорубина хорошо изучены: препарат интеркалирует в ДНК и подавляет активность топоизомеразы II, тем самым ингибируя матричные процессы. Дополнительный вклад вносит развитие окислительного стресса, что усиливает токсическое действие доксорубина [18]. Поскольку транскрипция ДНК наиболее активна в клетках с высоким потенциалом к делению, в большей степени токсическому действию доксорубина подвергаются стволовые клетки и клетки их дифференцировки [19, 20]. В меньшей мере известно про повреждающее действие на клетки ниши стволовых клеток. Механизмы повреждающего действия доксорубина на клетки Лейдига практически не изучены. В некоторых исследованиях показана способность доксорубина

изменять профиль микроРНК в клетках Лейдига, что может привести к ферроптозу [18]. Мы показали, что секретом МСК способствует выживанию клеток Лейдига *in vitro* после токсического воздействия доксорубина. Одним из основных антиапоптотических факторов в составе секрета МСК, способствующих выживаемости клеток Лейдига, может являться IGF-1 [21]. Кроме того, секретом МСК приводит к увеличению секреторной активности клеток Лейдига при повреждении. Это сходится с данными, которые были получены нами ранее – добавление секрета МСК к интактным клеткам Лейдига стимулирует секрецию тестостерона по сравнению с отрицательным контролем, что легло в основу модели оценки специфической активности препарата на основе секрета МСК. В увеличении секреции тестостерона важную роль могут играть компоненты секрета МСК – фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и микроРНК-21 [11, 22].

Полученные результаты демонстрируют важную роль ниши для поддержания клеток. При повреждении доксорубицином *in vitro* критически дозозависимо снижается число клеток Лейдига, а при токсическом

воздействии *in vivo* количество клеток Лейдига практически не изменяется. Данный эффект может быть обусловлен влиянием клеток ниши ССК, в том числе резидентных МСК, что требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, секретом МСК может комплексно воздействовать на клетки Лейдига при повреждении, оказывая влияние на их выживаемость и секреторную активность, что может способствовать восстановлению интерстиция семенников. Представленные данные подтверждают перспективность секретома МСК как эффективного терапевтического средства для восстановления ниши ССК.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-75-30005, <https://rscf.ru/project/25-75-30005/>.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hoggatt J, Kfoury Y, Scadden DT. Hematopoietic Stem Cell Niche in Health and Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2016; 11: 555–581. doi: 10.1146/annurev-pathol-012615-044414
- Mannino G, Russo C, Maugeri G, et al. Adult stem cell niches for tissue homeostasis. *Journal of cellular physiology*. 2022; 237(1): 239–257. doi: 10.1002/jcp.30562
- Sagaradze G, Monakova A, Basalova N, Popov V, Balabanyan V, Efimenko A. Regenerative medicine for male infertility: a focus on stem cell niche injury models. *Biomedical journal*. 2022; 45(4): 607–614. doi: 10.1016/j.bj.2022.01.015
- de Rooij DG. The Spermatogonial Stem Cell Niche in Mammals. *Elsevier Inc*. 2015; 99–121. doi: 10.1016/b978-0-12-417047-6.00004-1
- Diao L, Turek PJ, John CM, Fang F, Reijo Pera RA. Roles of Spermatogonial Stem Cells in Spermatogenesis and Fertility Restoration. *Frontiers in Endocrinology*. 2022; 13: 895528. doi: 10.3389/fendo.2022.895528
- Bari E, Ferrarotti I, Torre ML, Corsico AG, Perteghella S. Mesenchymal stem/stromal cell secretome for lung regeneration: The long way through “pharmaceuticalization” for the best formulation. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*. 2019; 309: 11–24. doi: 10.1016/j.jconrel.2019.07.022
- Ghasemi M, Roshandel E, Mohammadian M, Farhadihosseinabadi B, Akbarzadehlaleh P, Shamsasenjan K. Mesenchymal stromal cell-derived secretome-based therapy for neurodegenerative diseases: overview of clinical trials. *Stem cell research and therapy*. 2023; 14(1): 122. doi: 10.1186/s13287-023-03264-0
- Kalinina N, Kharlampieva D, Loguinova M, Butenko I, Pobeguts O, Efimenko A, et al. Characterization of secretomes provides evidence for adipose-derived mesenchymal stromal cells subtypes. *Stem Cell Res Ther*. 2015; 6: 221. doi: 10.1186/s13287-015-0209-8
- Doyle LM, Wang MZ. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*. 2019; 8(7): 727. doi: 10.3390/cells8070727
- Basalova N, Sagaradze G, Arbatskiy M, Evtushenko E, Kulebyakin K, Grigorieva O, et al. Secretome of Mesenchymal Stromal Cells Prevents Myofibroblasts Differentiation by Transferring Fibrosis-Associated microRNAs within Extracellular Vesicles. *Cells*. 2020; 9(5): 1272. doi: 10.3390/cells9051272
- Monakova A, Sagaradze G, Basalova N, Popov V, Balabanyan V, Efimenko A. Novel Potency Assay for MSC Secretome-Based Treatment of Idiopathic Male Infertility Employed Leydig Cells and Revealed Vascular Endothelial Growth Factor as a Promising Potency Marker. *International journal of molecular sciences*. 2022; 23(16): 9414. doi: 10.3390/ijms23169414
- Sagaradze G, Basalova N, Kirpatovsky V, et al. A magic kick for regeneration: Role of mesenchymal stromal cell secretome in spermatogonial stem cell niche recovery. *Stem Cell Research and Therapy*. 2019; 10(1): 1–10. doi: 10.1186/s13287-019-1479-3
- Yang CC, Chen YT, Chen CH, Chiang JY, Zhen YY, Yip HK. Assessment of doxorubicin-induced mouse testicular damage by the novel second-harmonic generation microscopy. *Am J Transl Res*. 2017; 9(12): 5275–5288.
- Chen Q, Deng T, Han D. Testicular immunoregulation and spermatogenesis. *Seminars in cell and developmental biology*. 2016; 59: 157–165. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.01.019
- Monakova AO, Basalova NA, Balabanyan VYu, et al. The Role of Macrophages in Implementing the Effects of Secretome of Mesenchymal Stromal Cells in the Spermatogonial Stem Cell Niche. *Sovrem Tehnologii Med*. 2025; 17(2): 37–45. doi: 10.17691/stm2025.17.2.04
- Монакова А.О., Басалова Н.А., Попов В.С., Мангушева В.А., Балабаньян В.Ю., Ефименко А.Ю. Тканеспецифичность мезенхимных стромальных клеток в регуляции ниши сперматогонияльных стволовых клеток. *Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине* [электронный ресурс]. 2024: 667–668. [Monakova AO, Basalova NA, Popov VS, Manguшева VA, Balabanyan VYu, Efimenko AYU. Tissue specificity of mesenchymal stromal cells in the regulation of the spermatogonial stem cell niche. *Proceedings of the VI National Congress on Regenerative Medicine* [electronic resource]. 2024: 667–668. (In Russ.)]. doi: 10.17816/morph.konf2024
- Sagaradze GD, Basalova NA, Kirpatovsky VI, et al. Application of rat cryptorchidism model for the evaluation of mesenchymal stromal cell secretome regenerative potential. *Biomedicine and pharmacotherapy*. 2019; 109: 1428–1436. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.174
- Ajani EO, Akhigbe TM, Oyedokun PA, Adegbo- la CA, Adeyemi DH, Akhigbe RE. Ferroptotic- and non-fer-

roptotic mechanisms associated with doxorubicin-induced male reproductive dysfunction. *Toxicology Reports*. 2025; 14: 102064. doi: 10.1016/j.toxrep.2025.102064

19. Sheahan BJ, Freeman AN, Keeley TM, Samuelson LC, Roper J, Hasapis S, et al. Epithelial Regeneration After Doxorubicin Arises Primarily From Early Progeny of Active Intestinal Stem Cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021; 12(1): 119–140. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.01.015

20. Hou M, Chrysis D, Nurmio M, Parvinen M, Eksborg S, Söder O, et al. Doxorubicin induces apoptosis in germ line stem cells in the immature rat testis and amifostine cannot protect against this cytotoxicity. *Cancer Res*. 2005; 65(21): 9999–10005. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2004

21. Colón E, Zaman F, Axelson M, et al. Insulin-Like Growth Factor-I Is an Important Antiapoptotic Factor

for Rat Leydig Cells during Postnatal Development. *Endocrinology*. 2007; 148(1): 128–139. doi: 10.1210/en.2006-0835

22. Лазарев Р.Е., Монакова А.О., Басалова Н.А., Попов В.С., Ефименко А.Ю. МикроРНК-21 опосредует способность мезенхимных стромальных клеток паракринно стимулировать продукцию тестостерона клетками Лейдига. *Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине* [электронный ресурс]. 2024: 548–549. [Lazarev RE, Monakova AO, Basalova NA, Popov VS, Efimenko AYU. *MicroRNA-21 mediates the ability of mesenchymal stromal cells to paracrinally stimulate testosterone production by Leydig cells*. Proceedings of the VI National Congress on Regenerative Medicine [electronic resource]. 2024: 548–549. (In Russ.). doi: 10.17816/morph.konf2024

Сведения об авторах

Мнацаканян Анна Олеговна – младший научный сотрудник, Центр регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-mail: monakova-anya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7123-6374>

Басалова Наталия Андреевна – кандидат биологических наук, Центр регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-mail: natalia_ba@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2597-8879>

Сагарадзе Георгий Дмитриевич – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник, Центр регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-mail: georgysagaradze@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2551-5118>

Liang Yingying – аспирант, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; аспирант MSU-BIT University (Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне); e-mail: bella.lyy@qq.com, <https://orcid.org/0009-0006-1864-6557>

Нагибин Николай Викторович – студент, Факультет фундаментальной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-mail: nnv2006nik@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-4274-8445>

Попов Владимир Сергеевич – кандидат биологических наук, заведующий межфакультетской научно-исследовательской лабораторией трансляционной медицины, Факультет фундаментальной медицины; ведущий научный сотрудник, Центр регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-mail: galiantus@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5039-7152>

Ефименко Анастасия Юрьевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор РАН, заведующая лабораторией репарации и регенерации тканей, Центр регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-mail: efimenkoay@my.msu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0696-1369>

Information about the authors

Anna O. Mnatsakanyan – junior research officer at the Centre for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University; e-mail: monakova-anya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7123-6374>

Nataliya A. Basalova – Cand. Sc. (Biol.), junior research officer at the Centre for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University; e-mail: natalia_ba@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2597-8879>

Georgy D. Sagaradze – Cand. Sc. (Biol.), junior research officer at the Centre for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University; e-mail: georgysagaradze@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2551-5118>

Liang Yingying – PhD student, Lomonosov Moscow State University; PhD student, MSU-BIT University; e-mail: bella.lyy@qq.com, <https://orcid.org/0009-0006-1864-6557>

Nikolai V. Nagibin – student of the Faculty of Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University; e-mail: nnv2006nik@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-4274-8445>

Vladimir S. Popov – Cand. Sc. (Biol.), head of Interfaculty Research Laboratory of Translational Medicine Faculty of Medicine, leading research officer at the Centre for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University; e-mail: galiantus@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5039-7152>

Anastasia Yu. Efimenko – Dr. Sc. (Med.), associate professor, professor of the RAS, head of the Laboratory of Tissue Repair and Regeneration, Centre for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University; e-mail: efimenkoay@my.msu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0696-1369>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

КОРРЕКТИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА И МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА ПОКАЗАТЕЛИ МИОКАРДИАЛЬНОЙ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В ПРЕДУПРЕЖДЕНИИ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

**Дерюгина А.В.¹,
Пичугин В.В.^{1, 2, 3},
Богуш А.В.³,
Полозова А.В.¹,
Князева Е.А.¹,
Таранов Е.В.³,
Жиляев С.А.^{2, 3},
Пахомов И.А.³,
Таламанова М.Н.¹,
Данилова Д.А.¹,
Бричкин Ю.Д.³**

¹ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, Россия)

² ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Россия)

³ ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – Специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева» (603950, Нижний Новгород, ул. Ванеева, 209, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Князева Екатерина

Александровна

e-mail: knyazeva.kt@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Кардиохирургические вмешательства и искусственное кровообращение (ИК) вызывают ишемически-реперфузионное повреждение, ведущее к эндотелиальной дисфункции, системному воспалению и, в ряде случаев к полиорганной недостаточности (ПОН), ухудшающей прогноз.

Цель. Изучить влияние оксида азота (NO) и молекулярного водорода (H₂) на эндотелиальную дисфункцию, сократимость миокарда в ходе операции и послеоперационную полиорганную недостаточность.

Материалы и методы. В исследование включены 123 пациента, рандомизированных на 4 группы: 1-я (n = 30) – контроль; 2-я (n = 33) – изолированная подача NO (40 ppm) в контур ИК; 3-я (n = 30) – изолированная подача H₂ (2 об%) в контур ИК; 4-я (n = 30) – комбинированная подача NO (40 ppm) и H₂ (2 об%) в контур ИК. В процессе операции исследованы функциональные показатели сердца методом трансэзофагеальной эхокардиографии, состояние эндотелиоцитов по анализу циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК); после операции – биохимические показатели крови, клинические исходы.

Результаты. Действие NO и H₂ улучшало сократительную функцию миокарда, снижало рост активности АСТ, АЛТ, уменьшало содержание мочевины по сравнению с контролем и сохраняло билирубин (при сочетанном действии газов) и креатинин в пределах исходных значений, что указывает на полиорганный протективный эффект. На фоне действия NO и H₂ отмечено более выраженное снижение ЦЭК, ассоциированное с меньшей частотой послеоперационных осложнений и ПОН. Сочетанное применение NO и H₂ вызывало полиорганный протективный эффект, превосходящий действие каждого газа.

Заключение. Экстракорпоральное применение NO и H₂ является эффективной стратегией коррекции миокардиальной и эндотелиальной дисфункции, что позволяет предотвратить развитие полиорганной недостаточности у кардиохирургических больных.

Ключевые слова: оксида азота, молекулярный водород, показатели миокардиальной и эндотелиальной дисфункции, полиорганная недостаточность, кардиохирургические больные

Статья поступила: 13.03.2026

Статья принята: 25.09.2026

Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Дерюгина А.В., Пичугин В.В., Богуш А.В., Полозова А.В., Князева Е.А., Таранов Е.В., Жиляев С.А., Пахомов И.А., Таламанова М.Н., Данилова Д.А., Бричкин Ю.Д. Корректирующее действие оксида азота и молекулярного водорода на показатели миокардиальной и эндотелиальной дисфункции в предупреждении полиорганной недостаточности у кардиохирургических больных. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 38-48. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.5

THE CORRECTIVE EFFECT OF NITRIC OXIDE AND MOLECULAR HYDROGEN ON PARAMETERS OF MYOCARDIAL AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN THE PREVENTION OF MULTIPLE ORGAN FAILURE IN CARDIAC SURGERY PATIENTS

**Deryugina A.V.¹,
Pichugin V.V.^{2,3},
Bogush A.V.³,
Polozova A.V.¹,
Knyazeva E.A.¹,
Taranov E.V.³,
Zhilyayev S.A.^{2,3},
Pakhomov I.A.³,
Talamanova M.N.¹,
Danilova D.A.¹,
Brichkin Yu.D.³**

¹ Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Ministry of Science and Higher Education (Gagarin Ave, 23, Nizhny Novgorod 603022, Russian Federation)

² Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod 603005, Russian Federation)

³ Research Institute – Specialized Cardiac Surgery Clinical Hospital named after Academician B.A. Korolev (Vaneev str., 209, Nizhny Novgorod 603950, Russian Federation)

Corresponding author:

Ekaterina A. Knyazeva

e-mail: knyazeva.kt@gmail.com

ABSTRACT

Background. Cardiac surgery and cardiopulmonary bypass (CPB) cause ischemia-reperfusion injury, leading to endothelial dysfunction, systemic inflammation and, in some cases, multiple organ failure (MOF), which worsens the prognosis.

Aim. To study the effect of nitric oxide (NO) and molecular hydrogen (H₂) on endothelial dysfunction, myocardial contractility during surgery, and postoperative multiple organ failure.

Materials and methods. The study included 123 patients randomized into 4 groups: 1st (n = 30) – control; 2nd (n = 33) – isolated supply of NO (40 ppm) in the CPB circuit; 3rd (n = 30) – isolated supply of H₂ (2 vol%) into the CPB circuit; 4th (n = 30) – combined supply of NO (40 ppm) and H₂ (2 vol%) into the CPB circuit. During surgery, the functional parameters of the heart were studied using transesophageal echocardiography; the state of endothelial cells – by analysis of circulating endothelial cells (CECs); after surgery – biochemical blood parameters and clinical outcomes.

Results. The action of NO and H₂ improved the contractile function of the myocardium, reduced the increase in AST and ALT activity, reduced the urea content compared with the control, maintaining bilirubin (with the combined action of gases) and creatinine within the initial values, which indicates a multi-organ protective effect. Against the background of the action of NO and H₂, a more pronounced decrease in circulating endothelial cells was noted, associated with a lower incidence of postoperative complications and MOF. The combined use of NO and H₂ caused a multi-organ protective effect superior to the effect of each gas.

Conclusion. Extracorporeal administration of NO and H₂ is an effective strategy for correcting myocardial and endothelial dysfunction, which helps prevent the development of multiple organ failure in cardiac surgery patients.

Key words: nitric oxide, molecular hydrogen, indicators of myocardial and endothelial dysfunction, multiple organ failure, cardiac surgery patients

Received: 13.03.2026

Accepted: 25.09.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Deryugina A.V., Pichugin V.V., Bogush A.V., Polozova A.V., Knyazeva E.A., Taranov E.V., Zhilyayev S.A., Pakhomov I.A., Talamanova M.N., Danilova D.A., Brichkin Yu.D. The corrective effect of nitric oxide and molecular hydrogen on parameters of myocardial and endothelial dysfunction in the prevention of multiple organ failure in cardiac surgery patients. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 38-48. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.5

ОБОСНОВАНИЕ

Синдром полиорганной недостаточности (СПОН) остается критическим осложнением после кардиохирургических операций с искусственным кровообращением (ИК), определяя высокую летальность и значительное потребление ресурсов [1]. Этот синдром, характеризующийся нарушением функции двух и более систем органов [1, 2], развивается у 5–8 % пациентов, перенесших ИК, и служит ведущей причиной госпитальной летальности, достигающей 50–60 % в наиболее тяжелых случаях [3].

По данным НИИ – СККБ им. акад. Б.А. Королева, частота развития ПОН среди 4673 пациентов, оперированных на сердце с ИК в период с 2019 по 2023 г, составила 6,7 % (312 больных). Среди пациентов с развившимся СПОН летальность была достоверно выше и составила 42,3 % (132 из 312 больных), в то время как в группе без ПОН – 1,1 % (46 из 4361 пациентов).

В основе патогенеза послеоперационного СПОН лежит избыточный системный воспалительный ответ, инициируемый хирургической травмой, контактом крови с поверхностью экстракорпорального контура и феноменом ишемии-реперфузии [4, 5]. Развивающийся окислительный стресс (ОС) и каскадный выброс медиаторов определяют развитие диффузной эндотелиальной дисфункции, что приводит к патологическому повышению проницаемости, отеку тканей и нарушению кислородного обмена, вызывающему полиорганную дисфункцию [6]. Нарушение микроциркуляции и тканевая гипоксия усугубляют клеточное повреждение, замыкают порочный круг воспаления [7]. Это формирует самоподдерживающийся процесс, при котором первичная дисфункция одного органа по принципу «домино» провоцирует каскадное вовлечение других систем, что и определяет высокую летальность осложнения [7, 8]. Несмотря на развитие хирургической техники, воспаление и послеоперационные осложнения остаются нерешенной проблемой [9].

В современной клинической практике перспективным направлением является использование медицинских газов, в частности оксида азота (NO). Показано цитопротекторное действие NO в уменьшении зоны инфаркта при его подаче в аппарат искусственного кровообращения при моделировании острого инфаркта. NO регулирует сосудистый тонус микроциркуляторного русла и реологические свойства крови [10]. В кардиохирургии введение ингаляционного NO уменьшает истощение эндогенного NO, вызванное внеклеточным гемоглобином, сохраняя функцию почек и миокарда [11, 12]. Однако, отсутствие комплексных данных о динамике специфических маркеров повреждения органов при терапии NO в кардиохирургии не позволяет анализировать его способность блокировать эффект «домино» при развитии полиорганной недостаточности. В свою очередь, молекулярный водород (H_2), обладая высокой биобезопасностью, нетоксичный даже в высоких концентрациях, селективно нейтрализует наиболее агрессивные формы кислорода

($\cdot OH$ и $ONOO^-$) и, на сегодняшний день, широко используется для лечения при различных патологиях, включая сердечно-сосудистые заболевания, гематологические заболевания, нейродегенеративные заболевания, рак, дерматологические заболевания, сепсис [13]. Показано, что интраоперационные ингаляции H_2 приводят к снижению проявлений ОС у кардиохирургических больных [14]. При хронической сердечной недостаточности H_2 уменьшает повреждение эндотелиоцитов и улучшает состояние миокарда в эксперименте [15]. При этом действие H_2 не ограничено только антиоксидантными эффектами. Исследования показали, что H_2 обладает выраженными противовоспалительными свойствами при различных заболеваниях, включая ишемически-реперфузионное повреждение [16]. Противовоспалительное действие H_2 основано на снижении выработки провоспалительных факторов, в том числе $IL-1\beta$, $IL-6$, $TNF-\alpha$, $NF-\kappa B$ и $HMGB1$, с одновременным повышением уровня противовоспалительных факторов, таких как $IL-4$, $IL-10$ и $IL-13$ [17]. Учитывая, антиоксидантные и противовоспалительные функции H_2 , можно ожидать, что его использование может обеспечить дополнительные преимущества при совместном применении с NO, обладающим кардиопротекторным действием, в ограничении СПОН. Однако действие NO и H_2 , а также их сочетанные эффекты на эндотелиальную дисфункцию, сократимость миокарда и СПОН при экстракорпоральном введении газов кардиохирургическим больным, не изучено.

ЦЕЛЬ

Изучить уровень десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток и сократительную функцию миокарда в ходе операции, а также развитие полиорганной недостаточности у кардиохирургических пациентов при экстракорпоральном действии NO и H_2 в процессе ИК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 123 взрослых пациента с клапанным поражением сердца и сочетанной патологией, 62 (50,4 %) женщины и 61 (49,6 %) мужчина, 101 пациент (82,1 %) были отнесены до операции к III функциональному классу NYHA, 22 (17,9 %) – к IV функциональному классу NYHA. Клинические характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 1.

Статистически значимых различий между группами, различающимися по полу, возрасту и тяжести состояния, не выявлено ($p \geq 0,05$). Всем больным выполнены операции на клапанах сердца и сопутствующие процедуры в «Научно-исследовательском институте – Специализированной кардиохирургической клинической больнице им. акад. Б.А. Королева». Исследование было одобрено этическим комитетом ГБУЗ

НО «НИИ-Специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. академика Б.А. Королева» (протокол № 6 от 08.07.2024).

Критерии не включения в исследование: 1. сахарный диабет I и II типов (вследствие известного угнетающего воздействия на кардиопротекцию). Кроме того, противодиабетические препараты группы сульфонилмочевины ингибируют ишемическое preconditionирование путем блокирования АТФ-зависимых калиевых каналов, активация которых считается заключительным звеном preconditionирования; 2. фракция выброса левого желудочка менее 40 %; 3. сочетание операции на клапанах сердца с вмешательствами, требующими выполнения интраоперационной вентрикулотомии (при данных вмешательствах происходит закономерное повышение активности маркеров повреждения миокарда вне зависимости от эффективности методов кардиопротекции); 4. инфекционные процессы в активной фазе; 5. прием глюкокортикостероидов (с целью предупреждения включения пациентов с исходно измененным системным воспалительным ответом).

Пациенты рандомизированы на 4 группы (методом конвертов): 1-я группа – контроль; 2-я группа – пациенты с изолированной подачей NO (40 ppm) в экстракорпоральный контур; 3-я группа – пациенты с изолированной подачей H₂ (2 об%) в экстракорпоральный контур; в 4-я группа – пациенты с комбинированной подачей NO (40 ppm) и H₂ (2 об%) в экстракорпоральный контур.

У пациентов 1-й (контрольной) группы применен стандартный протокол анестезии, ИК и защиты миокарда (кристаллоидная кардиopleгия раствором «Кустодиол»).

У пациентов 2-й группы газообразный NO подавали в линию подачи газа в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения (АИК). Количество подаваемого NO составило 250–300 мл/мин с концентрацией 40 ppm в потоке свежего кислорода. В качестве генератора газообразного NO использовали установку «Тианокс[®]» (Россия).

У пациентов 3-й группы газообразный H₂ подавали в линию подачи газа в оксигенатор АИК. Количество подаваемого H₂ составило 200–300 мл/мин с концентрацией 2,0 об.% в потоке свежего кислорода. В качестве генератора H₂ использовался аппарат BozonH₂/O₃.

Пациенты 4-й группы получали комбинированную подачу газообразного NO (40 ppm) и H₂ (2,0 об.%) в линию подачи газа в оксигенатор АИК.

Пациентам проводилась интраоперационное транспециевое эхокардиографическое исследование при помощи ультразвуковой системы «PHILIPS CX50» (Нидерланды) с датчиком X7-2t (США). Эхокардиографическое исследование включало измерение среднего давления в лёгочной артерии (ЛА) по времени ускорения потока (АТ) в выводном отделе правого желудочка ($P = 90 - 0,62 \times \text{АТ}$, формула Kitabatake, 1983), измерение конечно-диастолического (КДО), конечно-систолического объемов (КДО) левого желудочка, определение фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) по модифицированному методу Симпсона. Вышеуказанные измерения проводились три раза, брался средний результат. Уровень десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в венозной крови проводили методом изоляции десквамированных эндотелиоцитов с помощью светового микроскопа после предварительной окраски клеток метиленовым

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Показатель	1 группа (контроль; n=30)	2 группа (NO; n=33)	3 группа (H ₂ ; n=30)	4 группа (NO+ H ₂ ; n=30)
Пол: мужской	12(40,0%)	16(48,5%)	16(53,3%)	17 (56,7%)
женский	18(60,0%)	17(51,5%)	14 (46,7%)	13 (43,3%)
Возраст (лет)	54,1±1,4	59,5±1,4	56,5±1,2	58,5±1,1
Функциональный класс (NYHA):				
III	28(93,3%)	26(78,8%)	22 (73,3%)	25 (83,3%)
IV	2(6,6%)	7(21,1%)	8 (26,7%)	5 (16,7%)
ФВ ЛЖ(%)	56,0±1,5	54,4±1,4	54,4±1,5	50,4±1,6
Характер выполненных операций				
Одноклапанная коррекция	11(36,6%)	13 (39,4%)	9 (30,0%)	11 (36,7%)
Двухклапанная коррекция	10(33,3%)	9(27,2%)	7 (23,3%)	10 (33,3%)
Трёхклапанная коррекция	2(6,6%)	1(3,0%)	3 (10,0%)	2 (6,7%)
Сочетанные операции	6(20,0%)	5(15,1%)	6(20,0%)	5(16,7%)
Другие операции	1(3,3%)	5(15,1%)	5(16,7%)	2 (6,6%)
Время ИК (мин)	100,3±5,5	124,6±7,0	121,6±9,0	117,4±8,5
Время пережатия аорты (мин)	75,6±4,2	93,1±5,6	95,1±5,9	89,3±6,0

синим [15]. Для определения активности ферментов (АСТ, АЛТ), содержания билирубина, креатинина, мочевины и общего белка применяли биохимический анализатор «Mindray BS-430» (Китай). Анализ биохимических показателей проводили накануне и на следующий день после операции.

Так же проводили анализ клинических исходов операций.

Полученные данные обрабатывали с использованием пакета программ Microsoft Excel и «Statistica-6». Для проверки гипотезы о типе распределения использовался метод Шапиро – Уилка. Изучение статистических закономерностей в выборках проводилось с использованием параметрического критерия, поскольку было показано нормальное распределение признаков. Рассчитывали среднее арифметическое выборочной совокупности и стандартное отклонение по критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Регистрация функциональной активности сердца выявила отличие по показателям фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) и среднего давления в ЛА в группах при использовании NO и H₂ по сравнению с контрольной группой (табл. 2). ФВ ЛЖ в группе контроля снижалась на 14 % от исходных значений, при

моновоздействию NO или H₂ показатель сохранялся на уровне исходных параметров, при сочетанном действии газов – увеличивался, значимо отличаясь от контрольной группы, что составило рост значений относительно контрольной группы при действии NO на 11 % ($p \leq 0,05$), при H₂ на 13 % ($p \leq 0,05$) и при NO+H₂ на 15 % ($p \leq 0,05$). Среднее давление в ЛА во всех группах снижалось. В контрольной группе значение показателя уменьшалось на 25 % к концу операции, в экспериментальных группах изменения регистрировались уже в ходе проведения ИК. К концу операции при действии NO показатель снижался на 26 %, при действии H₂ – на 22 % и при совместном действии NO и H₂ – на 28 % относительно исходных значений ($p \leq 0,05$). Наиболее выраженные изменения относительно значений контроля регистрировали при действии NO на 11 % ($p \leq 0,05$) и NO+H₂ на 8 % ($p \leq 0,05$).

Анализ состояния эндотелия был проведен по содержанию циркулирующих эндотелиоцитов крови (ЦЭК), что позволяет оценить системное поражение эндотелия [18]. Было показано снижение ЦЭК в ходе операции во всех группах (табл. 3), что, вероятно, было обусловлено активацией системы фагоцитоза и протективным действием газов на эндотелий сосудов. В контрольной группе снижение к концу операции было на 32 % относительно исходных значений. Использование газов определило более выраженное снижение ЦЭК по сравнению с контролем. Количество ЦЭК уменьшилось в конце операции при использовании

ТАБЛИЦА 2

ХАРАКТЕРИСТИКА СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА НА ЭТАПАХ ОПЕРАЦИИ

TABLE 2

CHARACTERISTICS OF MYOCARDIAL CONTRACTILE FUNCTION AT THE STAGES OF SURGERY

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Исходные данные	Перед ИК	Конец ИК	Конец операции
КДО (мл)	1 группа (контроль)	167,2±13,5	162,4±12,9	160,6±11,9	130,9±12,1*
	2 группа (NO)	169,1±13,1	157,0±11,3	153,9±12,5	132,6±11,3*
	3 группа (H ₂)	170,3±13,9	158,0±12,5	157,5±13,5	129,9±10,0*
	4 группа (NO+H ₂)	178,3±14,9	171,3±12,9	159,3±14,9	130,3±10,9*
КСО (мл)	1 группа (контроль)	84,3±6,2	84,7±5,9	82,4±6,1	66,9±6,3*
	2 группа (NO)	83,1 ±5,5	82,7±6,1	82,1±5,9	65,9±6,2*
	3 группа (H ₂)	81,4±6,9	81,1±6,4	79,8±6,4	65,1±5,8*
	4 группа (NO+H ₂)	82,9±6,0	82,4±6,9	80,4±7,7	61,4±5,9*
ФВ ЛЖ (%)	1 группа (контроль)	52,1±1,2	52,0±1,2	45,7±1,4*	45,0±1,3*
	2 группа (NO)	50,7±1,3	49,1±1,4	51,2±1,1**	50,1 ±1,1**
	3 группа (H ₂)	51,8±1,2	48,3±1,9	49,9±1,0**	50,8±1,0**
	4 группа (NO+H ₂)	50,8±1,1	50,1±1,0	51,8±1,2**	51,9±1,3**
Давление в ЛА среднее (мм рт ст)	1 группа (контроль)	49,9±1,3	49,5±1,1	44,5±1,3	37,5±1,1*
	2 группа (NO)	45,4±1,8	35,2±1,3*	33,1±1,1*	33,4±1,2* **
	3 группа (H ₂)	50,0±1,1	51,0±1,2	40,4±0,8*	38,8±0,8*
	4 группа (NO+H ₂)	47,4±1,3	40,4±1,3*	35,4±1,0*	34,4±1,1* **

Примечания: «*» – статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом, «**» – статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой на аналогичном этапе.

ТАБЛИЦА 3

КОЛИЧЕСТВО ДЕСКВАМИРОВАННЫХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК (ЦЭК) В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НА ЭТАПАХ ОПЕРАЦИИ

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Исходные данные	Начало ИК	Конец ИК	Конец операции
ЦЭК (ед/100мкл)	1 группа (контроль)	116,98±10,12	102,16±9,10	81,54±9,23*	79,37±7,11*
	2 группа (NO)	109,43±9,04	86,32±9,28*	64,03±8,24* **	58,29±6,93* **
	3 группа (H ₂)	123,54±10,23	112,22±6,65	67,12±6,65*	61,23±7,41* **
	4 группа (NO+H ₂)	118,22±9,56	89,16±10,34*	61,54±5,76* **	50,18±9,12* **

Примечания: «*» – статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом, «**» – статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой на аналогичном этапе.

TABLE 3

THE NUMBER OF DESQUAMATED CIRCULATING ENDOTHELIAL CELLS (CECS) IN THE PERIPHERAL BLOOD AT THE STAGES OF SURGERY

NO на 50 %, H₂ – на 47 % и NO и H₂ – на 58 % соответственно относительно исходных значений.

Функциональное состояние органов оценивали по биохимическим маркерам крови. Так, АСТ широко распределена по тканям человека, причем наибольшая активность обнаружена в сердце, печени, скелетных мышцах, почках и головном мозге. Рост АСТ является универсальным маркер цитолиза: его повышение отражает повреждение мембран и коррелирует с некрозом миокарда [19]. АЛТ, в свою очередь, рассматривается как высокоспецифичный индикатор гепатоцеллюлярного повреждения [20]. Следует отметить, что билирубин, помимо участия в катаболизме гема, выполняет антиоксидантную и противовоспалительную функцию – умеренная гипербилирубинемия защищает митохондрии и снижает продукцию активных форм кислорода (АФК) [21]. Креатинин и мочевины служат маркерами выделительной функции почек и азотистого обмена [22]. При проведении биохимического анализа регистрировали повышение активности АСТ в контрольной группе в 3,5 раза, в группах при использовании NO и H₂ – в 2,7 раза, при сочетанном введении газов в 2 раза, что характеризовалось снижением активности фермента относительно значений контрольной группы при моновоздействии NO и H₂ на 27 % ($p \leq 0,05$) и 22 % ($p \leq 0,05$) соответственно и при их сочетанном действии на 45 % ($p \leq 0,05$) (табл. 4). Следует отметить, что при совместном действии NO и H₂ активность АСТ после операции приближалась к уровню значений до операции. Активность АЛТ повышалась в контрольной группе в 2 раза, при моновоздействии газов в 1,5 раза и не изменялась от исходных значений при сочетанном использовании газов, что относительно контрольной группы выражалось в снижении показателя при действии NO на 33 % ($p \leq 0,05$), H₂ на 37 % ($p \leq 0,05$) и при NO с H₂ на 42 % ($p \leq 0,05$). Содержание билирубина увеличивалось в контроле и при моновоздействии газов и сохранялось на уровне исходных значений при сочетанном их использовании. Креатинин имел тенденцию к увеличению в контрольной группе на 20 %, в остальных группах значимо не изменялся от исходных значений. Рост мочевины был выражен в контрольной

группе, что характеризовалось увеличением показателя в 2 раза. При действии NO и H₂ значимых изменений от исходных значений не регистрировалось, однако относительно контроля данные показатели были снижены при действии NO, H₂ и при NO с H₂ на 45 %, 26 % и 43 % ($p \leq 0,05$) соответственно. Содержание общего белка снижалось во всех группах однотипно.

Полученные результаты свидетельствуют, что кардиохирургическое вмешательство оказывает системное действие на организм. Однако наиболее серьезным осложнением операции являются острая сердечно-сосудистая и острая дыхательная недостаточности, которые повышают госпитальную летальность и значительно утяжеляют течение раннего послеоперационного периода [23]. Так, согласно данным литературы, острая сердечно-сосудистая недостаточность (ОССН) развивается у 9–20 % пациентов [24] и острая дыхательная недостаточность (ОДН) у 2,6–22,7 % [25]. В связи с этим для объективизации исследования, нами была проведена оценка полиорганной недостаточности (ПОН), с детальным анализом случаев ОССН и ОДН.

Все включенные и проанализированные в исследовании пациенты были выписаны из клинических отделений больницы в удовлетворительном состоянии с клиническим улучшением по основной патологии. Основные послеоперационные осложнения у пациентов представлены в таблице 5.

Как следует из представленных данных, у пациентов контрольной группы послеоперационные осложнения встречались у каждого третьего больного, а частота развития полиорганной недостаточности составила 6,7 % (2 пациента). Применение NO и H₂ статистически значимо снижало как общую частоту послеоперационных осложнений, так и развитие ПОН. Наиболее эффективным в предупреждении развития ПОН была комбинация NO и H₂.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ведущей причиной дисфункции и повреждения органов, тканей, сосудистого русла и систем регуляции

у кардиохирургических больных рассматривается развитие системного воспалительного ответа [4]. В связи с этим клинически значимым результатом применения NO и H₂ является их органопротективный эффект.

Поскольку период ИК характеризуется наиболее выраженными патофизиологическими сдвигами, что связано с оксидативным стрессом, индуцированным ишемией-реперфузией и приводящим к эндотелиальной

ТАБЛИЦА 4

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ АСТ, АЛТ, СОДЕРЖАНИЯ БИЛИРУБИНА, КРЕАТИНИНА, МОЧЕВИНЫ, ОБЩЕГО БЕЛКА В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

TABLE 4

INDICATORS OF AST AND ALT ACTIVITY, BILIRUBIN, CREATININE, UREA AND TOTAL PROTEIN LEVELS IN THE BLOOD OF PATIENTS IN THE STUDY GROUPS

Показатель	Группа больных	Этап исследования	
		Исходные данные	После операции
АСТ (ЕД/л)	1 группа (контроль)	31,5±2,8	111,8±8,7*
	2 группа (NO)	29,7±3,3	81,6±6,8* **
	3 группа (H ₂)	32,8±2,5	87,3±9,8* **
	4 группа (NO+H ₂)	30,1±3,7	61,5±4,9* **
АЛТ (ЕД/л)	1 группа (контроль)	30,5±5,8	61,5±5,8*
	2 группа (NO)	29,8±4,6	41,2±2,9* **
	3 группа (H ₂)	28,1±3,8	38,7±2,6 * **
	4 группа (NO+H ₂)	30,9±3,1	35,5±3,1**
Билирубин общий (мкмоль/л)	1 группа (контроль)	17,1±3,1	27,2±2,1*
	2 группа (NO)	16,3±2,2	25,1±3,1*
	3 группа (H ₂)	16,1±3,3	27,1±4,1*
	4 группа (NO+H ₂)	17,1±3,1	19,2±1,1**
Креатинин (мкмоль/л)	1 группа (контроль)	53,1±6,5	63,1±7,5
	2 группа (NO)	63,1±7,3	66,1±5,4
	3 группа (H ₂)	61,5±6,9	63,2±5,5
	4 группа (NO+H ₂)	58,7±5,5	59,1±7,5
Мочевина (ммоль/л)	1 группа (контроль)	3,7±0,7	7,7±0,9*
	2 группа (NO)	3,9±0,5	4,2±0,6**
	3 группа (H ₂)	4,7±0,5	5,7±1,1**
	4 группа (NO+H ₂)	4,2±0,8	4,4±0,7**
Общий белок (г/л)	1 группа (контроль)	75,2±6,6	55,2±3,6*
	2 группа (NO)	71,3±7,1	56,2±2,7*
	3 группа (H ₂)	70,2±6,9	60,1±3,1
	4 группа (NO+H ₂)	71,7±8,6	59,2±4,6

Примечания: «*» – достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом, «**» – статистически значимы различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой на аналогичном этапе.

ТАБЛИЦА 5

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА

TABLE 5

MAIN CHARACTERISTICS OF THE POSTOPERATIVE PERIOD

Характеристики	1 группа Контроль (n=30)	2 группа NO в АИК (n=33)	3 группа H ₂ в АИК (n=30)	4 группа NO+H ₂ в АИК (n=30)
ОССН (n/%)	4 (13,3%)	0 (0%)*	2 (6,7%)*	0 (0%)*
ОДН (n/%)	3 (10,0%)	1 (3,0%)*	1 (3,3%)*	0 (0%)*
ПОН (n/%)	2 (6,7%)	0 (0%)*	0 (0,0%)*	0 (0%)*
Общее количество осложнений (n/%)	9 (30%)	1 (3,0%)	3 (10%)	0 (0%)
Продолжительность пребывания в ОРИТ (ч)	48,0±2,3	30,2±1,1*	38,0±2,1*	27,1±1,5*

Примечание: «*» – статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой на аналогичном этапе.

дисфункции [26], регистрацию ЦЭК осуществляли на этапах операции, а биохимических показателей – в ранний постоперационный период. Анализ биохимических показателей и ЦЭК позволил продемонстрировать ограничение повреждающего действия ИК при использовании NO и H₂. В частности, экстракорпоральное введение NO и H₂ во время ИК не только способствовало уменьшению повреждения миокарда, но также определило органопротективный эффект, что подтверждает меньший рост активности трансаминаз (АСТ, АЛТ) относительно контрольной группы при сохранении уровня билирубина на исходных значениях. Кроме того, сохранение уровня креатинина на фоне снижения мочевины и увеличения общего белка под действием NO и H₂ по сравнению с контролем свидетельствует о защите функции почек, предупреждении почечной недостаточности и снижении катаболических процессов [27].

Анализируя полученные эффекты при экстракорпоральном действии NO и H₂ у кардиохирургических больных в качестве одного из механизмов ограничения послеоперационных осложнений и развития полиорганной недостаточности следует отметить выявленные эффекты NO и H₂ на эндотелиоциты сосудистой стенки, восстановление которой приводит к улучшению перфузии органов, уменьшению тканевой гипоксии и снижению воспаления [28]. При этом снижение эндотелиальной дисфункции является отражением системного улучшения гемодинамических и иммуномодулирующих изменений при действии NO и H₂, взаимосвязано с ограничением системного воспаления, и, как следствие, с ограничением СПОН.

В качестве возможных путей реализации действия NO следует отметить его вазодилатирующий эффект, реализуемый через активацию сигнального пути цГМФ–протеинкиназа G [29]. Кроме того, гемолиз эритроцитов в ходе ИК и свободный гемоглобин впоследствии приводят к дополнительной системной вазоконстрикции за счёт поглощения эндотелиального NO и введение экзогенного NO ограничивает данный эффект. Однако помимо хорошо изученного цГМФ-зависимого сосудорасширяющего действия клеточная реализация действия экзогенного NO определена защитой митохондрии от повреждений, вызванных реперфузией [30], что обеспечивает ограничение окислительных процессов, восстановление энергетического баланса и общей функции клеток [31]. В свою очередь, противовоспалительный механизм H₂ в основном осуществляется через регуляцию баланса провоспалительных и противовоспалительных факторов, и взаимодействие ключевых сигнальных путей (таких как NF-κB, Nrf2, mTOR) [32]. Кроме того, H₂ может активировать эндогенную антиоксидантную систему, повышая экспрессию и активность Nrf2, фактора транскрипции, который индуцирует экспрессию различных антиоксидантных ферментов [33], тем самым повышая активность антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза. H₂ регулирует уровень активных форм кислорода

(АФК) и обеспечивает синергетический антиоксидантно-противовоспалительный эффект [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экстракорпоральное использование NO и H₂ в условиях кардиохирургических операций ограничивает повреждение эндотелия, сохраняет сократительный резерв миокарда и предотвращают развитие СПОН, что выражено проявляется при сочетанном действии газов. Настоящее исследование обосновывает эффективность сочетанного экстракорпорального применения NO и H₂ как принципиально нового подхода к терапии кардиохирургических пациентов для смягчения операционного вмешательства и нивелирования последствий ИК в развитии дисфункции органов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 25-15-20083.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Velho TR, Pereira RM, Guerra NC, Ferreira R, Pedroso D, Neves-Costa A, et al. The impact of cardiopulmonary bypass time on the Sequential Organ Failure Assessment score after cardiac surgery. *Interdiscip Cardiovasc Thorac Surg.* 2024; 38(5): ivae082. doi: 10.1093/icvts/ivae082
2. Мамедов Э.А., Аникин И.В. Полиорганная недостаточность: современное состояние проблемы и перспективы исследований. *Вестник науки.* 2025; 6(87–1). [Mamedov E.A., Anikin I.V. Multiple organ failure: current state of the problem and the prospects research. *Bulletin of Science.* 2025; 6(87–1). (In Russ.).]
3. Барбараш Л.С., Григорьев Е.В., Плотников Г.П., Хаес Б.Л., Моисеенков Г.В., Шукевич Д.Л. и др. Полиорганная недостаточность после кардиохирургических вмешательств. *Общая реаниматология.* 2010; 6(5): 31. [Barbarash LS, Grigoriev EV, Plotnikov GP, Haes BL, Moiseenkov GV, Shukevich DL, et al. Multiple Organ Failure After Cardiac Surgery Interventions. *General Reanimatology.* 2010; 5: 31. (In Russ.).] doi: 10.15360/1813-9779-2010-5-31
4. Кричевский Л.А., Рыбаков В.Ю., Дворядкин А.А., Проценко Д.Н. Системный воспалительный ответ в кардиохирургии. *Анестезиология и реаниматология.* 2021; 3: 94–102. [Krichevsky LA, Rybakov VYu, Dvoryadki AA, Protsenko DN. Systemic Inflammatory Response in Cardiac Surgery. *Anesthesiology and Resuscitology.* 2021; 3: 94–102. (In Russ.).] doi: 10.17116/anaesthesiology202103194
5. Viikinkoski E, Aittokallio J, Lehto J, Ollila H, Relander A, Vasankari T, et al. Prolonged Systemic Inflammatory Response Syndrome After Cardiac Surgery. *J Cardio-*

thorac Vasc Anesth. 2024; 38(3): 709–716. doi: 10.1053/j.jvca.2023.12.017

6. Ayıkgöz Y, Salih Aydın M, Kankılıç N, Temiz E. Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (Nrf2), Tumor Necrosis Factor Alpha Protein (TNF- α), Heme Oxygenase-1 (HO-1) Gene Expressions during Cardiopulmonary Bypass. *Gene*. 2021; 790: 145690. doi: 10.1016/j.gene.2021.145690

7. Mallat J, Rahman N, Hamed F, Hernandez G, Fischer MO. Pathophysiology, mechanisms, and managements of tissue hypoxia. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2022; 41(4): 101087. doi: 10.1016/j.accpm.2022.101087

8. Cherry AD. Mitochondrial Dysfunction in Cardiac Surgery. *Anesthesiol Clin*. 2019; 37(4): 769–785. doi: 10.1016/j.anclin.2019.08.003

9. Zhang J, Zhang H, Wang J, Wang T, Bian L, Li Zh, et al. The organ-protective effects of nitric oxide in adult patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a systematic review and meta-analysis. *BMC Anesthesiol*. 2025; 25(1): 335. doi: 10.1186/s12871-025-03207-7

10. Чучалин А.Г. Оксид азота – молекула XXI века. *Пульмонология*. 2024;34(3): 326–335. [Chuchalin AG. Nitric oxide – a molecule of the 21st century. *Pulmonology*. 2024; 34(3): 326–335. (In Russ.)]. doi: 10.18093/0869-0189-2024-34-3-326-333

11. Lei C, Berra L, Rezoagli E, Yu B, Dong H, Yu S, et al. Nitric oxide decreases acute kidney injury and stage 3 chronic kidney disease after cardiac surgery. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018; 198(10): 1279–87. doi: 10.1164/rccm.201710-2150OC

12. Kamenshchikov NO, Anfinogenova YJ, Kozlov BN, Svirko YS, Pekarskiy SE, Evtushenko VV, et al. Nitric oxide delivery during cardiopulmonary bypass reduces acute kidney injury: A randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2022; 163(4): 1393–1403e9. doi: 10.1016/j.jtcvs.2020.03.182

13. Jin J, Yue L, Du M, Geng F, Gao X, Zhou Y, et al. Molecular Hydrogen Therapy: Mechanisms, Delivery Methods, Preventive, and Therapeutic Application. *Med Comm* 2025; 6(5): e70194. doi: 10.1002/mco2.70194

14. Данилова Д.А., Бричкин Ю.Д., Медведев А.П., Пичугин В.В., Федоров С.А., Таранов Е.В. и др. Использование молекулярного водорода при операциях на сердце в условиях искусственного кровообращения. *Современные технологии в медицине*. 2021; 13(1): 71–77. [Danilova DA, Brichkin YuD, Medvedev AP, Pichugin VV, Fedorov SA, Taranov EV, et al. Application of molecular hydrogen in heart surgery under cardiopulmonary bypass. *Modern Technologies in Medicine*. 2021; 13(1): 71–77. (In Russ.)]. doi: 10.17691/stm2021.13.1.09

15. Дерюгина А.В., Данилова Д.А. Молекулярный водород снижает степень альтерации эндотелия в условиях хронической сердечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023; 175(4): 426–429. [Deryugina AV, Danilova DA. Molecular hydrogen reduces the degree of endothelial alteration in conditions of chronic heart failure. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023;175(4): 433–436. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2023-175-4-426-429

16. Hu D, Kabayama S, Watanabe Y, Cui Y. Health Benefits of Electrolyzed Hydrogen Water: Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Living Organisms. *Antioxidants (Basel)*. 2024; 13(3): 313. doi: 10.3390/antiox13030313

17. Sim M, Kim CS, Shon WJ, Lee YK, Choi EY, Shin DM. Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 12130. doi: 10.1038/s41598-020-68930-2

18. Di Martino ML, Frau A, Losa F, Muggianu E, Mura MN, Rotta G, et al. Role of circulating endothelial cells in assessing the severity of systemic sclerosis and predicting its clinical worsening. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 2681. doi: 10.1038/s41598-020-80604-7

19. Ndrepepa G. Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease — a narrative review. *J Lab Precis Med*. 2021; 6: 6. doi: 10.21037/jlpm-20-93

20. Ndrepepa G, Kastrati A. Alanine aminotransferase — a marker of cardiovascular risk at high and low activity levels. *J Lab Precis Med*. 2019; 4: 29. doi: 10.21037/jlpm.2019.08.01

21. Dvořák A, Pospíšilová K, Žížalová K, Capková N, Muchová L, Vecka M, et al. The Effects of Bilirubin and Lumirubin on Metabolic and Oxidative Stress Markers. *Front. Pharmacol*. 2021; 12: 567001. doi: 10.3389/fphar.2021.567001

22. Paulus MC, Melchers M, van Es A, Kouw IWK, van Zanten ARH. The urea-to-creatinine ratio as an emerging biomarker in critical care: a scoping review and meta-analysis. *Crit Care*. 2025; 29(1): 175. doi: 10.1186/s13054-025-05396-6

23. Chang L, Jia L, Xu Y, Qian Y, Zhao S, Sun Y, et al. Association of Arterial PaCO₂ with the Survival of Mechanically Ventilated Patients with Acute Respiratory Failure: A Multicenter Retrospective Cohort Study. *Diagnostics*. 2026; 16(3): 489. doi: 10.3390/diagnostics16030489

24. Газизова В.П., Власова Э.Е., Ширяев А.А., Акчурин Р.С. Острая сердечная недостаточность в хирургии ишемической болезни сердца. *Кардиологический вестник*. 2022; 17(3): 513. [Gazizova VP, Vlasova EE, Shiryayev AA, Akchurin RS. Acute heart failure in surgery of coronary artery disease. *Russian Cardiology Bulletin*. 2022; 17(3): 513. (In Russ.)].doi: 10.17116/Cardiobulletin2022170315

25. Nicolotti D, Grossi S, Nicolini F, Galligani A, Rossi S. Difficult Respiratory Weaning after Cardiac Surgery: A Narrative Review. *J Clin Med*. 2023; 12(2): 497. doi: 10.3390/jcm12020497

26. Rodrigo R, González-Montero J, Sotomayor CG. Novel combined antioxidant strategy against hypertension, acute myocardial infarction and postoperative atrial fibrillation. *Biomedicines*. 2021; 9(6): 620. doi: 10.3390/biomedicines9060620

27. Князева Е.А., Дерюгина А.В., Ястребов П.В., Бояринов Г.А. Биохимические показатели крови при использовании препаратов рыбьего жира в условиях интенсивной физической нагрузки. *Учёные записки Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова*. 2025; 32(1): 69–78. [Knyazeva EA, Deryugina AV,

Yastrebov PV, Boyarinov GA. Biochemical blood counts in the application of fish oil preparations in conditions of intense physical activity. *The Scientific Notes of the Pavlov University*. 2025; 32(1): 69–78. (In Russ.]. doi: 10.24884/1607-4181-2025-32-1-69-78

28. Dekker NAM, van Leeuwen ALI, van Strien WWJ, Majolée J, Szulcek R, Vonk ABA, et al. Microcirculatory perfusion disturbances following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass are associated with *in vitro* endothelial hyperpermeability and increased angiotensin-2 levels. *Crit Care*. 2019; 23(1): 117. doi: 10.1186/s13054-019-2418-5

29. Azem K, Novakovsky D, Krasulya B, Fein S, Iluz-Freundlich D, Uhanova J, et al. Effect of nitric oxide delivery via cardiopulmonary bypass circuit on postoperative oxygenation in adults undergoing cardiac surgery (NOCARD trial): a randomised controlled trial. *Eur J Anaesthesiol*. 2024; 41(9): 677–86. doi: 10.1097/EJA.0000000000002022

30. Lundberg JO, Weitzberg E. Nitric oxide signaling in health and disease. *Cell*. 2022; 185(16): 2853–2878. doi: 10.1016/j.cell.2022.06.010

31. Obara CJ, Nixon-Abell J, Moore AS, Riccio F, Hoffman D, Shtengel G, et al. Motion of VAPB Molecules Reveals ER-mitochondria Contact Site Subdomains. *Nature*. 2024; 626(7997): 169–176. doi: 10.1038/s41586-023-06956-y

32. Geng N, Gao X, Wang X, Cui Sh, Wang J, Liu Y, et al. Hydrogen helps to ameliorate staphylococcus aureus-induced mastitis in mice. *International Immunopharmacology*. 2022; 109: 108940. doi: 10.1016/j.intimp.2022.108940

33. Zhang Y, Chen J, Wu H, Li L, Yang X, Lai K, et al. Hydrogen regulates mitochondrial quality to protect glial cells and alleviates sepsis-associated encephalopathy by Nrf2/Y1 complex promoting HO-1 expression. *International Immunopharmacology*. 2023; 118: 110009. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110009

34. Tu M, Fan X, Shi J, Jing S, Xu X, Wang Y. 2-Fluorofucose attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HepG2 cells via Nrf2/keap1 and NF-κB signaling pathways. *Life*. 2022; 12(3): 406. doi: 10.3390/life12030406

Сведения об авторах

Дерюгина Анна Вячеславовна – доктор биологических наук, профессор, зав. каф. физиологии и анатомии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; e-mail: derugina69@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8812-8559>

Пичугин Владимир Викторович – доктор медицинских наук, профессор, Главный научный сотрудник кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; профессор кафедры анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; врач-анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева»; e-mail: pichugin.vldmr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7724-0123>

Богош Антонина Викторовна – кандидат медицинских наук, зав. отделением реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева»; e-mail: bogushnn@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2437-3867>

Полозова Анастасия Владимировна – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры физиологии и анатомии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; e-mail: shumilowanastya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1255-9760>

Князева Екатерина Александровна – магистр кафедры физиологии и анатомии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; e-mail:knyazeva.kt@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-8753-4841>

Таранов Евгений Владимирович – кандидат медицинских наук, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева»; e-mail: evgnmed@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0686-5481>

Жилев Сергей Александрович – аспирант кафедры анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии ФГБОУ «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; врач-анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева»; e-mail: zhilyaevserg92@mail.ru <https://orcid.org/0009-0007-0124-9739>

Пахомов Илья Александрович – врач-анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева»; e-mail: pakhomov0710@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-8507-0971>

Таламанова Мария Николаевна – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры физиологии и анатомии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; e-mail: talamanova@ibbm.unn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0512-6940>

Данилова Дарья Андреевна – старший преподаватель кафедры физиологии и анатомии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; e-mail: danilova@ibbm.unn.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7511-5123>

Бричкин Юрий Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор-консультант ГБУЗ НО «Научно-исследовательский институт – специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. акад. Б.А. Королева»; e-mail: y.d.brichkin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7945-9652>

Information about the authors

Anna V. Deryugina – Dr. Sc. (Biol.), professor, head of the Department of Physiology and Anatomy, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Ministry of Science and Higher Education; e-mail: derugina69@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8812-8559>

Vladimir V. Pichugin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Transfusiology, Privolzhsky Research Medical University; Chief Researcher of the Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Ministry of Science and Higher Education; anesthesiologist-intensivist of the Anesthesiology and Intensive Care Unit, Science Research Institute – Specialized Clinical Cardiosurgical Hospital named after B.A. Korolev; e-mail: pichugin.vldmr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7724-0123>

Antonina V. Bogush – Cand. Sc. (Med.), anesthesiologist – intensivist, head of the Department of Resuscitation and Intensive Care, Surgeon, Science Research Institute – Specialized Clinical Cardiosurgical Hospital named after B.A. Korolev; e-mail: bogushnn@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2437-3867>

Anastasia V. Polozova – Cand. Sc. (Biol.), associate professor, associate professor of the Department of Physiology and Anatomy, National Research Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky; e-mail: shumilowanastya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1255-9760>

Ekaterina A. Knyazeva – master of science of the Department of Physiology and Anatomy, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Ministry of Science and Higher Education; e-mail: knyazeva.kt@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-8753-4841>

Evgeny V. Taranov – Cand. Sc. (Med.), anesthesiologist – intensivist of the Anesthesiology and Intensive Care Unit, Science Research Institute – Specialized Clinical Cardiosurgical Hospital named after B.A. Korolev; e-mail: evgnmed@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0686-5481>

Sergey A. Zhilyaev – Postgraduate student at the Department of Anesthesiology, Intensive Care, and Transfusiology Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; anesthesiologist – intensivist of the Anesthesiology and Intensive Care Unit, Science Research Institute – Specialized Clinical Cardiosurgical Hospital named after B.A. Korolev; e-mail: zhilyaevserg92@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-0124-9739>

Ilya A. Pakhomov – anesthesiologist – intensivist of the Anesthesiology and Intensive Care Unit, Science Research Institute – Specialized Clinical Cardiosurgical Hospital named after B.A. Korolev; e-mail: pakhomov0710@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0003-8507-0971>

Maria N. Talamanova – Cand. Sc. (Biol.), associate professor, associate professor of the Department of Physiology and Anatomy, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Ministry of Science and Higher Education; e-mail: talamanova@ibbm.unn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0512-6940>

Darya A. Danilova – senior lecturer of the Department of Physiology and Anatomy, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Ministry of Science and Higher Education; e-mail: danilova@ibbm.unn.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7511-5123>

Yuriy D. Brichkin – Dr. Sc. (Med.), consulting professor, Science Research Institute – Specialized Clinical Cardiosurgical Hospital named after B.A. Korolev; e-mail: y.d.brichkin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7945-9652>

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ РОДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ (RANDOM FOREST)

Булатова И.А.¹,
Саланова М.Ш.¹,
Пониманская М.А.²,
Десятник К.А.²,
Панина О.Б.¹

¹ Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, Ломоносовский пр-кт, д. 27, к. 1; Россия)

² Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова (123423, г. Москва, ул. Саляма Адила, д. 2/44, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Булатова Инга Акоповна
e-mail: inga5797@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Индукция родов (ИР) — широко распространённое акушерское вмешательство, однако частота кесарева сечения (КС) после ИР может превышать 50 % в отдельных группах. Существующие прогностические модели преимущественно используют антенатальные факторы, не учитывают нелинейные взаимосвязи и не всегда обладают достаточной дискриминационной способностью.

Цель. Разработка, валидация и интерпретация прогностической модели для определения исхода ИР при доношенной беременности с применением методов машинного обучения.

Методы. Ретроспективное когортное исследование на основе госпитального регистра (июнь 2024 – июнь 2025) включило 1670 одноплодных беременных со сроком гестации ≥ 37 недель, которым проводилась ИР (амниотомия, окситоцин). Исходы ИР: успешная ИР (вагинальные роды) и неуспешная ИР (КС). Для предварительного отбора признаков производилось вычисление важности признаков (feature importance) с помощью логистической регрессии, логистической регрессии с L1-регуляризацией (Lasso) и модели случайного леса (Random Forest) для устранения неинформативных переменных. Финальная прогностическая модель была построена с использованием алгоритма случайного леса. Для интерпретации влияния отобранных признаков на предсказания модели применялся SHAP-анализ.

Результаты. Частота КС составила 21,1 % ($n = 352$). В финальную модель вошли 7 признаков (по убыванию важности): продолжительность интервала от начала ИР до развития регулярной родовой деятельности, паритет, предполагаемая масса плода по ультразвуковому исследованию, необходимость преиндукции родов, возраст матери, индекс массы тела матери, срок гестации. AUC-ROC модели на тестовой выборке составила 0,904 (95% ДИ 0,846–0,951), чувствительность – 75 %, специфичность – 92 %, Net Benefit – 0,184. SHAP-анализ позволил интерпретировать индивидуальные прогнозы.

Заключение. Разработанная модель на основе случайного леса с включением интранатального предиктора (интервал до регулярных схваток) демонстрирует высокую прогностическую эффективность, возможность в внешней валидации и клиническую полезность, что может способствовать своевременному принятию обоснованных решений о тактике ведения родов.

Ключевые слова: индукция родов, кесарево сечение, факторы риска, прогностические модели, машинное обучение, случайный лес

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 27.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Булатова И.А., Саланова М.Ш., Пониманская М.А., Десятник К.А., Панина О.Б. Прогнозирование кесарева сечения после индукции родов с использованием машинного обучения (Random Forest). Acta biomedica scientifica. 2026; 11(4): 49-61. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.6

PREDICTION OF CESAREAN DELIVERY AFTER INDUCTION OF LABOR USING MACHINE LEARNING (RANDOM FOREST)

**Bulatova I.A.¹,
Salanova M.S.¹,
Ponimanskaya M.A.²,
Desyatnik K.A.²,
Panina O.B.¹**

¹ Lomonosov Moscow State University,
Medical Research and Educational
Institute (27 Lomonosovsky ave, unit 1,
Moscow 119991, Russian Federation)

² Vorokhobov City Clinical Hospital No 67
(Salyam Adil Str., 2/44, Moscow 123423,
Russian Federation)

Corresponding author:
Inga A. Bulatova
e-mail: inga5797@mail.ru

ABSTRACT

Background. Induction of labor (IOL) is a widely used obstetric intervention. However, the rate of cesarean section (CS) following IOL may exceed 50% in certain subgroups. Existing predictive models predominantly rely on antenatal factors, fail to account for nonlinear relationships, and do not always demonstrate sufficient discriminative ability.

Aim. Development, validation, and interpretation of a predictive model for predicting the outcome of IOL in term pregnancy using machine learning methods.

Materials and methods. This retrospective cohort study, based on a hospital registry (June 2024 – June 2025), included 1,670 women with singleton pregnancies with gestational age of ≥ 37 weeks who underwent IOL (amniotomy, oxytocin). Outcomes were defined as successful IOL (vaginal delivery) and unsuccessful IOL (CS). For preliminary feature selection, feature importance was calculated using logistic regression, logistic regression with L1 regularization (Lasso), and random forest to eliminate non-informative variables. The final predictive model was built using the random forest algorithm. SHAP analysis was used to interpret the influence of the selected features on the model predictions.

Results. The CS rate was 21.1% ($n=352$). Seven features were included in the final model (in descending order of importance): the time interval from IOL initiation to the onset of regular uterine contractions, parity, estimated fetal weight by ultrasound, need for pre-induction of labor, maternal age, maternal body mass index, and gestational age. The model achieved an AUC-ROC of 0.904 (95% CI 0.846–0.951) on the test set, with a sensitivity of 75%, specificity of 92%, and net benefit of 0.184. SHAP analysis enabled interpretation of individual predictions.

Conclusion. The developed random forest-based model, which incorporates an intrapartum predictor (time interval to regular contractions), demonstrates high predictive performance, potential for external validation, and clinical utility, thereby supporting timely and informed decision-making regarding labor management.

Keywords: Induction of labor; cesarean section; risk factors; predictive models; machine learning; random forest

Received: 31.03.2026
Accepted: 27.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Bulatova I.A., Salanova M.S., Ponimanskaya M.A., Desyatnik K.A., Panina O.B. Prediction of cesarean delivery after induction of labor using machine learning (Random Forest). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 49-61. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.6

ВВЕДЕНИЕ

Индукция родов (ИР) — это широко распространенная акушерская процедура, которая заключается в искусственной стимуляции маточных сокращений для начала родовой деятельности. В развитых странах мира у одной из пяти женщин проводится ИР, при этом частота родоразрешения путем операции кесарева сечения (КС) после ИР может превышать 50 % в некоторых группах [1, 2]. Неудачная ИР связана с повышенной материнской и перинатальной заболеваемостью, в связи с чем целесообразно проведение исследований для оценки вероятности успешной ИР.

В литературе широко представлены данные о статистическом анализе отдельных факторов и их влиянии на исход ИР [3–5]. Однако прогнозирование способа родоразрешения является сложной задачей, поскольку многочисленные факторы влияют на успех родов. Алгоритмы машинного обучения продемонстрировали потенциал в области предсказания способа родоразрешения, поскольку могут анализировать большие и сложные наборы данных, выявлять закономерности и нивелировать субъективность [6]. Для построения прогностической модели традиционно использовались модели логистической регрессии, однако, они не учитывают нелинейные взаимосвязи между факторами [7–9]. Алгоритм случайного леса (Random Forest), улавливающий нелинейные взаимосвязи, показывает более перспективные результаты [10].

На данный момент в клинической практике отсутствует высококачественная модель, учитывающая все особенности процедуры ИР, которая позволяет с высокой точностью прогнозировать исход родов. Доступные зарубежные исследования прогнозирования исхода ИР, использовавшие в обработке материала методы машинного обучения, посвящены оценке дородовых факторов риска и обладают недостаточно высокой предсказательной способностью [1, 2]. Нами предпринята попытка создания модели, прогнозирующей исход ИР, на основе случайного леса; подобного рода исследования в отечественной литературе нами не обнаружено. Отличием настоящего от существующих зарубежных аналогов является смещение акцентов с антенатальных факторов риска на интранатальные факторы риска (начальный этап ИР). По данным Guedalia J. et al., включение в модель интранатальных факторов риска, полученных в реальном времени на протяжении процесса родов, позволяют более точно оценить исходы родов [6]. Экспериментальное использование существующих прогностических моделей демонстрирует 6 % снижение риска материнских осложнений и 8 % снижение частоты КС [11]. Предполагаемая нами модель предназначена для прогнозирования риска кесарева сечения у женщин с доношенной одноплодной беременностью после ИР и для помощи акушерам-гинекологам при принятии решения о методе родоразрешения.

ЦЕЛЬ

Разработка, валидация и интерпретация прогностической модели для определения исхода индукции родов с одноплодной беременностью на основе методов машинного обучения.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования. Нами было проведено ретроспективное когортное исследование на основе госпитального регистра. Анализ медицинской документации проводился за период: июнь 2024 г. – июнь 2025 г. на базе Перинатального центра ГБУЗ «Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ» (Москва, Россия).

Критерии включения. В исследование вошли 1670 одноплодных беременных, которым при доношенной беременности (≥ 37 недель гестации) была проведена ИР путем амниотомии и введения окситоцина. ИР и преиндукция родов (ПИР) у всех пациенток проводилась согласно клиническим рекомендациям «Подготовка шейки матки к родам и родовозбуждение», утвержденным в 2024 г. Критериями не включения являлись тазовое предлежание плода, плановые КС, наличие внутриутробных пороков развития или генетических аномалий плода, антенатальная гибель плода на момент ИР, преждевременный разрыв плодных оболочек, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты.

Для анализа некоторых прогностических признаков, не доступных у всех 1670 пациенток, была сформирована случайная подвыборка из 444 пациенток с сохранением пропорции классов. Размер подвыборки формировался для достижения 80 % мощности; оценка была выполнена с использованием метода Хэнли – МакНила для сравнения двух коррелированных AUC (тест Делонга). Ключевые характеристики (возраст, паритет, срок гестации, частота ПИР, хронической и гестационной артериальной гипертензии, преэклампсии, гестационного сахарного диабета и других состояний) статистически не различались ($p > 0,15$) между подвыборкой ($n = 444$) и оставшейся частью когорты ($n = 1226$). Формирование выборки исследования показано на рис. 1.

Исходы исследования. Пациентки были разделены на две группы: успешная ИР (вагинальные роды) и неуспешная ИР (родоразрешение путем операции КС). В качестве прогностических признаков нами учитывались данные общего анамнеза: возраст матери, паритет, индекс массы тела (ИМТ) до беременности и перед родами. Также были проанализированы особенности течения настоящей беременности: необходимость ПИР, срок гестации, сопутствующие заболевания, предполагаемая масса плода по ультразвуковому исследованию (УЗИ). Для последующего анализа также были использованы интранатальные признаки: необходимость эпидуральной анестезии, продолжительность интервала

от начала индукции родов до развития регулярной родовой деятельности (ПНР). Данные были проверены на точность и полноту двумя независимыми исследователями. Данные о ИМТ, предполагаемой массе плода, необходимости эпидуральной анестезии, ПНР имелись только у подвыборки ($n = 444$), в связи с чем, анализ данных признаков проводился отдельно. Данные об остальных 14 признаках имелись у всех пациенток в общей выборке (без пропусков).

Этическая экспертиза. Все стадии исследования соответствуют законодательству Российской Федерации, международным этическим нормам и нормативным документам, а также одобрены локальным этическим комитетом ГБУЗ г. Москвы ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова (протокол № 20 от 22.01.2024).

Статистический анализ. Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью программного обеспечения JASP (2025, версия 0.19.3). Нормальность распределения результатов была проанализирована с помощью критерия Шапиро – Уилка. Численные и порядковые данные представлены: для нормального распределения – среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение (СО), для ненормального распределения – медиана и интерквартильный размах (медиана [Q1–Q3]). Для сравнения между группами использовались U-критерий Манна – Уитни для количественных и порядковых данных (существенных различий в разбросе и асимметрии формы

распределений в сравниваемых группах не обнаружено). Категориальные данные представлены в виде частот, для сравнения использовали критерий χ^2 и точный тест Фишера (при ожидаемых частотах < 5). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Машинное обучение. После статистического анализа была проведена нормализация данных путем стандартизации. Данные были разделены на обучающую (70 %) и тестовую (30 %) выборки с сохранением стратификации по исходу. Для анализа структуры данных использовался метод главных компонент (PCA). Отбор признаков производился на обучающей выборке путем вычисления важности признаков (feature importance) с помощью логистической регрессии, логистической регрессии с L1-регуляризацией (Lasso) и модели случайного леса (Random Forest, RF) для устранения неинформативных переменных. Была проведена проверка признаков на мультиколлинеарность. Далее была создана прогностическая модель с помощью алгоритма машинного обучения – случайный лес. Модель настраивалась и оптимизировалась с использованием поиска по сетке гиперпараметров, метрики F1 и индекса Юдена на основе внутренней 5-кратной стратифицированной кросс-валидации (k-fold cross-validation) на обучающей выборке. На этапах отбора признаков и построения моделей дисбаланс классов был учтён путём взвешивания классов (вес класса «КС» был установлен как 3, класса «роды через естественные родовые пути» – 1).

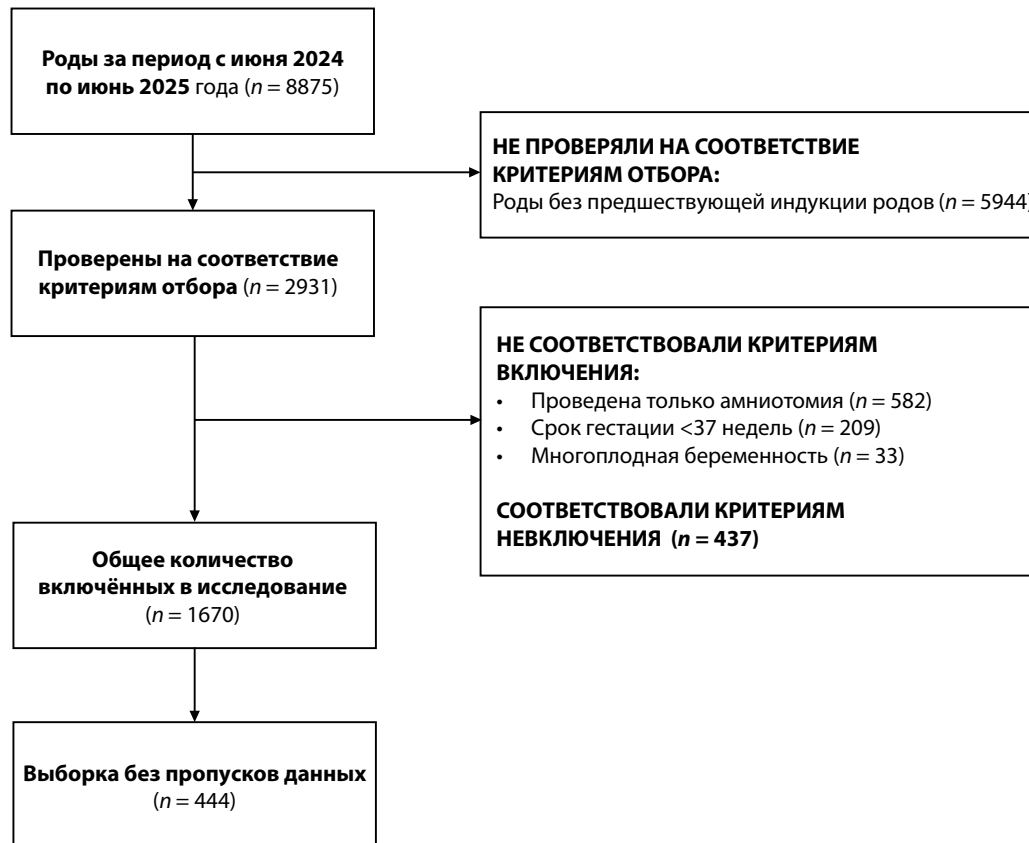


РИС. 1.
Последовательность формирования выборки исследования

FIG. 1.
Study participant flow diagram

Все этапы отбора признаков, настройки гиперпараметров и обучения модели выполнялись исключительно на обучающей выборке. Тестовая выборка использовалась однократно для итоговой оценки прогностической эффективности финальной модели. Для оценки дискриминационной способности моделей использовалась площадь под ROC-кривой (AUC-ROC) с 95% доверительными интервалами, чувствительность (recall), precision (точность), f1-мера (f1-score), анализ полезности (Net Benefit). Основным показателем модели была неуспешность ИР (родоразрешение путем КС). Для интерпретации важности признаков в наилучшей модели (случайный лес) использовались SHAP-анализ. Анализ данных был выполнен с использованием Python (библиотеки scikit-learn, SHAP).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование было включено 1670 беременных. Из них 1318 (78,9 %) родили через естественные родовые пути, а 352 (21,1 %) – путем КС. Основными показателями к КС являлись первичная слабость родовой деятельности у 57 %, вторичная слабость родовой деятельности у 23 %, патологический сердечный ритм плода у 11 %, клинически узкий таз у 5 %, иные причины – 4 % пациентов. Демографические, анамнестические

и клинические характеристики пациенток представлены в табл. 1.

Женщины, у которых роды завершились путем КС, имели статистически значимо более высокий ИМТ, большую предполагаемую массу плода по данным УЗИ, чаще были первородящими и требовали ПИР ($p < 0,05$). Такие признаки как возраст матери, умеренная преэклампсия, хроническая артериальная гипертензия, внутриспеченочный холестаз беременных хоть и не достигали статистической значимости, являются потенциально важными для прогноза исхода ИР [1, 7, 9]. По остальным показателям группы были сопоставимы.

Особенности течения ИР и исходы для матери и новорожденного приведены в табл. 2. У пациенток с последующим КС отмечался более длительный ПНР (медиана 180 мин против 60 мин при вагинальных родах, $p < 0,001$), а также менее часто требовалась эпидуральная анестезия.

Предварительный анализ структуры данных. Для поиска информативных предикторов КС на 1670 пациентках был проведен анализ 18 потенциальных признаков, включающих анамнестические факторы, данные текущей беременности и интранатальные показатели, которые могли бы быть доступны до принятия решения о завершении родов путем КС. После стандартизации был использован метод главных компонент. Метод показал, что первые две компоненты

ТАБЛИЦА 1
ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ, АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БЕРЕМЕННЫХ, ПРОШЕДШИХ ИНДУКЦИЮ РОДОВ

TABLE 1
DEMOGRAPHIC, OBSTETRIC, AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF PREGNANT WOMEN WHO UNDERWENT INDUCTION OF LABOR

Показатель	Вагинальные роды (n=1318)	Кесарево сечение (n=352)	p
Возраст матери, лет	31 [26–35]	31 [27–36]	0,1
Индекс массы тела матери*, кг/м ²	28,3 [25,3–32,2]	29,7 [27,2–33,7]	0,005
Первородящие, n	901 (68,4%)	317 (90,1%)	<0,001
Срок гестации при индукции родов, дней	280 [273–287]	280 [273–287]	0,9
Предполагаемая масса плода по УЗИ*, граммов	3550 [3200–3881]	3725 [3300–4027]	0,013
Необходимость преиндукции родов, n	721 (54,7%)	278 (79,0%)	<0,001
Особенности течения настоящей беременности			
Умеренная преэклампсия, n	87 (6,6%)	31 (8,8%)	0,151
Гестационная артериальная гипертензия, n	154 (11,7%)	40 (11,4%)	0,867
Хроническая артериальная гипертензия, n	92 (7,0%)	35 (10,0%)	0,062
Гестационный сахарный диабет или имеющийся ранее сахарный диабет, n	354 (26,9%)	82 (23,3%)	0,176
Крупный плод, n	44 (3,3%)	6 (1,7%)	0,110
Маловодие, n	58 (4,4%)	21 (6,0%)	0,219
Многоводие, n	79 (6,0%)	17 (4,8%)	0,404
Внутриспеченочный холестаз беременных, n	42 (3,2%)	5 (1,4%)	0,075
Задержка роста плода, n	31 (2,4%)	7 (2,0%)	0,685

Примечания: данные представлены в виде медианы [интерквартильный размах] или частот (%). Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.
* – значение показано для группы 444 пациентки.

описывали только 22,8 % вариативности и наиболее тесно связаны с такими факторами как возраст матери, срок гестации, паритет, необходимость ПИР, гестационный сахарный диабет, умеренная преэклампсия. Для накопления > 85 % дисперсии требовалось 11 компонент. Визуализация в пространстве двух главных компонент, показанная на рис. 2, а также первых трёх главных компонент, не выявила чётких обособленных групп пациенток с различным исходом. В сочетании

с низкой долей объяснённой дисперсии это указывает на сложную многомерную структуру данных, плохо поддающуюся описанию линейными методами. Данное наблюдение послужило аргументом в пользу применения нелинейных алгоритмов машинного обучения.

Далее, для отбора важных признаков использовались три метода: оценка важности признаков (feature importance) на основе логистической регрессии, логистической регрессии с L1-регуляризацией и метода

ТАБЛИЦА 2
ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ИНДУКЦИИ РОДОВ И ИСХОДОВ БЕРЕМЕННОСТИ ДЛЯ МАТЕРИ И РЕБЕНКА

TABLE 2
LABOR INDUCTION CHARACTERISTICS AND MATERNAL AND NEONATAL OUTCOMES

Показатель	Вагинальные роды (n=1318)	Кесарево сечение (n=352)	p
Продолжительность интервала от начала индукции родов до развития регулярной родовой деятельности*, минут	60 [26–139]	180 [110–240]	<0,001
Продолжительность безводного промежутка*, минут	542 [398–703]	777 [627–957]	<0,001
Необходимость эпидуральной анестезии во время родов*, n	212 (70,9%)	87 (60,0%)	0,022
Дистресс плода во время родов, n	126 (9,6%)	84 (23,9%)	<0,001
Новорожденные			
Масса новорожденного, граммов	3510 [3213–3800]	3645 [3300–3950]	<0,001
Макросомия, n	178 (13,5%)	79 (22,4%)	<0,001
Госпитализация в ОРИТН, n	18 (1,4%)	7 (2,0%)	0,393
Оценка по шкале Апгар на 1-й мин ≤7, n	58 (4,4%)	25 (7,1%)	0,008
Оценка по шкале Апгар на 5-й мин ≤7, n	6 (0,5%)	2 (0,6%)	0,045

Примечания: данные представлены в виде медианы [интерквартильный размах] или частот (%). Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия. ОРИТН – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных. * – значение показано для группы 444 пациентки.

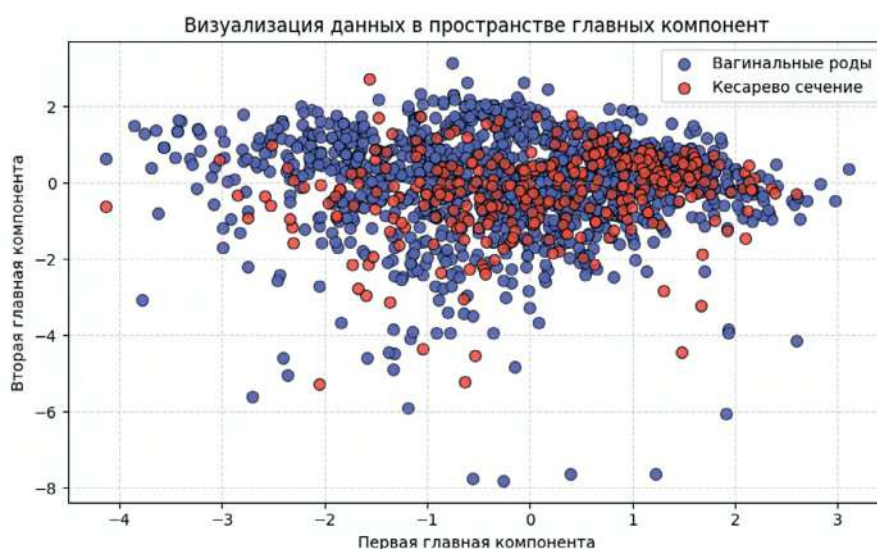


РИС. 2.
Визуализация данных в пространстве первых двух главных компонент. Каждая точка соответствует отдельному наблюдению

FIG. 2.
Data visualization in the space of the first two principal components. Each point represents a single observation

случайного леса. В связи с ограниченной доступностью отдельных прогностических признаков, первоначальный поиск значимых предикторов был проведен среди 14 признаков в общей когорте ($n = 1670$). Результаты наиболее важных 7 признаков из 14 в общей когорте представлены в табл. 3.

Для окончательного отбора предикторов был выполнен аналогичный анализ на подвыборке из 444 женщин с полными данными по всем 18 признакам (добавленные признаки: предполагаемая масса плода по УЗИ, ИМТ матери, необходимость эпидуральной анестезии, ПНР). Результаты показаны в табл. 4.

ТАБЛИЦА 3

НАИБОЛЕЕ ВАЖНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ РОДОВ В ОБЩЕЙ КОГОРТЕ ($n = 1670$) ПО ДАННЫМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОТБОРА ПРИЗНАКОВ

TABLE 3

THE MOST IMPORTANT PREDICTORS OF CESAREAN DELIVERY AFTER INDUCTION OF LABOR IN THE OVERALL COHORT ($n = 1,670$) ACCORDING TO VARIOUS FEATURE SELECTION METHODS

	Логистическая регрессия (β -коэффициент)	Логистическая регрессия с L1-регуляризацией (β -коэффициент)	Случайный лес (относительная важность признака)
Паритет	-0,720	-0,706	0,073
Необходимость преиндукции родов	0,486	0,481	0,065
Возраст матери	0,367	0,357	0,358
Гестационный сахарный диабет	-0,313	-0,268	0,034
Внутрипеченочный холестаз беременных	-0,196	-0,188	–
Срок гестации	-0,191	-0,175	0,355
Задержка роста плода	-0,148	-0,164	–
Гестационная артериальная гипертензия	–	–	0,019
Хроническая артериальная гипертензия	–	–	0,019

Примечания: в таблице указаны в порядке убывания значения важности признаков для логистической регрессии, логистической регрессии с L1-регуляризацией, случайного леса. «–» означает, что признак не вошел в 7 наиболее важных признаков соответствующей модели.

ТАБЛИЦА 4

НАИБОЛЕЕ ВАЖНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ РОДОВ В ПОДВЫБОРКЕ ($n = 444$) ПО ДАННЫМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОТБОРА ПРИЗНАКОВ

TABLE 4

THE MOST IMPORTANT PREDICTORS OF CESAREAN DELIVERY AFTER INDUCTION OF LABOR IN THE COMPLETE-CASE COHORT ($n = 444$) ACCORDING TO VARIOUS FEATURE SELECTION METHODS

	Логистическая регрессия (β -коэффициент)	Логистическая регрессия с L1-регуляризацией (β -коэффициент)	Случайный лес (относительная важность признака)
Продолжительность интервала от начала индукции родов до развития регулярной родовой деятельности	0,981	0,853	0,324
Паритет	-0,861	-0,734	0,043
Предполагаемая масса плода	0,854	0,688	0,173
Необходимость преиндукции родов	0,559	0,509	0,045
Срок гестации	-0,514	-0,293	0,091
Крупный плод	-0,488	-0,340	–
Возраст матери	0,466	0,371	0,094
Индекс массы тела матери	–	–	0,122

Примечания: в таблице указаны в порядке убывания значения важности признаков для логистической регрессии, логистической регрессии с L1-регуляризацией, случайного леса. «–» означает, что признак не вошел в 7 наиболее важных признаков соответствующей модели.

ИМТ матери не вошел в 7 наиважнейших признаков по результатам логистической регрессии и L1-регуляризации, однако был на 9 месте с результатом 0,335 и 0,275 соответственно.

После удаления сильно коррелирующих признаков (диагноз: крупный плод, задержка роста плода) и признаков с важностью $< 0,01$, а также объединения некоторых признаков в единую переменную (гестационная и хроническая артериальная гипертензия, умеренная преэклампсия) на подвыборке в 444 пациентки была дополнительно проведена L1-регуляризация, а также выбранные признаки были проверены на мультиколлинеарность (фактор инфляции дисперсии < 2 – мультиколлинеарность отсутствует).

Построение и оценка прогностической способности модели. Для построения финальной модели на подвыборке ($n = 444$) было отобрано 7 признаков (указаны в порядке значимости): ПНР, паритет, предполагаемая масса плода, необходимость ПИР, возраст матери, ИМТ матери, срок гестации. Финальная прогностическая модель была построена с использованием алгоритма случайного леса. Гиперпараметры настраивались

на обучающей выборке (5-кратная стратифицированная кросс-валидация) и составляли количество деревьев – 1500, минимальное число образцов для разделения узла – 10, минимальное число образцов в листе – 4; для учёта дисбаланса классов применена настройка весов в пользу исхода КС (1:3), порог классификации – 0,543. Финальная модель была применена к отложенной тестовой выборке (внутренняя валидация). На тестовой выборке ROC-анализ продемонстрировал высокую дискриминационную способность: AUCROC составила 0,904 (95% ДИ 0,846–0,951), что характеризует модель как отличную. Результаты работы модели отражены на рис. 3.

Точность модели при внутренней валидации составила 84,3 %, полезность модели (Net Benefit) – 0,184. Дополнительные показатели качества модели представлены в табл. 5.

Для преодоления эффекта «черного ящика», что критически важно для оценки модели с клинической точки зрения, была проведена интерпретация модели с помощью SHAP-анализа (рис. 4). С наиболее высокой вероятностью КС связаны более высокие

ТАБЛИЦА 5

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА МОДЕЛИ НА ТЕСТОВОЙ ВЫБОРКЕ

	Точность (precision)	Чувствительность (recall)	f1-мера (f1-score)
Класс «вагинальные роды»	0,88	0,92	0,90
Класс «кесарево сечение»	0,82	0,75	0,79

TABLE 5

MODEL PERFORMANCE METRICS ON THE TEST SET

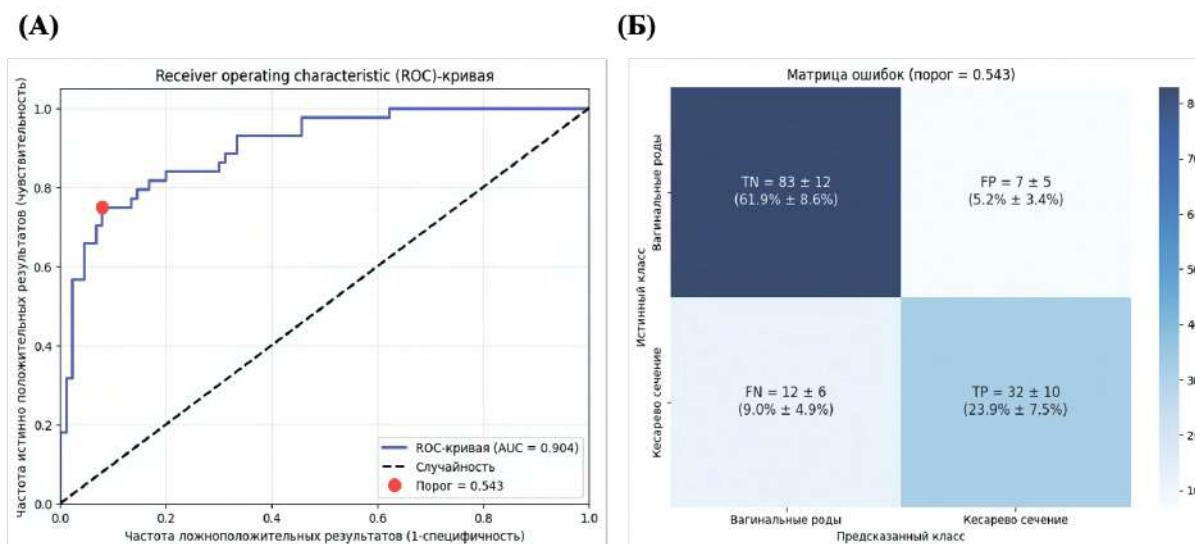
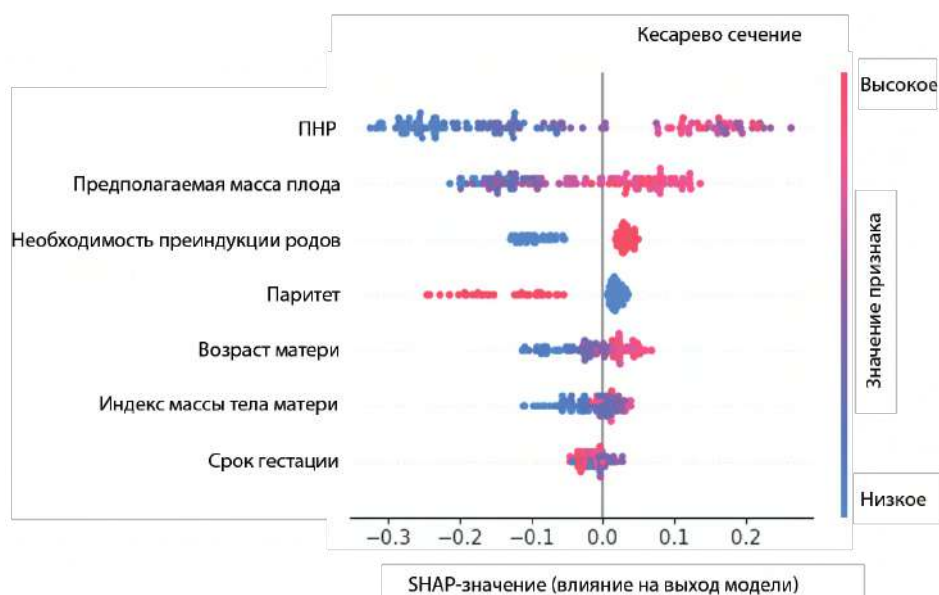


РИС. 3.

Оценка эффективности прогностической модели для прогнозирования кесарева сечения после индукции родов. (А) ROC-кривая для модели по 7 признакам; (Б) матрица ошибок для модели случайного леса с использованием 7 признаков (TN – истинно отрицательные, FN – ложноотрицательные, FP – ложноположительные, TP – истинно положительные исходы).

FIG. 3.

Evaluation of predictive model performance for predicting cesarean section after induction of labor. (A) ROC curve for the 7-feature model; (B) Confusion matrix for the random forest model using 7 features (TN – true negative, FN – false negative, FP – false positive, TP – true positive outcomes).



Примечание: SHAP-график показывает влияние каждого признака на прогноз модели в порядке убывания важности. По оси ординат: более высокие значения признака отмечены красным цветом, более низкие – синим. По оси абсцисс отложены SHAP-значения, отражающие вклад каждого признака в прогноз модели. Каждая точка представляет отдельный случай. ПНР – продолжительность интервала от начала индукции родов до развития регулярной родовой деятельности. **Note.** The SHAP plot shows the impact of each feature on the model prediction in descending order of importance. The y-axis: higher feature values are shown in red, lower values in blue. The x-axis shows SHAP values reflecting the contribution of each feature to the model prediction. Each point represents an individual case. TIRC – time interval from IOL initiation to the onset of regular uterine contractions.

РИС. 4.

SHAP-анализ наиболее влиятельных признаков в модели случайного леса

FIG. 4.

SHAP analysis of the most influential features in the random forest model

значения ПНР, предполагаемая масса плода, возраст и ИМТ, первые роды и необходимость ПИР. Направление влияния факторов соответствует клиническим ожиданиям.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования разработана и внутренне валидирована прогностическая модель на основе алгоритма случайного леса, позволяющая с высокой дискриминационной способностью (AUC-ROC 0,904) предсказывать риск КС после ИР. Модель включает семь клинически доступных признаков, среди которых наибольший вклад в прогноз вносит ПНР. Достигнутый баланс чувствительности (75 %) и специфичности (92 %) обеспечивает клинически приемлемое соотношение выявления истинных случаев КС и естественных родов. Использование SHAP-анализа позволило интерпретировать индивидуальные прогнозы, что является критически важным для принятия клинических решений.

В настоящем исследовании разработана и валидирована прогностическая модель риска КС после ИР на основе данных о 1670 беременностях и родах. Исследование проводилось на базе данных, включающей исключительно роды после ИР без предшествующего отбора групп риска, чтобы предотвратить смещения модели. Для построения прогностической модели был

выбран алгоритм случайного леса, вместо традиционно используемых моделей логистической регрессии [1, 8, 9]. Использование случайного леса основано на выявленных нами нелинейных взаимосвязях между признаками (PCA), а также из-за наличия в выборке естественного дисбаланса в наборе данных (у 78,9 % женщин – вагинальные роды после ИР). Наша модель продемонстрировала высокую прогностическую ценность с площадью под ROC-кривой 0,904 (95% ДИ 0,846–0,951) при внутренней валидации, что превышает опубликованные результаты для прогнозирования КС после ИР [1, 7, 12]. Одна из самых известных моделей, разработанная Rossi R.M. et al., возможна для определения группы высокого риска необходимости операции КС, однако из-за низкой чувствительности в группе высокого риска не позволяет оптимизировать тактику ведения этих пациенток (AUC-ROC 0,787) [1]. В работе Huang K. et al., получилось достигнуть площади под ROC-кривой 0,983, но исследование проведено на малой выборке женщин с гипертензивными расстройствами во время беременности [10].

В нашей модели мы стремились добиться баланса между чувствительностью и специфичностью, так как в клинической практике важно не только избежать ложноотрицательных, но и ложноположительных прогнозов. Модели, достигающие высокой точности, хорошо предсказывают больший по численности класс (вагинальные роды), но часто недооценивают вероятность КС (до 35 %) [8].

Выбранное соотношение чувствительности (75 %) и специфичности (92 %) нацелено на подтверждение низкого риска КС у пациентки при сомнениях врача о необходимости продолжения ИР. Высокая специфичность важна, поскольку она с достаточной уверенностью исключает женщин, у которых не будет КС. В таком случае мы снижаем частоту ложноположительных результатов, и переход к КС является способом родоразрешения до развития осложнений, которые приведут к более позднему КС с худшими исходами для матери и ребенка. Данный подход выбирается и другими авторами. Например, Ferreira I. et al., сохраняли баланс между специфичностью и чувствительностью на уровне 91 % и 76 % соответственно [2]. При выбранном пороге модель обеспечивает необходимый клинический компромисс (Net Benefit 0,184) между стратегией «роды только путем КС» (Net Benefit -0,469) и «только вагинальные роды» (Net Benefit 0,000). Таким образом, использование модели позволяет дополнительно верно классифицировать 184 случая на 1000 родоразрешений по сравнению со стратегией «только вагинальные роды».

Сравнение с другими прогностическими моделями может быть затруднительно из-за различий в дизайне исследования – нашей целью было повышение точности модели по сравнению с имеющимися за счет введение новых прогностических признаков и снижения числа используемых признаков. Ferreira I. et al., использовали 90 признаков для построения прогностической модели, однако в этом случае повышается риск переобучения и снижается устойчивость модели [2]. Сокращение числа признаков также повышает возможность для дальнейшей внешней валидации, так как упрощает сбор данных.

Полученные нами данные об основных прогностических факторах исхода ИР, таких как паритет, возраст матери, ИМТ матери, согласуются с данными литературы [1, 2]. Вагинальные роды чаще встречаются у повторнородящих молодых пациенток без ожирения. Rossi R.M. et al., использовали такие признаки, как паритет, масса тела, рост, раса и возраст матери, срок гестации на момент ИР. Полученная ими модель на основе логистической регрессии достигла AUC-ROC 0,783 на внешней валидации [1]. Отечественными авторами также были показаны значимые ассоциации между риском КС и поздним репродуктивным возрастом, высоким ИМТ и первыми родами [3, 4, 13].

Нами было принято решение об использовании этого признака на основе методов поиска важных признаков, а также как маркера, объединяющего другие признаки, такие как крупный плод (слабо повышает риск КС) и задержка роста плода (слабо снижает риск КС). «Предполагаемая масса плода по УЗИ» является достаточно дискуссионным прогностическим признаком. В частности, само знание врачом о наличии макросомии у плода может склонить его в сторону принятия решения о КС [14]. Kamlungkuea T. et al., указывают на порог в 3500 граммов, после которого риск КС возрастает [9]. Huang K. et al., также включили предполагаемую массу

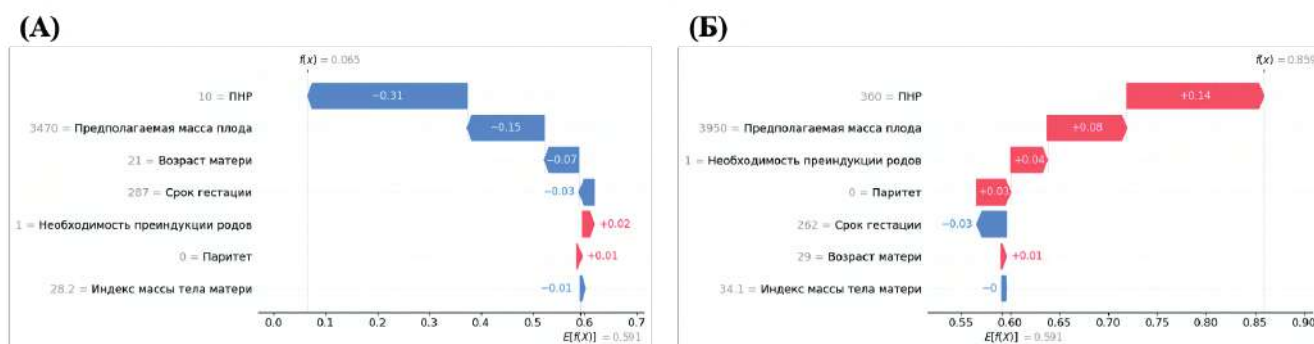
плода в свою прогностическую модель, причем данный признак являлся вторым по важности признаком после длительности введения окситоцина при ИР [10].

В разработанной нами модели наибольший вклад в прогноз внёс новый интранатальный фактор – ПНР. Этот показатель, отражающий эффективность ИР на начальном этапе, позволяет не принимать решение об оперативном родоразрешении до начала ИР. Включение данного временного периода в прогностическую модель позволит врачам принять решение о необходимости КС до диагностики дистресса плода или возникновения других осложнений. Интересно, что даже после включения этого показателя классические предикторы сохранили самостоятельное прогностическое значение.

В качестве дополнительного фактора нами был выбран признак «необходимость ПИР» вместо чаще используемой балльной оценки по шкале Бишоп. Необходимость ПИР является прогностическим фактором неуспешной ИР. Большинство исследователей сходится во мнении, что оценка готовности шейки матки к родам с помощью шкалы Бишоп является относительно субъективной оценкой [9, 15, 16]. Несмотря на это, незрелая шейка матки ассоциирована с повышенным риском КС [13]. Превращение этого фактора в бинарный признак повышает его прогностическую точность. В нашем исследовании даже при необходимости ПИР, т.е. низкой балльной оценке по шкале Бишоп, возможны вагинальные роды. Этому способствуют повторные роды, более низкий ИМТ и возраст матери, что соответствует данным D'Souza R. et al., исследовавшим только пациенток с показателем шкалы Бишоп < 4 баллов на момент ПИР [12].

Необходимо отметить факторы, которые не вошли в финальную модель, но могут иметь значения на выборке большего размера. Наличие гестационного сахарного диабета и внутрипеченочного холестаза беременных снижало риск КС, что может быть связано с повышенной чувствительностью миометрия к окситоцину [17]. Возможно, не наличие самого диагноза, а срок родоразрешения (38–40 недель гестации) повышали благоприятный прогноз. Дополнительного рассмотрения требует наличие гипертензивных расстройств во время беременности, которые по данным литературы могут быть связаны с риском КС [18]. Из-за небольшого числа пациенток в данными заболеваниями, эти признаки не достигли статистической значимости и не были отобраны методами поиска.

Разработанная модель использует доступные признаки (возраст и ИМТ матери, паритет, срок гестации, предполагаемая масса плода по УЗИ, необходимость ПИР и ПНР) и является хорошо интерпретируемой благодаря SHAP-анализу. SHAP-анализ представляет вклад каждого признака для конкретной пациентки, позволяя получить не только бинарную оценку (успешная/неуспешная ИР), но понимание о индивидуальном риске КС, что критически важно для внедрения модели в клиническую практику. Пример для обоих исходов представлен на рис. 5.



Примечания: (А) Пациентка с низким риском кесарева сечения; (Б) пациентка с высоким риском кесарева сечения. Визуализация вклада признаков в предсказание модели с использованием SHAP-значений. Для каждого признака указано его фактическое значение и направление влияния (красный – увеличение вероятности кесарева сечения, синий – уменьшение). $E[f(X)]$ – базовое предсказание модели, $f(x)$ – фактическое предсказание модели. ПНР – продолжительность интервала от начала индукции родов до развития регулярной родовой деятельности.

Notes. (A) Patient with low risk of cesarean section; (B) Patient with high risk of cesarean section. Visualization of feature contributions to the model prediction using SHAP values. For each feature, the actual value and the direction of influence are shown (red – increasing the probability of cesarean section, blue – decreasing). $E[f(X)]$ – baseline model prediction, $f(x)$ – actual model prediction. TIRC – time interval from IOL initiation to the onset of regular uterine contractions.

РИС. 5.

Примеры индивидуальных прогнозов для двух исходов

FIG. 5.

Examples of individual predictions for two outcomes

Ограничением исследования являлся относительно маленький размер финальной выборки и отсутствие внешней валидации (данные получены из одной клиники). Ключевыми сильными сторонами нашей модели являются ее дизайн и выбор порога классификации. После внешней валидации и разработки удобного пользовательского инструмента для расчёта индивидуального риска, полученная прогностическая может быть использована для оптимизации тактики ведения пациенток в процессе ИР и помощи в принятии обоснованных решений в отношении метода родоразрешения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предшествующие исследования показали, что исход ИР определяется сложным взаимодействием множества факторов, и традиционные модели на основе логистической регрессии, как правило, обладают ограниченной дискриминационной способностью.

В настоящем исследовании на основе данных 1670 родов нами были обнаружены нелинейные взаимосвязи между признаками и разработана модель на основе алгоритма случайного леса. С помощью методов логистической регрессии, случайного леса, L1-регуляризации были отобраны наиболее значимые для прогнозирования исхода ИР признаки: ПНР, паритет, предполагаемая масса плода по УЗИ, необходимость ПИР, возраст матери, ИМТ матери, срок гестации. Финальная прогностическая модель, созданная на основе простых анамнестических и клинических признаках, продемонстрировала отличные показатели AUC-ROC 0,904 (95% ДИ 0,846–0,951), чувствительности (75 %), специфичности (92 %) и клинической полезности (Net Benefit 0,184). Благодаря SHAP-анализу получена интерпретация финальной модели, что уже сейчас может служить вспомогательным инструментом для врача при выборе

тактики ведения пациентки во время ИР. Полученные результаты показывают эффективность машинного обучения и использования интранатальных факторов для создания еще более эффективного инструмента для прогнозирования исходов ИР.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rossi RM, Requarth E, Warshak CR, Dufendrach KR, Hall ES, DeFranco EA. Risk Calculator to Predict Cesarean Delivery Among Women Undergoing Induction of Labor. *Obstet Gynecol.* 2020; 135(3): 559–568. doi: 10.1097/AOG.0000000000003696
- Ferreira I, Simões J, Correia J, Areia AL. Predicting vaginal delivery after labor induction using machine learning: Development of a multivariable prediction model. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2025; 104(1): 164–173. doi: 10.1111/aogs.14953
- Султанмуратова Д.Д., Исенова С.Ш., Казыбаева А.С., Нурбаева Т.Ю., Наханова Ж.К. Модель прогнозирования кесарева сечения при индукции родов в доношенном сроке беременности. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2024; 23(1): 117–122. [Sultanmuratova DD, Issenova SSh, Kazybayeva AS, Nurbayeva TYu, Nakhanova ZhK. Predictive model for cesarean section following labor induction at full-term pregnancy. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology.* 2024; 23(1): 117–122. (In Russ.). doi: 10.20953/1726-1678-2024-1-117-122
- Грищенко О.В., Мамедова С.Ш. Прогнозирование слабости родовой деятельности, ставшей причиной кесарева сечения. *Репродуктивная медицина.* 2020; 2(43): 56–59. [Grishchenko OV, Mamedova S. Prognostication la-

bor dystocia and cesarean section. *Reproductive medicine*. 2020; 2(43): 56–59. (In Russ.). doi: 10.37800/RM2020-1-14

5. Гурьев Д.Л. и др. Оценка эффективности индукции родов в стационаре. *РМЖ. Мать и дитя*. 2020; 3(1): 10–16. [Guryev DL, et al. The assessment of labor induction efficacy in inpatient department. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2020; 3(1): 10–16. (In Russ.). doi: 10.32364/2618-8430-2020-3-1-9-15]

6. Guedalia J, Lipschuetz M, Novoselsky-Persky M, Cohen SM, Rottenstreich A, Levin G, et al. Real-time data analysis using a machine learning model significantly improves prediction of successful vaginal deliveries. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 223(3): 437.e1–437.e15. doi: 10.1016/j.ajog.2020.05.025

7. Levine LD, Downes KL, Parry S, Elovitz MA, Sammel MD, Srinivas SK. A validated calculator to estimate risk of cesarean after an induction of labor with an unfavorable cervix. *Am J Obstet Gynecol*. 2018; 218(2): 254.e1–254.e7. doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.603

8. Hu T, Du S, Li X, et al. Establishment of a model for predicting the outcome of induced labor in full-term pregnancy based on machine learning algorithm. *Sci Rep*. 2022; 12(1): 19063. doi: 10.1038/s41598-022-21954-2

9. Kamlungkuea T, Manonai J, Suriyawongpaisal P, Hansahiranwadee W. Factors Predicting Successful Vaginal Delivery Following Induction of Labor in Term Pregnancy. *Int J Womens Health*. 2022; 14: 245–255. doi: 10.2147/IJWH.S347878

10. Huang K, Liu Z, Luo J, Li X, Yan J. Random Forest Model for Labor Induction in Pregnant Women With Hypertensive Disorders Using a Cervical Double Balloon. *Altern Ther Health Med*. 2023; 29(1): 44–51.

11. Hamm RF, Srinivas SK, Levine LD, et al. Maternal morbidity and birth satisfaction after implementation of a validated calculator to predict cesarean delivery during labor induction. *JAMA Network Open*. 2020; 3(11): e2025582. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.25582

12. D'Souza R, Doyle O, Miller H, Pillai N, Angehrn Z, Li P, et al. Prediction of successful labor induction in per-

sons with a low Bishop score using machine learning: Secondary analysis of two randomized controlled trials. *Birth*. 2023; 50(1): 234–243. doi: 10.1111/birt.12691

13. Васильев С.А. и др. Метод прогнозирования исхода индуцированных родов с учетом комплексной оценки шейки матки. *Репродуктивное здоровье. Восточная Европа*. 2021; 11(4): 397–409. [Vasiliev S. Method for Prediction of the Outcome of Induction of Labor, Taking into Account the Comprehensive Assessment of the Cervix of the Uterin. *Reproductive health. Eastern Europe*. 2021; 11(4): 397–409 (In Russ.). doi: 10.34883/Pl.2021.11.4.002]

14. Bushman ET, Thompson N, Gray M, Steele R, Jenkins SM, Tita AT, et al. Influence of Estimated Fetal Weight on Labor Management. *Am J Perinatol*. 2020; 37(3): 252–257. doi: 10.1055/s-0039-1695011

15. Мудров В.А. Возможности прогнозирования аномалий родовой деятельности. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2020; 69(5): 13–26. [Mudrov VA. Possibilities for predicting abnormal labor at the present stage. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2020; 69(5): 13–26. (In Russ.). doi: 10.17816/JOWD69513-26]

16. Баранова М.В. и др. Перспективы проведения индукции родов окситоцином в течение 12 часов (опыт перинатального центра). *Пермский медицинский журнал*. 2024; 41(1): 114–119. [Baranova MV, et al. Prospects for induction of labor with oxytocin within 12 hours (perinatal center experience). *Perm Medical Journal*. 2024; 41(1): 114–119. (In Russ.). doi: 10.17816/pmj411114119]

17. Ma Z, Liu Y, Chai L, Jin G, Sun Y, Zhou S, et al. Metabolic changes in bile acids with pregnancy progression and their correlation with perinatal complications in intrahepatic cholestasis of pregnant patients. *Sci Rep*. 2023; 13(1): 1608. doi: 10.1038/s41598-022-22974-8

18. Bregand-White JM, Kominiarek MA, Hibbard JU. Hypertension and patterns of induced labor at term. *Pregnancy Hypertens*. 2017; 10: 57–63. doi: 10.1016/j.preghy.2017.06.003

Сведения об авторах

Булатова Инга Акововна – аспирант, стажер-исследователь отдела гинекологии и репродуктивной медицины Медицинского научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова»; e-mail: inga5797@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-9263-9068>

Саланова Мадина Шералиевна – студент факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова»; e-mail: madina.salanova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-8594-5129>

Пониманская Мария Александровна – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по акушерско-гинекологической помощи Городской клинической больницы № 67 им. Л.А. Ворохобова; e-mail: ponimanskayama@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9447-110X>

Десятник Кирилл Александрович – заведующий отделением патологии беременных Городской клинической больницы № 67 им. Л.А. Ворохобова; e-mail: kirilldes1994@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6758-2605>

Панина Ольга Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом гинекологии и репродуктивной медицины, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии Медицинского научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова»; e-mail: olgapanina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1397-6208>

Information about the authors

Inga A. Bulatova – postgraduate student, junior researcher of the Department of Gynecology and Reproductive Medicine, Lomonosov Moscow State University, Medical Research and Educational Institute; e-mail: inga5797@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-9263-9068>

Madina S. Salanova – student of the Faculty of medicine, Lomonosov Moscow State University, Medical Research and Educational Institute; e-mail: madina.salanova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-8594-5129>

Maria A. Ponimanskaya – Cand. Sc. (Med.), deputy chief physician for obstetric and gynecological care, Vorokhobov City Clinical Hospital № 67; e-mail: ponimanskayama@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9447-110X>

Kirill A. Desyatnik – Head of the Department of pregnancy pathology, Vorokhobov City Clinical Hospital № 67; e-mail: kirilldes1994@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6758-2605>

Olga B. Panina – Dr. Sc. (Med.), professor, head of the Department of Gynecology and Reproductive Medicine, head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Lomonosov Moscow State University, Medical Research and Educational Institute; e-mail: olgapanina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1397-6208>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОНСТИТУТИВНОЙ И ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ СИСТЕМ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА L1 ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА 18 ТИПА В *KLUYVEROMYCES LACTIS*

**Рар А.А.,
Волосникова Е.А.,
Беленькая С.В.,
Гогина Я.С.,
Щербаков Д.Н.**

ФБУН «Государственный научный
центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор» Роспотребнадзора (630559,
р.п. Кольцово, Новосибирская область,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Рар Анастасия Анатольевна
e-mail: rar_aa@vector.nsc.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Использование профилактических вакцин против ВПЧ показало эффективность в снижении заболеваемости раком шейки матки. Дрожжи *Kluyveromyces lactis* являются перспективной платформой для получения рекомбинантных вакцинных антигенов благодаря статусу GRAS, наличию эукариотической системы посттрансляционных модификаций и низкой стоимости питательных сред.

Цель исследования. Разработка штамма-продуцента на основе *Kluyveromyces lactis* для получения рекомбинантного белка L1 вируса папилломы человека 18 типа.

Материалы и методы. Для экспрессии гена L1 ВПЧ 18 типа сконструированы два интеграционных вектора. Первый – pOG-HPV18 с конститутивным промотором GAP, второй – pKB-HPV18 с индуцибельным промотором LAC4. Полученными векторами трансформировали клетки *K. lactis* методом электропорации. Культивирование рекомбинантных штаммов проводили на среде YEPm. Индукцию синтеза белка для штамма *K. lactis* / pKB-HPV18 проводили с помощью лактозы. Целевой белок из клеточных лизатов выделяли методом ионообменной хроматографии (SP Sepharose). Идентификацию белка проводили с помощью хромато-масс-спектрометрии. Эксперименты выполнены в трех биологических повторностях. Статистическую значимость различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты. Получены штаммы-продуценты для обеих конструкций. Выход биомассы для *K. lactis* / pOG-HPV18 составил 20 г/л, для *K. lactis* / pKB-HPV18 – 34 г/л. Степень чистоты целевого белка после одной стадии очистки достигла 70–80 % для конститутивной системы и приблизилась к 90 % для индуцибельной системы. Методом хромато-масс-спектрометрии подтверждена идентичность и структурная целостность полученного белка.

Заключение. Сконструированы два штамма-продуцента *K. lactis*, обеспечивающие синтез белка L1 ВПЧ 18 типа. Система с индуцибельным промотором LAC4 показала более высокий выход биомассы и степень чистоты целевого белка по сравнению с конститутивной системой. Полученные результаты создают основу для дальнейшей разработки доступной системы продукции вакцинного антигена ВПЧ 18 типа.

Ключевые слова: *Kluyveromyces lactis*, вирус папилломы человека, ВПЧ 18 типа, рекомбинантный белок L1, экспрессия, индуцибельный промотор, вирусоподобные частицы

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 10.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Рар А.А., Волосникова Е.А., Беленькая С.В., Гогина Я.С., Щербаков Д.Н. Сравнительная характеристика конститутивной и индуцибельной систем экспрессии белка L1 вируса папилломы человека 18 типа в *Kluyveromyces lactis*. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 62-70. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.7

COMPARATIVE CHARACTERIZATION OF CONSTITUTIVE AND INDUCIBLE EXPRESSION SYSTEMS FOR HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 18 L1 PROTEIN IN *KLUYVEROMYCES LACTIS*

Rar A.A.,
Volosnikova E.A.,
Belenkaya S.V.,
Gogina Ya.S.,
Shcherbakov D.N.

State Research Center of Virology and
Biotechnology «Vector», Federal Service
for Surveillance on Consumer Rights
Protection and Human Well-being
(Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasiya A. Rar
e-mail: rar_aa@vector.nsc.ru

ABSTRACT

Background. The use of prophylactic HPV vaccines has demonstrated effectiveness in reducing the incidence of cervical cancer. The yeast *Kluyveromyces lactis* is a promising platform to produce recombinant vaccine antigens, owing to its GRAS status, eukaryotic post translational modification capabilities, and the low cost nutrient media.

Aim. To develop a producer strain based on *Kluyveromyces lactis* for the production of recombinant human papillomavirus type 18 L1 protein.

Materials and Methods. For the expression of the HPV18 L1 gene, two integrative vectors were constructed. The first, pKB-HPV18, with a constitutive GAP promoter, and the second, pKB-HPV18, with an inducible LAC4 promoter. *K. lactis* cells were transformed with the obtained vectors by electroporation. Recombinant strains were cultivated in YEPm medium. Protein synthesis induction for the *K. lactis*/pKB-HPV18 strain was performed using lactose. The target protein was isolated from cell lysates by ion exchange chromatography (SP SepLife). Protein identification was carried out using liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC MS/MS). All experiments were performed in three biological replicates. Statistical significance was assessed using Student's t-test ($p < 0.05$).

Results. Producer strains were obtained for both constructs. The biomass yield was 20 g/L for *K. lactis*/pKB-HPV18 and 34 g/L for *K. lactis*/pKB-HPV18. The purity of the target protein after a single ion-exchange chromatography step reached 70–80% for the constitutive system and approached 90% for the inducible system. The identity and structural integrity of the obtained protein were confirmed using LC MS/MS.

Conclusion. Two *K. lactis* producer strains capable of synthesizing HPV18 L1 protein were successfully constructed. The system with the inducible LAC4 promoter showed higher biomass yield and target protein purity compared to the constitutive system. These results provide a foundation for the further development of an affordable production system for the HPV18 vaccine antigen.

Keywords: *Kluyveromyces lactis*, human papillomavirus, HPV type 18, recombinant L1 protein, expression, inducible promoter, virus-like particles

Received: 31.03.2026
Accepted: 10.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Rar A.A., Volosnikova E.A., Belenkaya S.V., Gogina Ya.S., Shcherbakov D.N. Comparative characterization of constitutive and inducible expression systems for human papillomavirus type 18 L1 protein in *Kluyveromyces lactis*. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 62-70. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.7

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) остается одной из ведущих причин заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований среди женщин во всем мире. Ежегодно регистрируется более 660 000 новых случаев и 348 000 летальных исходов, при этом среди женщин репродуктивного возраста РШМ занимает второе место в структуре смертности от онкологических заболеваний [1, 2]. Основным этиологическим фактором развития заболевания является персистирующая инфекция, вызванная вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска. ДНК ВПЧ обнаруживается в 99,8 % случаев РШМ, при этом на долю типов 16 и 18 приходится 71 % всех случаев [1–4]. Структура циркулирующих генотипов существенно варьируется в зависимости от региона, что определяет необходимость региональной адаптации вакцинных препаратов [5].

РШМ является единственным злокачественным новообразованием, которое может быть элиминировано с помощью профилактических мер. В 2020 году Всемирной организацией здравоохранения принята Глобальная стратегия ускоренной ликвидации рака шейки матки, ключевым элементом которой является массовая вакцинация [1, 2]. Для осуществления данной стратегии необходима разработка доступных и эффективных вакцинных препаратов, способных обеспечить охват населения в странах с различным уровнем жизни.

В основе современных вакцин против ВПЧ лежат рекомбинантные субъединичные препараты, представляющие собой вирусоподобные частицы (VLP), сформированные из основного капсидного белка L1. В качестве продуцентов зарегистрированных вакцин против ВПЧ в настоящее время используются бактерии (*Escherichia coli*), дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*, *Komagataella phaffii* (ранее *Pichia pastoris*) и клетки насекомых (бакуловирусная система экспрессии) [6–8]. В данном случае, преимущества и недостатки каждой из систем экспрессии выражаются в стоимости культивирования, корректности посттрансляционных модификаций, обеспечивающих валидную сборку иммуногенных VLP, и выходе целевого белка.

Дрожжи представляют собой безопасную, за счёт статуса GRAS (Generally Recognized as Safe), и привлекательную платформу для получения рекомбинантных белков фармацевтического назначения, благодаря простоте культивирования, отсутствию эндотоксинов, а также наличию эукариотического аппарата посттрансляционных модификаций. В настоящее время в качестве дрожжевых продуцентов активно используется вид *Saccharomyces cerevisiae*, однако его применение может осложняться рядом факторов, таких как склонность к гипергликозилированию продуцируемых белков, а также аллергенность α -1,3-связанных остатков маннозы на концах N-углеводных цепей. Хорошей альтернативой *S. cerevisiae* может стать вид дрожжей *Kluyveromyces lactis*, который обладает аналогичными преимуществами, но при этом демонстрирует

отрицательный эффект Крэбтри и более аутентичное гликозилирование, что характеризует его как метаболически более эффективного продуцента [9, 10].

Природная способность *K. lactis* метаболизировать лактозу в качестве единственного источника углерода в среде обусловлена наличием генов лактозного оперона: *LAC4* – кодирует β -галактозидазу и *LAC12* – кодирует пермеазу лактозы. Это преимущество позволяет *K. lactis* использовать молочную сыворотку – основной отход молочной продукции с высоким содержанием лактозы (4–5 %), белков и витаминов, как питательную среду. Использование молочной сыворотки при культивировании *K. lactis* может в значительной степени снизить стоимость производства рекомбинантных белков, что играет ключевую роль в обеспечении доступности вакцин в странах со средним и низким индексом жизни, где проблема ВПЧ-ассоциированных заболеваний проявляется наиболее выражено [11, 12].

Кроме того, сам промотор *LAC4*, индуцируемый лактозой, может быть использован для управляемой экспрессии целевого гена, что создает дополнительную технологическую гибкость: в процессе культивирования на молочной сыворотке происходит как накопление биомассы, так и индукция синтеза рекомбинантного белка без необходимости внесения дополнительных дорогостоящих индукторов.

Таким образом, *K. lactis* представляет собой не только безопасную и технологичную платформу для экспрессии гетерологичных белков, но и позволяет интегрировать концепцию устойчивого производства за счёт использования возобновляемого и малозатратного сырья.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования является разработка штамма-продуцента на основе *Kluyveromyces lactis* для получения рекомбинантного белка L1 вируса папилломы человека 18 типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Конструирование экспрессионных векторов

Для экспрессии гена *L1* ВПЧ 18 типа использовали два вектора: pPOG, содержащий конститутивный промотор GAP, и pKB, содержащий индуцибельный промотор *LAC4*. Ген *L1*, оптимизированный по кодонному составу для экспрессии в дрожжах, синтезировали на заказ (ООО «ДНК-синтез», Россия). Синтезированный ген и векторы pPOG и pKB обрабатывали рестриктазами HindIII и AspA2I (ООО «СибЭнзайм», Россия). Полученные продукты очищали и лигировали при помощи лигазы бактериофага T4 (ООО «СибЭнзайм», Россия). Продуктами лигазной реакции трансформировали *E. coli* штамм NEB stable. ДНК клонов выделяли с использованием набора Plasmid MiniPrep Kit (Qiagen, Германия). Для подтверждения корректности сборки

и отсутствия мутаций в кодон-оптимизированной последовательности гена *L1* проводили секвенирование по Сенгеру (ЦКП «Геномика», Россия). Анализ секвенограмм подтвердил 100 % идентичность нуклеотидной последовательности.

Трансформация *Kluyveromyces lactis*

Клетки *K. lactis* (штамм SVB-1) выращивали в среде YEPD (1 % дрожжевой экстракт, 2 % пептон, 2 % глюкоза) до середины логарифмической фазы ($OD_{600} \sim 1,0-1,5$), осаждали центрифугированием (1500 g, 5 мин, 4°C), дважды промывали ледяной стерильной водой и однократно — 1 М сорбитолом. К 40 мкл клеток добавляли 1–2 мкг плазмидной ДНК (pPOG-HPV18 или pKB-HPV18). Электропорацию проводили в кюветах с зазором 2 мм при напряжении 1,5 кВ, емкости 25 мкФ и сопротивлении 200 Ом (Gene Pulser Xcell, Bio-Rad, США). После импульса клетки ресуспендировали в 1 мл 1 М сорбитола, инкубировали 1 ч при 30°C и высевали на селективную агаризованную среду YEPm с зеотином (1 мг/мл).

Условия культивирования

Для инокулята единичные колонии трансформантов переносили в пробирки с 5 мл среды YEPm (дрожжевой экстракт — 10 г/л, пептон — 20 г/л, глюкоза — 20 г/л, KH_2PO_4 — 1 г/л) после стерилизации добавляли глюкозу до 2 %, пантотенат кальция до 1,6 мкг/мл и зеотин до 0,1 мг/мл. Культивирование проводили при 30°C, 220 об/мин в течение 24 ч.

Для наработки белка использовали среду аналогичного состава с конечной концентрацией глюкозы 3 %. Инокулят вносили в количестве 1 % в конические колбы (250 мл среды в колбах объемом 1 л) и культивировали при 30°C, 230 об/мин в течение 144 ч. Для индукции экспрессии в системе с промотором LAC4 через 48 ч вносили [галактозу/лактозу] до конечной концентрации 3 %.

Получение клеточного лизата

Клетки осаждали центрифугированием (10 000 g, 20 мин, 4°C). Осадок (20 г влажных клеток) ресуспендировали в 200 мл ледяного буфера (20 мМ фосфат натрия, 1 мМ PMSF, 1,7 мМ ЭДТА, 20 мМ NaCl, pH 7,0) и инкубировали 10 мин при 2–8°C. Разрушение проводили в гомогенизаторе высокого давления YC-NANO10 (Yocell Biotechnology, Китай) при 900–1000 бар, четыре цикла при показателе пульсации – 15, с охлаждением системы до 10°C. Степень разрушения контролировали по оптической плотности и микроскопически. Лизат центрифугировали (10 000 g, 30 мин, 4°C), супернатант (250 мл) отбирали для очистки.

Ионообменная хроматография

Очистку проводили на хроматографе ÄKTA pure 150M (GE HealthCare, США) с использованием колонки SP Sepharose (объем 20 мл), уравновешенной буфером (50 мМ фосфат натрия, 20 мМ NaCl, pH 6,2). Супернатант (250 мл) наносили на колонку, элюцию проводили 15-кратным градиентом увеличения концентрации NaCl с 20 мМ до 1 М в буфере (50 мМ фосфат натрия, pH 6,2). Фракции собирали с момента достижения показателя поглощения элюата 50 mAU при длине волны 280 нм. Целевые фракции объединяли и концентрировали

на центрифужных концентраторах с порогом отсеивания 10 кДа (Amicon Ultra, Merck Millipore, Ирландия).

Хромато-масс-спектрометрия

Белок растворяли в 300 мкл буфера для денатурации (7 М мочевины, 50 мМ трис-HCl, pH 8,0), инкубировали 30 мин при 95°C, добавляли DTT до 4 мМ и инкубировали еще 30 мин при 95°C. После охлаждения добавляли йодацетамид до 15 мМ и инкубировали 30 мин в темноте при комнатной температуре. Образец разбавляли 1200 мкл 50 мМ трис-HCl (pH 8,0). К 700 мкл раствора добавляли 10 мкг трипсина Sequencing Grade (Promega, США) и инкубировали 18 ч при 37°C.

Разделение продуктов гидролиза проводили на колонке C18 (2,1 × 150 мм, 2,7 мкм, AdvancedBio Peptide Plus, Agilent, США) в градиенте растворителей: А — вода с 0,1 % муравьиной кислоты, Б — ацетонитрил с 0,1 % муравьиной кислоты, скорость потока 0,2 мл/мин (градиент: 0 мин — 5 % Б, 44 мин — 40 % Б, 48 мин — 95 % Б). Детектирование проводили на квадруполь-времетра-пролетном масс-спектрометре LC/qTOF 6530 (Agilent, США) с ионизацией электроспреем в положительном режиме. Параметры: напряжение на капилляре 4000 В, температура газа 350°C, скорость потока газа 10 л/мин, диапазон сканирования MS^1 100–2000 m/z, MS^2 50–2000 m/z, энергия соударений 0,045 × (m/z).

Идентификацию белков проводили с использованием алгоритма Comet [13] по базе данных аминокислотных последовательностей L1 ВПЧ 18 типа.

Статистический анализ

Все эксперименты по культивированию и очистке целевого белка выполнены в трех независимых биологических повторностях ($n = 3$). Результаты представлены как среднее арифметическое значение ± стандартное отклонение ($M \pm SD$). Статистическую значимость различий между группами оценивали с использованием двустороннего *t*-критерия Стьюдента для несвязанных выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версия 8.0 (GraphPad Software, США) или Microsoft Excel (Microsoft Corp., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для получения рекомбинантного белка L1 вируса папилломы человека 18 типа были сконструированы две экспрессионные плазмидные конструкции на основе векторов pPOG и pKB.

Вектор pPOG содержит конститутивный промотор GAP (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) *Kluyveromyces lactis*, обеспечивающий постоянный уровень транскрипции целевого гена, и селективный маркер зеотин, позволяющий проводить отбор трансформантов на среде, содержащей данный антибиотик. Ген *L1* ВПЧ 18 типа, оптимизированный по кодонному составу для экспрессии в дрожжах, был клонирован в составе вектора под контроль промотора GAP.

Полученная плазмидная конструкция pPOG-HPV18 представлена на рисунке 1А.

Вектор pKB содержит индуцибельный промотор LAC4 (β -galactosidase) *Kluyveromyces lactis*, активируемый в присутствии лактозы или галактозы, что позволяет разделить фазы накопления биомассы и индукции целевого белка. Ген L1 ВПЧ 18 типа был клонирован под контроль промотора LAC4, в результате чего получена конструкция pKB-HPV18 (рис. 2А). Корректность встраивания гена-мишени в обеих конструкциях подтверждена секвенированием. Анализ секвенограмм показал сохранение нуклеотидной последовательности: в целевом гене L1 ВПЧ 18 типа отсутствовали нуклеотидные замены, делеции или инсерции.

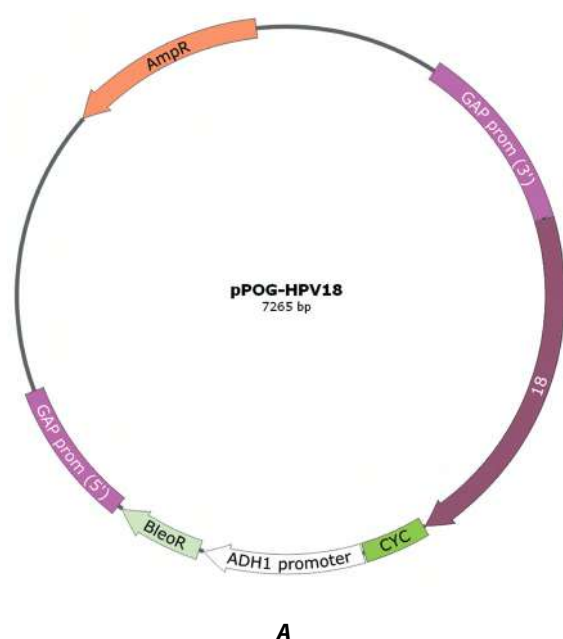
Полученными плазмидными конструкциями pPOG-HPV18 и pKB-HPV18 трансформировали клетки *K. lactis* методом электропорации. Трансформанты отбирали на селективной среде с добавлением зеоцина (1 мг/мл). После 3–5 суток инкубации при 30°C были получены единичные колонии трансформантов для каждой конструкции. Отбор клонов-продуцентов проводили на основе анализа экспрессии целевого белка методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих условиях.

Для каждого типа промотора были оптимизированы условия культивирования, обеспечивающие максимальный выход целевого белка. Для продуцента на основе *K. lactis* / pPOG-HPV18 (конститутивный промотор)

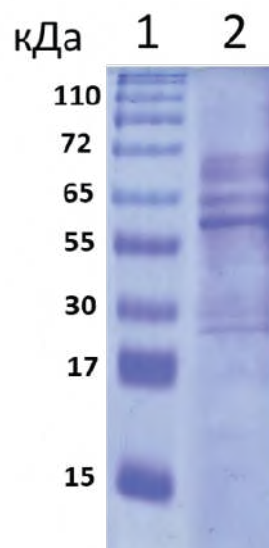
культивирование проводили в среде YEPm с начальной концентрацией глюкозы 3 % в течение 144 ч при 30°C. Постоянная экспрессия гена L1 под контролем промотора GAP обеспечила накопление целевого белка на протяжении всего периода культивирования без необходимости внесения дополнительных индукторов.

Для продуцента несущего плазмиду pKB-HPV18 (индуцибельный промотор) культивирование проводили в две стадии: накопление биомассы в течение 48 ч на среде YEPm с глюкозой, после чего вносили лактозу в качестве индуктора до конечной концентрации в среде 3 % и продолжали культивирование в течение следующих 96 ч при тех же условиях. Такая схема культивирования позволила минимизировать метаболическую нагрузку на клетки в фазе роста и обеспечила высокий уровень экспрессии после индукции.

По истечении времени культивирования биомассу отделяли центрифугированием. Выход влажной биомассы составил $20,1 \pm 1,5$ г/л для продуцента *K. lactis* / pPOG-HPV18 и $34,3 \pm 2,1$ г/л для *K. lactis* / pKB-HPV18 ($p < 0,05$). Дезинтеграцию клеток проводили с использованием гомогенизатора высокого давления за четыре цикла при показателе 900–1000 бар. Степень разрушения клеток оценивали по изменению оптической плотности и микроскопически, по истечении процесса она составила 98 %. Центрифугированием осаждали клеточные обломки, получая супернатант, содержащий фракцию растворимого целевого белка.



А



В

РИС. 1.

Продукция белка L1 ВПЧ 18 типа в системе с конститутивным промотором GAP. А — карта плазмидного вектора pPOG-HPV18, содержащего ген L1 под контролем промотора GAP. В — электрофореграмма белка L1, выделенного из биомассы продуцента *K. lactis* / pPOG-HPV18. Дорожки: 1 — маркер молекулярной массы, 2 — белок L1 после ионообменной хроматографии, основная полоса соответствует белку L1 (~55 кДа).

FIG. 1.

Production of HPV type 18 L1 protein in a system with a constitutive GAP promoter. (A) Map of the pPOG-HPV18 plasmid vector, containing the L1 gene under the control of the GAP promoter. (B) Electropherogram of the L1 protein isolated from the biomass of the producer strain *K. lactis*/pPOG-HPV18. Lanes: 1 – Molecular weight marker; 2 – L1 protein fraction after ion-exchange chromatography, the main band corresponds to the L1 protein (~55 kDa).

Выделение рекомбинантного белка L1 из полученных лизатов проводили методом ионообменной хроматографии на колонке SP Sephlife. Целевые фракции, соответствующие молекулярной массе олигомерных форм белка L1, объединяли и концентрировали. Чистоту и молекулярную массу полученного белка оценивали методом электрофореза в 10 % ПААГ.

На рисунке 1В представлены результаты электрофоретического анализа белка L1, выделенного из биомассы продуцента *K. lactis* / pPOG-HPV18. На рисунке 2В представлены аналогичные данные для продуцента *K. lactis* / pKB-HPV18. В обоих случаях наблюдается полоса, соответствующая молекулярной массе белка L1 (около 55–60 кДа), что подтверждает успешную продукцию целевого белка в обеих системах. В то же время проведение очистки при помощи одной стадии ионообменной хроматографии не позволило полностью очистить целевой белок. Степень чистоты целевого белка после одной стадии ионообменной хроматографии составила $75,4 \pm 3,2$ % для продуцента *K. lactis* / pPOG-HPV18 и $89,1 \pm 2,5$ % для *K. lactis* / pKB-HPV18 ($p < 0,05$).

Идентичность и структурная целостность полученного рекомбинантного белка L1 ВПЧ 18 типа были подтверждены методом хромато-масс-спектрометрии. По результатам обработки трипсином и последующего анализа на тандемном квадруполь-времетраплетном масс-спектрометре для обеих фракций были идентифицированы пептиды, соответствующие референсной последовательности L1 ВПЧ 18 типа. Для фракции

I идентифицировано 635 пептидов с максимальным SCORE 136, для фракции II — 685 пептидов с максимальным SCORE 200. Полученные данные подтверждают, что исследуемые образцы содержат целевой белок L1 ВПЧ 18 типа.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании была продемонстрирована возможность получения рекомбинантного белка L1 вируса папилломы человека 18 типа с использованием дрожжевой системы экспрессии на основе *Kluyveromyces lactis*. Выбор *K. lactis* в качестве продуцента обусловлен рядом преимуществ, включая статус GRAS, наличие эукариотического аппарата посттрансляционных модификаций и отсутствие эндотоксинов. Кроме того, способность *K. lactis* утилизировать лактозу, позволяет использовать дешевые питательные среды на основе молочной сыворотки. Важно отметить, что преимущества использования молочной сыворотки в системе с *K. lactis* не ограничиваются низкой стоимостью субстрата. Во-первых, данный подход позволяет реализовать «одностадийную» стратегию культивирования, поскольку лактоза выступает одновременно и источником углерода, и индуктором промотора LAC4, что исключает необходимость внесения дополнительных индукторов (например, галактозы или метанола) на поздних стадиях ферментации. Это

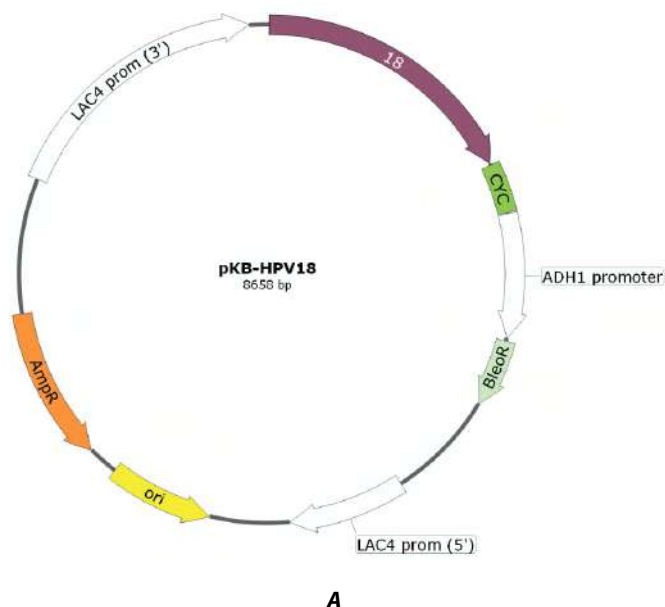


РИС. 2.

Продукция белка L1 ВПЧ 18 типа в системе с индуцибельным промотором LAC4. **А** — карта плазмидного вектора pKB-HPV18, содержащего ген L1 под контролем промотора LAC4. **В** — электрофореграмма белка L1, выделенного из биомассы продуцента *K. lactis* / pKB-HPV18. Дорожки: 1 — маркер молекулярной массы, 2 — белок L1 после ионообменной хроматографии, основная полоса соответствует белку L1 (~55 кДа).

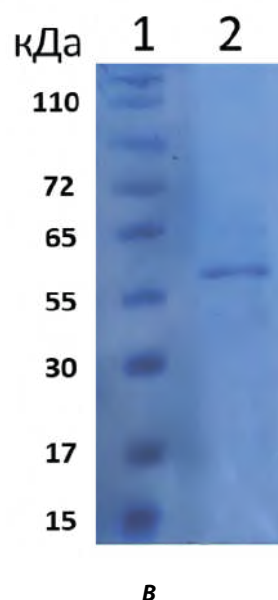


FIG. 2.

Production of HPV type 18 L1 protein in a system with an inducible LAC4 promoter. **(A)** Map of the pKB-HPV18 plasmid vector, containing the L1 gene under the control of the LAC4 promoter. **(B)** Electrophorogram of the L1 protein isolated from the biomass of the producer strain *K. lactis*/pKB-HPV18. Lanes: 1 – Molecular weight marker; 2 – L1 protein fraction after ion-exchange chromatography, the main band corresponds to the L1 protein (~55 kDa).

не только снижает себестоимость, но и упрощает технологический процесс, уменьшая риск контаминации. Во-вторых, молочная сыворотка содержит набор микроэлементов и витаминов, которые могут оказывать положительное влияние на физиологическое состояние клеток и снижать стресс, связанный с продукцией гетерологичного белка. В-третьих, использование отходов молочной промышленности решает экологическую проблему их утилизации, что является важным аспектом устойчивого развития биотехнологических производств [11, 12].

Что касается аллергенности рекомбинантного белка L1, полученного в *K. lactis*, то данный продуцент имеет преимущество перед *S. cerevisiae*. Клетки *S. cerevisiae* известны способностью к гипергликозилированию и содержат терминальные α -1,3-связанные остатки маннозы, которые являются сильными аллергенами и могут вызывать нежелательные иммунные реакции у человека [9, 10]. В отличие от них, *K. lactis* характеризуется более короткими и аутентичными N-связанными углеводными цепями, лишёнными α -1,3-маннозных эпитопов, что потенциально снижает риск аллергических реакций при вакцинации. Тем не менее, для окончательного заключения о безопасности и иммуногенности полученного препарата необходимы дополнительные исследования *in vitro* (тесты на клеточных культурах) и *in vivo* (экспериментальные животные модели), включая оценку специфического IgE-ответа.

В ходе работы было сконструировано два плазмидных интеграционных вектора, первый – pPOG-HPV18 с конститутивным промотором GAP, второй – pKB-HPV18 с индуцибельным промотором LAC4. Обе конструкции были успешно использованы для трансформации *K. lactis* и получения стабильных клонов-продуцентов.

Анализ накопления целевого белка выявил различия между двумя системами. Продуцент *K. lactis* / pPOG-HPV18 обеспечивал непрерывный синтез белка L1 на протяжении всего периода культивирования, что характерно для конститутивных промоторов. Однако выход биомассы для данной системы составил $20,1 \pm 1,5$ г/л, что статистически значимо ниже ($p < 0,05$) показателя для *K. lactis* / pKB-HPV18 ($34,3 \pm 2,1$ г/л). Вероятно, это связано с тем, что постоянная экспрессия гена гетерологичного белка создает метаболическую нагрузку на клетки, направляя ресурсы на синтез рекомбинантного белка в ущерб накоплению биомассы [14].

В системе с индуцибельным промотором LAC4 двухстадийная стратегия культивирования (накопление биомассы на глюкозе с последующей индукцией лактозой) позволила сначала достичь высокой плотности клеток, а затем инициировать синтез целевого белка. Более высокий выход биомассы ($34,3 \pm 2,1$ г/л) и более высокая степень чистоты после одной стадии ионообменной хроматографии ($89,1 \pm 2,5$ % против $75,4 \pm 3,2$ % для *K. lactis* / pPOG-HPV18, $p < 0,05$) свидетельствуют о преимуществах индуцибельной системы.

Более высокая чистота может объясняться тем, что индукция экспрессии на поздних стадиях

культивирования снижает накопление белков клеточного стресса и протеолитических ферментов, которые могут негативно влиять на процесс хроматографической очистки [15].

Очистка рекомбинантного белка L1 с использованием одной стадии ионообменной хроматографии на SP SepLife позволила получить белок с чистотой 70–90 % в зависимости от системы экспрессии. Сбор фракций при проведении ионообменной хроматографии производился по оптической плотности при $\lambda = 280$ нм. Анализ фракций производили методом электрофореза в 10 % ПААГ в редуцирующих условиях. Однако, для оценки потенциальной иммуногенности, обусловленной корректной сборкой вирусоподобных частиц, необходимы дополнительные методы анализа, позволяющие оценить структуру VLP, такие как электронная микроскопия и динамическое рассеяние света [16, 17].

Получение высокой степени чистоты образца (до 90 % для pKB-HPV18) при проведении одностадийной хроматографии представляет собой положительный результат, учитывая, что при промышленном производстве вакцин зачастую используется несколько этапов очистки [18]. Следующие этапы оптимизации процесса могут включать ионообменную или аффинную хроматографии для соответствия образца требованиям чистоты фармакопеи (> 95 %).

Методом хромато-масс-спектрометрии было подтверждено соответствие полученного образца исходной аминокислотной последовательности. Идентификация 635 пептидов для фракции I и 685 пептидов для фракции II при высоких значениях SCORE (136 и 200 соответственно) подтверждает, что исследуемые образцы соответствуют референсной последовательности рекомбинантного L1 ВПЧ 18 типа, а высокое покрытие последовательности (порядка 87 %) свидетельствует о структурной целостности белка и отсутствии у него значительных деградиационных изменений в процессе очистки.

Помимо подтверждения идентичности белка, метод хромато-масс-спектрометрии позволяет оценить посттрансляционные модификации, в том числе гликозилирование [19]. В случае основного капсидного белка ВПЧ, способного самоорганизовываться в VLP, характер гликозилирования может оказывать влияние на иммуногенность и стабильность VLP. Дальнейший анализ данных хромато-масс-спектрометрии на присутствие N-гликозилирования по консервативным сайтам (Asn-X-Ser/Thr) позволит оценить, насколько гликозилирование рекомбинантного L1, полученного в *K. lactis*, отличается от такового в других дрожжевых системах и соответствует ли оно нативному белку.

Одним из ключевых преимуществ *K. lactis*, которое было отмечено во введении, является его способность утилизировать лактозу. Хотя в настоящем исследовании культивирование производилось на стандартной среде YEPm с глюкозой, полученные результаты создают основу для перехода на более дешёвые питательные среды. Использование молочной сыворотки в качестве

основного источника углерода и энергии не только снижает себестоимость производства, но и решает экологическую проблему утилизации отходов молочной промышленности [20].

Особый интерес представляет синергия между использованием молочной сыворотки и промотором LAC4. Поскольку лактоза одновременно является и питательным субстратом, и индуктором экспрессии, можно разработать одностадийный процесс культивирования на молочной сыворотке, в котором накопление биомассы и индукция целевого белка происходят автоматически по мере потребления лактозы. Это существенно упрощает технологический процесс и снижает потребность в дорогостоящих индукторах, таких как галактоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе успешно сконструированы два штамма-продуцента *Kluyveromyces lactis*, экспрессирующие рекомбинантный белок L1 вируса папилломы человека 18 типа под контролем конститутивного промотора GAP и индуцибельного промотора LAC4. Показано, что система с индуцибельным промотором LAC4 обеспечивает статистически значимо более высокий выход биомассы ($34,3 \pm 2,1$ г/л) и степень чистоты целевого белка после одной стадии ионообменной хроматографии ($89,1 \pm 2,5$ %) по сравнению с конститутивной системой ($20,1 \pm 1,5$ г/л и $75,4 \pm 3,2$ % соответственно; $p < 0,05$). Идентичность белка подтверждена методом хромато-масс-спектрометрии. Полученные результаты создают основу для дальнейшей разработки доступной вакцины против ВПЧ 18 типа на основе дрожжевой платформы *K. lactis* с потенциалом использования молочной сыворотки в качестве дешевой питательной среды.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственного задания, тема ГЗ-28/26 «Дрожжевые системы культивирования для получения фармацевтических белков».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Liu F, Xu J, Yang R, Liu S, Hu S, Yan M, et al. New light on treatment of cervical cancer: Chinese medicine monomers can be effective for cervical cancer by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2023; 157: 114084. doi: 10.1016/j.biopha.2022.114084
2. Wu J, Jin Q, Zhang Y, Ji Y, Li J, Liu X, et al. Global burden of cervical cancer: current estimates, temporal trend and future projections based on the GLOBOCAN 2022.

Journal of the National Cancer Center. 2025; 5(3): 322–329. doi: 10.1016/j.jncc.2024.11.006

3. Афанасьев М.С., Душкин А.Д., Афанасьев С.С., Несвижский Ю.В., Гришачева Т.Г., Бирюкова Е.С. и др. Типовое разнообразие папилломавирусов человека высокого канцерогенного риска при клинических формах инфекции шейки матки в Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2025; 15(2): 271–286. [Afanasyev MS, Dushkin AD, Afanasyev SS, Nesvizhsky YV, Grishacheva TG, Biryukova ES, et al. Type profile of high oncogenic risk human papillomavirus in clinical forms of cervical infection in Russian Federation. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet*. 2025; 15(2): 271–286. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-tpo-17690

4. Cascardi E, Cazzato G, Daniele A, Silvestris E, Cormio G, Di Vagno G, et al. Association between cervical microbiota and HPV: could this be the key to complete cervical cancer eradication? *Biology*. 2022; 11(8): 1114. doi: 10.3390/biology11081114

5. Zhou D, Xue J, Sun Y, Zhu L, Zhao M, Cui M, et al. Patterns of single and multiple HPV infections in female: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon*. 2024; 10(17): e35736. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e35736

6. Wang R, Huang H, Yu C, Li X, Wang Y, Xie L. Current status and future directions for the development of human papillomavirus vaccines. *Frontiers in Immunology*. 2024; 15: 1362770. doi: 10.3389/fimmu.2024.1362770

7. Palatty PL, Sacheendran D, Jayachandran M. *Human Papilloma Virus Vaccines*. In: Baloh Z (ed.). *Confronting HPV: Insights and Solutions*. Books on Demand; 2025: 77–78. doi: 10.5772/intechopen.1004419

8. Brotherton JML, LaMontagne DS, Bloem PJN. Global status of HPV vaccination two decades in: effective, safe and preventing cancer. *Expert Rev Vaccines*. 2026; 25(1): 2609869. doi: 10.1080/14760584.2025.2609869

9. Shivakumar T, Das A, Bussoletti Panizo MV, Storch M, Thavarajah W, Freemont PS, et al. A Lactose-Based *Kluyveromyces lactis* Cell-Free Protein Synthesis System. *Chem Bio Eng*. 2025; 2(10): 602–611. doi: 10.1021/cbe.5c00011

10. Spohner SC, Schaum V, Quitmann H, Czermak P. *Kluyveromyces lactis*: an emerging tool in biotechnology. *Journal of Biotechnology*. 2016; 222: 104–116. doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.02.023

11. Ohstrom AM, Buck AE, Du X, Wee J. Evaluation of *Kluyveromyces* spp. for conversion of lactose in different types of whey from dairy processing waste into ethanol. *Frontiers in Microbiology*. 2023; 14: 1208284. doi: 10.3389/fmicb.2023.1208284

12. Liao L, Shen X, Li J, Du G, Chen J, Zhang G. A dual strategy of metabolic engineering and multisite integration for enhanced lactase production in *Kluyveromyces lactis*. *Chemical Engineering Journal*. 2026; 531: 174271. doi: 10.1016/j.cej.2026.174271

13. Eng JK, Jahan TA, Hoopmann MR. Comet: an open source MS/MS sequence database search tool. *Proteomics*. 2013; 13(1): 22–24. doi: 10.1002/pmic.201200439

14. Mattanovich D, Branduardi P, Dato L, Gasser B, Sauer M, Porro D. Recombinant protein production in yeasts.

Methods in Molecular Biology. 2012; 824: 329–358. doi: 10.1007/978-1-61779-433-9_17

15. Porro D, Gasser B, Fossati T, Maurer M, Branduardi P, Sauer M, et al. Production of recombinant proteins in yeasts: when are these systems better than bacterial production systems? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011; 89(4): 939–948. doi: 10.1007/s00253-010-3019-z

16. Chen YM, Liu YuCh, Zhang GP, et al. Human papillomavirus L1 protein expressed in *Escherichia coli* self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Virus research*. 2016; 220: 97–103. doi: 10.1016/j.virusres.2016.04.017

17. Rosmeita CN, Budiarti S, Mustopa AZ, et al. Expression, purification, and characterization of self-assembled virus-like particles of capsid protein L1 HPV 52 in *Pichia pastoris* GS115. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2023; 21(1): 126. doi: 10.1186/s43141-023-00571-0

18. Gashti AB, Patel M, Chahal PS, et al. Purification and functional characterization of gag-spike virus-like particles: Process optimization for efficient vaccine production. *Vaccine*. 2025; 62: 127500. doi: 10.1016/j.vaccine.2025.127500

19. Jensen ON. Modification-specific proteomics: characterization of post-translational modifications by mass spectrometry. *Current opinion in chemical biology*. 2004; 8(1): 33–41. doi: 10.1016/j.cbpa.2003.12.009

20. Sampaio FC, et al. Cheese whey permeate fermentation by *Kluyveromyces lactis*: a combined approach to wastewater treatment and bioethanol production. *Environmental technology*. 2020; 41(24): 3210–3218. doi: 10.1080/09593330.2019.1604813

Сведения об авторах

Рар Анастасия Анатольевна – инженер-микробиолог отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: raranas@yandex.ru, rar_aa@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0000-2652-8434>

Волосникова Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5028-5647>

Беленькая Светлана Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: belenkaya_sv@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3883-6335>

Гогина Яна Станиславовна – старший научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: gogina_yas@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8986-0477>

Щербakov Дмитрий Николаевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: scherbakov_dn@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>

Information about the authors

Anastasiya A. Rar – microbiologist engineer of the Department of Technology Development and Pilot Production, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: raranas@yandex.ru, rar_aa@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0000-2652-8434>

Ekaterina A. Volosnikova – Cand. Sc. (Biol.), lead research fellow of the Department of Technology Development and Pilot Production of biological products, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5028-5647>

Svetlana V. Belenkaya – Cand. Sc. (Biol.), senior research fellow of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: belenkaya_sv@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3883-6335>

Yana S. Gogina – senior research fellow of the Department of Technology Development and Pilot Production of Biological Products, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: gogina_yas@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8986-0477>

Dmitry N. Shcherbakov – Cand. Sc. (Biol.), lead research fellow of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: scherbakov_dn@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

КАРДИОЛОГИЯ CARDIOLOGY

КАРДИАЛЬНЫЙ САРКОИДОЗ: ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ЭТИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

**Тарадин Г.Г.,
Ракитская И.В.,
Христуленко А.Л.**

ФГБОУ ВО «Донецкий государственный
медицинский университет
им. М. Горького» Министерства
здравоохранения Российской
Федерации (283003, г. Донецк,
пр. Ильича, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тарадин Геннадий Геннадьевич
e-mail: taradin@inbox.ru

РЕЗЮМЕ

*В обзоре представлен анализ современных литературных данных, посвященных кардиальному саркоидозу (КС), частота которого в структуре системного саркоидоза широко варьирует – от 3 до 39 %. Многими авторами отмечается общая тенденция роста распространенности и заболеваемости как системного, так и КС с колебаниями в зависимости от географической зоны и этнической принадлежности. Высказывается предположение о различиях клинических фенотипов КС в зависимости от этнической предрасположенности и пола. Рассматривается значение полиморфизма человеческого лейкоцитарного антигена HLA и отдельных его аллелей в развитии кардиального поражения при саркоидозе. Обсуждается возможное влияние инфекционных возбудителей (*Cutibacterium acnes*, *Mycobacterium tuberculosis* и пр.) в качестве иницилирующего фактора развития заболевания. Неказеифицирующиеся эпителиоидные гранулы – специфичный морфологический признак саркоидоза – могут локализоваться в любом отделе миокарда, определяя возникновение нарушений ритма и проводимости, формирование аневризм желудочков и развитие сердечной недостаточности. Частота обнаружения многоядерных гигантских клеток в неказеифицирующихся эпителиоидных гранулах при КС не превышает 20 %, а отсутствие специфических патоморфологических признаков не может исключить поражение сердца. Стадийность гранулематозного воспаления обосновывает применение суррогатных гистопатологических признаков, в частности, обнаружение микрогранул, скоплений M1-макрофагов, признаков лимфоангиогенеза, зон фиброза и жировой инфильтрации миокарда.*

Ключевые слова: саркоидоз, кардиальный саркоидоз, гранулематозное воспаление, эпидемиология, этиология, патогенез, патоморфология

Статья поступила: 28.09.2025
Статья принята: 08.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Тарадин Г.Г., Ракитская И.В., Христуленко А.Л. Кардиальный саркоидоз: эпидемиология, этиология, патогенез и патоморфология (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 71-84. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.8

CARDIAC SARCOIDOSIS: EPIDEMIOLOGY, ETIOLOGY, PATHOGENESIS AND PATHOMORPHOLOGY (LITERATURE REVIEW)

**Taradin G.G.,
Rakitskaya I.V.,
Khristulenko A.L.**

Donetsk State Medical University named
after M. Gorky, Ministry of Health
of the Russian Federation (Ilyicha Ave., 16,
Donetsk 283003, Russian Federation)

Corresponding author:
Gennady G. Taradin
e-mail: taradin@inbox.ru

ABSTRACT

The review presents an analysis of current literature data on cardiac sarcoidosis (CS), the frequency of which varies widely in the structure of systemic sarcoidosis – from 3 to 39%. Many authors have noted a general upward trend in the prevalence and incidence of both systemic and CS, with variations depending on geographical region and ethnicity. It is suggested that the clinical phenotypes of CS differ depending on ethnic predisposition and sex. The role of human leukocyte antigen (HLA) polymorphism and specific alleles in the development of cardiac involvement in sarcoidosis has been investigated. The possible influence of infectious agents (Cutibacterium acnes, Mycobacterium tuberculosis, etc.) as an initiating factor in the development of the disease is considered. Non-caseating epithelioid granulomas, a specific morphological feature of sarcoidosis, can be localized in any part of the myocardium, leading to rhythm and conduction disturbances, the development of ventricular aneurysms, and heart failure. Multinucleated giant cells are detected in non-caseating epithelioid granulomas in no more than 20% of CS cases, and the absence of this specific pathomorphological feature does not rule out cardiac involvement in sarcoidosis. The staging of granulomatous inflammation supports the use of surrogate histopathological signs, including microgranulomas, clusters of M1-macrophages, signs of lymphangiogenesis, confluent fibrosis and fatty infiltration of the myocardium.

Key words: sarcoidosis, cardiac sarcoidosis, granulomatous inflammation, epidemiology, etiology, pathogenesis, pathomorphology

Received: 28.09.2025
Accepted: 08.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Taradin G.G., Rakitskaya I.V., Khristulenko A. L. Cardiac sarcoidosis: epidemiology, etiology, pathogenesis and pathomorphology (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 71-84. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.8

ВВЕДЕНИЕ

Саркоидоз — это системное воспалительное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся образованием неказеифицирующихся гранулём, мультисистемным поражением различных органов и активацией Т-клеток в месте гранулематозного воспаления с высвобождением различных хемокинов и цитокинов [1, 2]. Саркоидоз развивается в результате иммунной реакции на воздействие неустановленного внешнего фактора у генетически предрасположенных людей [3]. Отличительным гистопатологическим признаком заболевания являются неказеифицирующиеся гранулёмы, которые могут располагаться практически в любом органе [4]. Саркоидоз встречается во всем мире с широким диапазоном заболеваемости, варьирующей от 1 до 15 случаев на 100 тыс. населения в год [1, 5–8].

Одним из тяжелых висцеральных проявлений саркоидоза является кардиальный саркоидоз (саркоидоз сердца, кардиосаркоидоз, КС), который клинически наблюдается примерно у 5 % пациентов с системным саркоидозом, а при применении морфологического и визуализирующих методов исследования в 20–30 % случаев [9–11]. При саркоидозе может поражаться миокард предсердий и желудочков, клапаны, папиллярные мышцы, перикард, проводящая система и коронарные артерии [9, 12, 13]. Среди пациентов с КС в 3,4–54 % случаях патология ограничена сердцем – так называемый «изолированный КС» [14, 15].

У пациентов с КС могут наблюдаться неспецифические симптомы сердечной недостаточности (СН), наджелудочковые или желудочковые нарушения ритма и проводимости сердца [10]. У некоторых больных кардиальная патология может оставаться асимптомной или малосимптомной и поражение сердца удаётся диагностировать только при применении методов визуализации [10, 16, 17].

За последние десятилетия возросло внимание к проблемам КС, что обусловлено главным образом развитием и внедрением новых диагностических методов, позволяющих выявлять кардиальную патологию на ранних стадиях системного саркоидоза, а также в случаях, протекающих со стёртыми клиническими проявлениями [12, 18]. Накоплено множество сведений об особенностях этиопатогенеза и патоморфологических проявлений саркоидоза, что улучшает понимание его клинических особенностей и предъявляет новые требования к диагностике. В обзоре представлены современные данные об эпидемиологии, этиологии, патогенезу и патоморфологии КС.

МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

При работе с источниками использовались поисковые запросы по ключевым словам в базах данных РИНЦ, eLibrary, PubMed. В обзор были включены англо- и русскоязычные статьи, опубликованные за период с 2020 по 2025 гг. В анализ включены также фундаментальные

исследования, выполненные в более раннее время, но представляющие высокую ценность в изучении данной проблемы. Ключевыми словами для литературного поиска являлись: саркоидоз (*sarcoidosis*), кардиосаркоидоз, кардиальный саркоидоз, саркоидоз сердца (*cardiac sarcoidosis*), поражение сердца при саркоидозе (*cardiac involvement in sarcoidosis*), эпидемиология (*epidemiology*), этиология (*etiology*), патогенез (*pathogenesis*), патоморфология (*pathology*). В центре внимания фигурировали статьи, опубликованные в научных журналах, прошедшие процедуру рецензирования.

Эпидемиология саркоидоза

Саркоидоз встречается во всем мире, поражая лиц обоего пола, всех рас и возрастов [13]. По результатам эпидемиологического анализа национальных баз данных распространенность и заболеваемость составляет, соответственно, 59 и 7,6 в США, 106 и 18,3 в Финляндии, 143 и 6,8 в Канаде, 160 и 11,5 в Швеции и 73 и 9 в Японии на 100 тыс. человек [8, 19–22].

При изучении распространенности саркоидоза в мире отмечаются её колебания в зависимости от географической зоны и этнической принадлежности [23]. Минимальные уровни распространённости (1–5 случаев на 100 тыс. населения) отмечены в Тайване, Японии и Южной Корее, а максимальные (140–160 случаев на 100 тыс. населения) – в Швеции и Канаде [24–27]. В США распространенность саркоидоза среди афроамериканцев в три раза превышает таковую среди американцев-европеоидов (35,5 случаев по сравнению с 10,9 на 100 тыс.) [23]. Риск развития саркоидоза в течение жизни у афроамериканцев в США оценивается примерно в 2,4 %, по сравнению с таковым в 0,85 % у европеоидов [23]. Сообщается, что заболеваемость и распространенность саркоидозом были существенно выше у афроамериканцев (17,8 и 141,4), чем для лиц европеоидной расы (8,1 и 49,8 на 100 тыс. соответственно) с наиболее высоким показателем распространенности среди темнокожих женщин – 178,5 [19]. Для других этнических групп (латиноамериканцы и азиаты) вероятность заболеть саркоидозом существенно меньше, чем для афроамериканцев или европеоидов [19, 24].

Этническая принадлежность иногда используется в качестве показателя генетического влияния, но она не отражает всей сложности риска человека, включая взаимодействие с социальными факторами и влиянием окружающей среды [6, 25]. Высокие уровни распространенности саркоидозом среди афроамериканцев США связывают с их более низким в целом социально-экономическим статусом [23].

Результаты эпидемиологического исследования, выполненного А.А. Визель и др. [28], свидетельствуют, что за последние 40 лет, несмотря на неоднородность данных, имеется общая тенденция к росту заболеваемости и распространенности саркоидоза в Российской Федерации. Самая высокая распространенность саркоидоза отмечена в Карелии — 73, а самая низкая — 8,2 на 100 тыс. населения — в Амурской области.

В Москве распространенность саркоидоза оценивалась 2,85 на 100 тыс. населения с колебаниями 8,2–1,8 на 100 тыс. населения по административным округам столицы с соотношением женщин и мужчин 2,8:1. Среди мужчин наибольший показатель распространенности составил 9,0 на 100 тыс. мужского населения, а среди женщин – 7,8 на 100 тыс. женского населения [1]. В Санкт-Петербурге за период 1998–2008 гг. заболеваемость и распространенность саркоидоза органов дыхания изменялись с 2,6 до 3,9 и с 16,5 до 25,1 на 100 тыс. населения соответственно.

В Омске распространенность саркоидоза за период 2003–2011 гг. выросла с 4,1 до 24,6 случаев на 100 тыс. населения с соотношением женщин и мужчин 2,7:1. В Республике Татарстан (2014) распространенность саркоидоза составляла 51,4 на 100 тыс., а заболеваемость – 2,7 на 100 тыс. в год с соотношением женщин и мужчин 2,5:1 [29].

В основном – примерно в 70 % случаев – заболевание диагностируется у пациентов в возрасте от 25 до 60 лет с пиком заболеваемости на период 40–50 лет [2]. Реже отмечаются случаи у больных < 15 и > 70 лет [2, 30, 31]. По данным недавнего крупного исследования, проведенного в Японии, из 10 910 случаев саркоидоза, женщин насчитывалось 7504 (68,8 %), их средний возраст составил 69,7 лет, а мужчин – 62,6 года [8].

Эпидемиология кардиального саркоидоза

Довольно сложно точно сказать, насколько часто поражается сердце при саркоидозе, вследствие частого субклинического течения заболевания со стёртыми проявлениями кардиальной патологии. Кроме того, отсутствуют единые стандартизированные критерии диагностики КС [10, 32, 33]. По данным многочисленных исследований, частота поражения сердца при саркоидозе довольно широко варьирует – от 3 до 39 % [11, 33–36]. По результатам серий аутопсий гистологические признаки КС обнаруживаются гораздо чаще, достигая 47 % случаев [37, 38]. Более высокая распространенность КС в Японии по сравнению с западными странами, по-видимому, обусловлена различиями в генетической предрасположенности и влиянием окружающей среды [39].

В исследовании «Этиологическое исследование саркоидоза случай-контроль» (A Case Control Etiologic Study of Sarcoidosis, ACCESS) в США среди 736 пациентов с саркоидозом КС был диагностирован лишь у 17 человек (2,3 %) [40]. При этом поражение сердца отмечалось чаще у мужчин, чем у женщин (3,4 % и 1,7 % соответственно).

Te HS. et al. [41] по результатам исследования 187 пациентов с морфологически установленным диагнозом «саркоидоз» в Миннесоте (США), признаки КС были выявлены у 10,7 % больных, что значительно выше при сравнении с данными других исследований (от 0 до 4,0 %) [40, 42].

Высокая распространённость КС отмечена в исследовании, проведенном в США, среди 62 пациентов с саркоидозом [43]. Больным с жалобами на сердцебиение,

пре- или синкопе, с изменениями на ЭКГ, включая холтеровское мониторирование, и/или на эхокардиограмме, выполнялись МРТ сердца или позитронно-эмиссионная томография. Благодаря методам визуализации признаки КС обнаружены у 24 (39 %) больных.

В последние десятилетия отмечается увеличение распространённости как системного, так и КС, что обусловлено растущим вниманием со стороны медицинского сообщества и усовершенствованием методов диагностики [13]. Например, отмечено 20-кратное увеличение ежегодной заболеваемости КС в Финляндии за период 1988–2012 гг. с уровнем распространенности КС 14 случаев на 100 тыс. населения в 2012 г. [44, 45]. По-видимому, существуют этнически обусловленные различия не только в распространенности системного саркоидоза, но и в частоте поражения сердца. Например, частота КС в Японии составляет 58–70 % и считается одной из ведущих причин внезапной сердечной смерти у молодых людей [10, 13, 41]. По всей вероятности, различается также клинический фенотип КС в зависимости от этнической принадлежности и пола. Например, симптомная СН чаще встречается у темнокожих по сравнению с европеоидами и у женщин по сравнению с мужчинами. В то время как желудочковые аритмии чаще наблюдаются у мужчин, чем у женщин [13].

Считается, что КС ответственен за 13–25 % всех смертельных случаев при этом заболевании, а в Японии – за 47–85 % случаев [3]. В частности, при изучении причин смертности среди 320 пациентов с саркоидозом кардиальная патология была ответственна за 46,9 % случаев в то время, как клинический диагноз КС был поставлен лишь у 26,7 % больных [38].

КС обычно развивается преимущественно у молодых людей в возрасте 20–60 лет с максимальной частотой на период 40–50 лет [11]. При этом мужчины чуть более предрасположены к поражению сердца, чем женщины [10]. Поражение сердца при саркоидозе может развиваться параллельно с вовлечением в патологический процесс других органов, чаще всего бронхолегочной системы, равно как манифестировать самостоятельно [46]. Частота поражения лёгких среди пациентов с КС составляет 50–90 %. Таким образом, лёгочный саркоидоз рассматривается в качестве существенного фактора риска развития кардиальной патологии, особенно у больных с обширным легочным фиброзом и ухудшением функции дыхания [11].

Этиология и патогенез

Этиология саркоидоза остаётся неизвестной, несмотря на многочисленные исследования, выполненные в последние десятилетия, посвященные изучению возможных причин заболевания [3, 7, 47]. Большинство ученых придерживаются взглядов, что саркоидоз развивается в результате комбинации генетической предрасположенности и воздействия неких факторов окружающей среды — так называемая гипотеза «двойного удара» (two-hit hypothesis) [23]. Полагают, что при наличии у человека генетических

особенностей, предрасполагающих к заболеванию, при воздействии какого-либо внешнего триггера, например, органического или неорганического агента, развивается фенотип заболевания [7, 23]. Обсуждается влияние генетических характеристик, особенностей образа жизни, профессиональных условий в развитии саркоидоза для понимания гетерогенности заболеваемости, клинической картины, и тяжести его течения среди различных групп населения [48].

В многоцентровом исследовании ACCESS [40] при обследовании более 700 пациентов с саркоидозом и около 30 тыс. их родственников не было выявлено ни одного возбудителя или генного локуса, ответственного за саркоидоза. Однако, обнаружено много вероятных причин, в частности генетических особенностей, учитывая нередкие кластерные варианты семейных случаев саркоидоза. Семейные кластеры регистрируются примерно в 19 % случаев в семьях афроамериканцев, однако в европеоидных семьях этот показатель не превышает 5 %. Монозиготные близнецы страдают саркоидозом чаще, чем дизиготные [23].

Саркоидоз ассоциируется с полиморфизмом человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), однако специфический генетический вариант не идентифицирован [37, 49]. Иммунологический ответ CD4+ Т-клеток при саркоидозе связан с генами HLA, которые, как известно, влияют на восприимчивость к заболеванию, его течение и тяжесть [1, 46, 47]. Поражение сердца при саркоидозе, вероятнее всего, связано с аллелями *DQB1*0601* и *DRB1*0803*, в то время как *DRB1*0101* и *DQB1*0501* ассоциируются с более мягким течением заболевания и защищают от развития легочного фенотипа [50–52]. Наличие аллеля *DRB1*11* ассоциируется

с риском развития АВ-блокады и жизнеопасных нарушений ритма, а *DRB1*13* – миокардиальной дисфункции (табл. 1) [7, 53]. Обнаружено, что однонуклеотидные полиморфизмы в генах, отличных от HLA, включая *CCR2*, *CCR5*, *sACE*, *IL1A*, *IL23R*, *TNF-α* и *NOD2*, *FCGR*, были связаны с саркоидозом [54].

Обсуждаются генетические особенности, лежащие в основе частой кардиальной патологии среди жителей Японии. В исследовании, проведенном с участием 26 японских пациентов с КС, при изучении генного полиморфизма отмечена более высокая частота аллеля фактора некроза опухоли (TNF)-α по сравнению с контрольной группой [59], что, однако, не было подтверждено в дальнейших исследованиях. Возможно, выявленные генетические изменения ответственны за усиленную продукцию TNF-α, играющего важную роль в воспалительном ответе и созревании гранулёмы [59].

Ключевая роль в иммунном ответе отводится Th1-клеткам и повышенным уровням связанных с ними цитокинов, таких как интерлейкин (IL)-2, IL-12, интерферон-γ (IFN-γ) и TNF-α (рис. 1) [60, 61]. Применение IFN и индукторов интерфероногенеза в качестве иммуномодуляторов в терапии ряда заболеваний рассматривается в качестве фактора риска развития саркоидоза [1]. Кроме того, в патогенезе саркоидоза важная роль отводится клеткам Th17 и регуляторным клеткам (Treg-клеткам).

Имеются многочисленные исследования, подтверждающие связь инфекционных возбудителей с саркоидозом (табл. 2). Однако пока нет единого мнения о точных патогенетических механизмах, благодаря которым инфекция вызывает саркоидное воспаление.

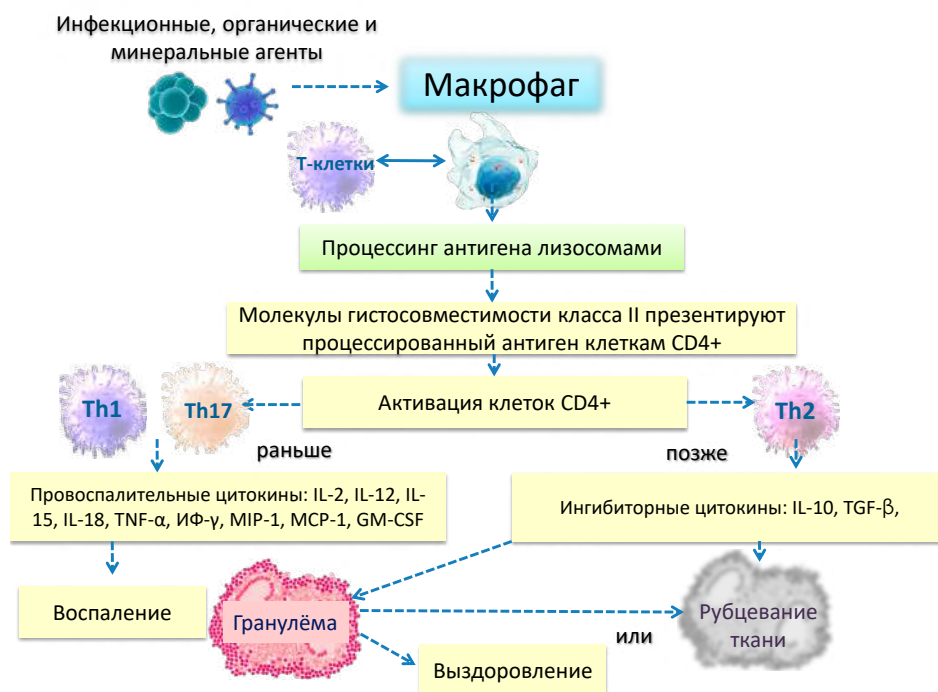
ТАБЛИЦА 1

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ HLA И КЛИНИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ САРКОИДОЗА

TABLE 1

HLA GENE POLYMORPHISM AND CLINICAL ASSOCIATIONS WITH SARCROIDOSIS PRESENTATION

Аллель HLA	Подтип, клиническая особенность	Прогноз	Автор
<i>HLA-DRB1*03</i>	Синдром Лефгрена, самоограничивающееся заболевание	Благоприятный прогноз, частые ремиссии	Darlington P. et al., 2023 [53]
<i>HLA-DRB1*15</i>	Хронический саркоидоз	Неблагоприятный прогноз, персистирующее течение заболевания	Darlington P. et al., 2023 [53]
<i>HLA-DRB1*07</i>	Лимфопения, необходимость в системной терапии	Неблагоприятный прогноз, заболевание рефракторное к лечению	Darlington P. et al., 2023 [53]
<i>HLA-DRB1*11</i>	Кардиальный саркоидоз с АВ-блокадой II и III степени	Высокий риск нарушений ритма сердца	Eldhagen P. et al., 2022 [55]
<i>HLA-DRB1*13</i>	Кардиальный саркоидоз, манифестирующий желудочковой тахикардией	Ассоциируется с миокардиальной дисфункцией	Eldhagen P. et al., 2022 [55]
<i>DQCAR 182</i>	Саркоидоз среди афроамериканцев	Вариант заболевания высокого риска	Rybicki B.A. et al., 2003 [56]
<i>HLADRB11*01</i>	Предрасположенность к саркоидозу у афроамериканцев	Вариант заболевания высокого риска	Rybicki B.A. et al., 2003 [56]
<i>HLADQB1*0602</i>	Саркоидоз среди жителей Японии	Сочетается с глазной патологией	Suzuki H. et al., 2012 [57]
<i>HLA-DRB1*07</i>	Сочетается с хроническим течением, не фенотип Лефгрена	Более худший прогноз, тенденция к системному поражению	Sikorová K. et al., 2023 [58]



Примечания: IL – интерлейкин, TNF – фактор некроза опухоли, TGF – трансформирующий фактор роста, IFN – интерферон, MIP-1 – макрофагальный белок воспаления-1, MCP-1 – моноцитарный хемотаксический белок-1, GM-CSF – гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор.

Notes. IL – interleukin, TNF – tumor necrosis factor, TGF – transforming growth factor, IFN – interferon, MIP-1 – macrophage inflammatory protein-1, MCP-1 – monocyte chemotactic protein-1, GM-CSF – granulocyte-monocyte colony-stimulating factor.

РИС. 1.

Основные механизмы, лежащие в основе формирования саркоидной гранулёмы, в дальнейшем – рубцовых изменений

FIG. 1.

Key mechanisms underlying the formation of sarcoid granulomas and subsequent fibrotic changes

ТАБЛИЦА 2

СВИДЕТЕЛЬСТВА В ПОЛЬЗУ МИКРОБНОЙ ЭТИОЛОГИИ САРКОИДОЗА

TABLE 2

EVIDENCE FOR A MICROBIAL ETIOLOGY OF SARCOIDOSIS

Микобактерии
• Определение микробных компонентов в саркоидной ткани: - о туберкулеостеариновая кислота; - о нуклеиновая кислота микобактерий (ДНК, РНК); - о белки микобактерий: каталаза-пероксидаза микобактерий (mKatG), ESAT6, белки горячего шока (heat shock proteins). • Усиленный Т-клеточный ответ на белки микобактерий: - о mKatG, ESAT6, CFP-10, антиген-85A, SodA; - о ассоциация с HLA-DRB1*1101; - о ассоциация с последовательностью AV2S3 (Va2.3) Т-клеточного рецептора. • Циркулирующие антитела к белкам микобактерий: - о mKatG, Hsp70
Кутибактерии
• выделение микроорганизма непосредственно из тканевой культуры; • определение микробных компонентов при саркоидозе; • липотейхоевая кислота, белки, нуклеиновые кислоты кутибактерий; • цитокиновый ответ, обусловленный белками кутибактерий; • циркулирующие антитела, направленные против белков кутибактерий.
Другие микроорганизмы (непрямые доказательства)
• циркулирующие антитела к вирусам (Эпштейн – Барр, цитомегаловирус, вирус герпеса человека 6 и 8 типов, вирус иммунодефицита, Т-лимфотропный вирус человека); • циркулирующие антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i>, <i>Borrelia burgdorferi</i>.

Адаптировано из. Chen E.S и Moller D.R. (2015) [51].

В качестве возможных патогенов саркоидоза обсуждается роль ряда инфекционных организмов, в частности *Borrelia burgdorferi*, *Rickettsia helvetica*, вирус Эпштейна – Барра, человеческий вирус герпеса 8 типа и *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*, ранее известный как *Propionibacterium acnes*), однако лишь последний является единственным микроорганизмом, который удалось выделить из саркоидных поражений [1, 46, 48]. В исследованиях у пациентов с саркоидозом концентрация *C. acnes* в микробиоме кожи человека была выше, чем в контрольной группе [62]. Кроме того, в группе больных с саркоидозом уровни ДНК *C. acnes* и *C. granulosum* превышали таковые у пациентов контрольной группы. Однако все еще не ясно, действительно ли *Cutibacterium* является причиной саркоидоза, так как антимикробные агенты, ранее применяемые в лечении заболевания, были не эффективны. Вполне вероятно, что инфекционный агент, контактируя с организмом человека, вызывает первичную иммунологическую реакцию, что приводит к морфологическим и клиническим проявлениям саркоидоза вне признаков активной инфекции.

Антитела к *Mycobacterium tuberculosis* каталаз-пероксидазе (mKatG) в сыворотке и ДНК mKatG при биопсии ткани выявлены у 39 % пациентов с саркоидозом [63]. На основе полученных результатов, Chen E.S. и Moller D.R. [51] предположили, что mKatG, как патогенный антиген саркоидоза, выступает в качестве мишени иммунного ответа у некоторых больных. Было высказано предположение, что заболевание инициируется главным Т-хелперным типом 1 (Th1) иммунного ответа, который стимулирует продукцию сывороточного амилоид А протеина, связывающегося с Toll-like рецептором 2 (TLR-2) и таким образом вызывает продукцию TNF- α , IL-18, что приводит к формированию гранулём [51].

Однако ДНК *M. tuberculosis* были обнаружены в небольшом числе копий лишь в некоторых образцах лимфатических узлов пациентов с саркоидозом, и только у 3,3 % пациентов наблюдалось увеличение продукции IFN- γ , как результата иммунного ответа на раннюю секрецию мишени антигена 6 (ESAT-6) и фильтрацию культуры протеина 10 (CFP-10), что является специфичным для *M. tuberculosis*. В настоящее время нельзя утверждать, что mKatG или микобактерия вызывают развитие саркоидоза.

В качестве других факторов, связанных с повышенным риском саркоидоза, изучается влияние окружающей среды, в частности климатических условий, отражающих сезонность заболевания, профессиональных особенностей, ожирения и ингалируемой пыли [64, 65]. Предположение о существенной роли окружающей среды основано на том факте, что саркоидоз развивается в основном в органах, непосредственно контактирующих с воздухом (кожа, респираторный тракт и глаза). Непосредственное влияние особенностей окружающей среды в развитии саркоидоза подтверждается отмеченным ростом заболевания в конце зимы и начале весны и высокой распространенностью

в отдельных географических зонах (например, в Скандинавских странах, Карелии в Российской Федерации) [5, 51].

Отмечен повышенный риск развития саркоидоза у работников некоторых производств (деревообрабатывающая промышленность, добыча бериллия, обработка камней и т.д.), что предполагает иницирующую роль неорганических и органических веществ в генезе заболевания [23, 66].

Интересно, что курение, нарушая взаимодействие между макрофагами и лимфоцитами в образовании гранулём, может оказывать превентивное влияние от саркоидоза [61]. Возникновению саркоидоза в некоторых случаях предшествовали стрессовые события (смерть близких, катастрофы, проблемы на работе) [1]. Имеются наблюдения об увеличении частоты саркоидозоподобного гранулёматозного заболевания лёгких среди выживших после катастрофы Всемирного торгового центра 11 сентября 2001 г., что связывают с вдыханием большого количества пыли и влиянием чрезмерного стресса [67].

Патоморфология

Гистологические изменения при КС, как и при поражении любых других органов, характеризуются наличием многоядерных гигантских клеток в неказеифицирующихся эпителиоидных гранулёмах [68–70]. Наиболее часто при КС поражается базальная часть межжелудочковой перегородки (МЖП) (рис. 2) [12, 70].

При КС может поражаться любой отдел миокарда, включая папиллярные мышцы. На рисунке 3 представлены варианты локализации кардиальной патологии при саркоидозе [18]. Наиболее часто отмечается поражение правого желудочка, МЖП, миокарда предсердий, что приводит к фибрилляции предсердий, реже развиваются коронарный васкулит, аортит, аневризмы желудочков сердца, массивный перикардиальный выпот вплоть до тампонады сердца [18]. В некоторых случаях наблюдается преимущественное поражение эпикарда.

Гранулёма состоит из эпителиоидных клеток, многоядерных гигантских клеток, макрофагов, лимфоцитов и плазматических клеток (рис. 4) [69, 70]. Считается, что гранулёмы формируются в ответ на плохо растворимый или нерастворимый антиген для создания физического барьера и изоляции его повреждающего воздействия на прилегающие ткани [51]. Частота обнаружения типичного морфологического признака для КС гранулёмы довольно низкая и не превышает 20 %, а в большинстве биоптатов содержатся только гигантские и эпителиоидные клетки. Гистологической особенностью саркоидных гранулём является отсутствие казеозного некроза, характерного для туберкулёза. Гигантские клетки представлены многоядерными гигантскими клетками Пирогова – Лангханса с ядрами, расположенными по периферии, но могут выглядеть как многоядерные гигантские клетки по типу инородного тела или гигантских клеток Touton [69]. Гигантские клетки также могут содержать цитоплазматические

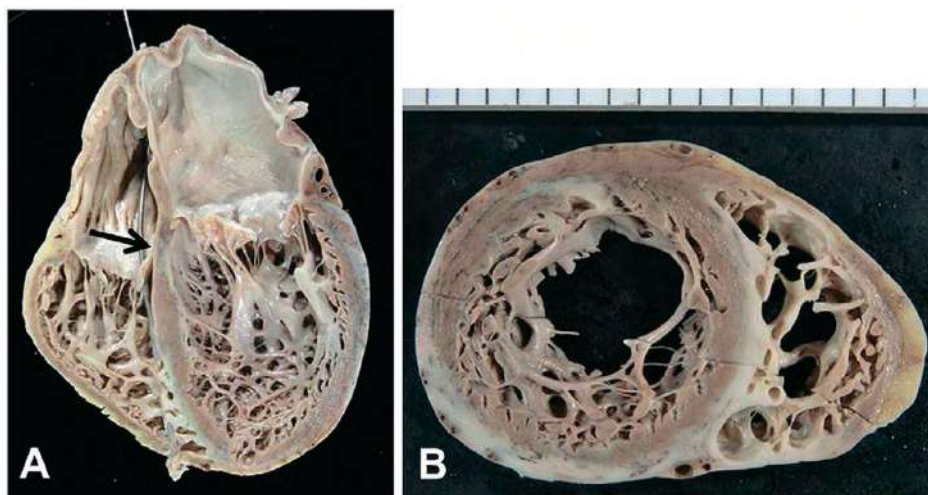


РИС. 2.

Аутопсийные снимки сердца пациента с КС. **А** – истончение МЖП с очагами рубцовых изменений особенно в базальном отделе (отмечено стрелкой). **Б** – увеличение левого и правого желудочка. Рисунок воспроизведён из Terasaki F. et al. [70] с разрешения, предоставленного Японским обществом по кровообращению.

FIG. 2.

Autopsy images of the heart of a patient with CS. **A** – thinning of the interventricular septum with foci of fibrotic changes, especially in the basal portion (indicated by an arrow). **B** – enlargement of the left and right ventricles. Reproduced from Terasaki F. et al. [70] with permission from The Japanese Circulation Society.

включения, такие как астероидные тельца и тельца Schaumann, обнаружение которых помогают диагностировать КС [68]. Степень лимфоцитарной инфильтрации в тканях, прилегающих к гранулёмам, зависит от стадии саркоидоза [16]. Как правило, лимфоциты CD4 аккумулируются преимущественно в гранулёмах, в то время как лимфоциты CD8 спорадически обнаруживаются на их периферии. На стадии рубцевания становится заметной зона фиброза при невыраженной инфильтрации лимфоцитами, и гранулёмы, как правило, со временем исчезают [68]. Наличие гигантских клеток в биоптатах миокарда убедительно свидетельствует о КС. Расположение гранулём и очагов фиброза определяет возникновение нарушений ритма и проводимости, формирование аневризмы желудочков и развитие СН при этом заболевании [16].

Наличие гигантских клеток – важный признак, позволяющий дифференцировать от других заболеваний миокарда. Без характерной гистологической картины часто бывает сложно поставить окончательный диагноз «КС», особенно при изолированном поражении сердца без признаков системного саркоидоза. Патоморфологические признаки саркоидоза сердца весьма специфичны, в биоптатах эндомиокарда часто обнаруживаются только фиброз и лимфоцитарная инфильтрация без эпителиоидных гранулём и гигантских клеток [70]. Таким образом, КС не может быть исключен при отрицательных результатах эндомикардиальной биопсии (ЭМБ) вне признаков саркоидной гранулёмы. Как правило, клинические проявления КС развиваются, когда при гистологическом исследовании отмечаются уже фиброзные изменения миокарда [70].



Примечания: ФП – фибрилляция предсердий, ПП – правое предсердие, ЛП – левое предсердие, ПЖ – правый желудочек, ЛЖ – левый желудочек. Адаптировано из Smedema J.-P., et al. [18], рисунок воспроизведен согласно условиям лицензии¹

Notes. AF – atrial fibrillation, RA – right atrium, LA – left atrium, RV – right ventricle, LV – left ventricle. Adapted from Smedema J.-P., et al. [18] under the terms of the license¹

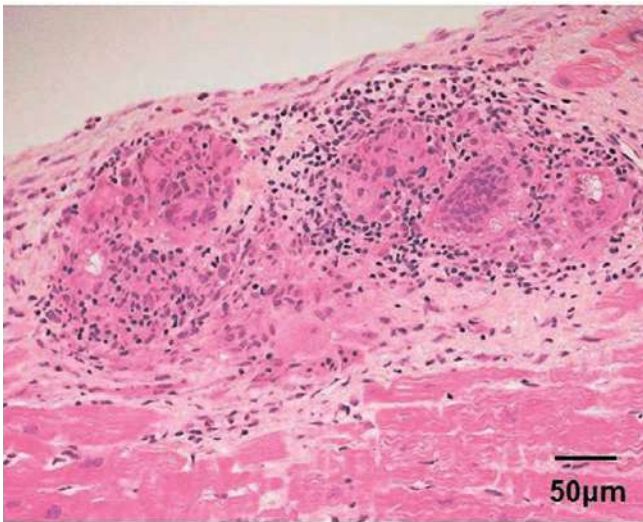
РИС. 3.

Локализация основных поражений при кардиальном саркоидозе

FIG. 3.

Localization of the main lesions in cardiac sarcoidosis

¹ <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>.



Примечания: μm – микрометр. Рисунок воспроизведён из Terasaki F, et al. [70] с разрешения, предоставленного Японским обществом по кровообращению.
Notes. μm – micrometer. Reproduced from Terasaki F, et al. [70] with permission from the Japanese Circulation Society.

РИС. 4.

Гистопатологическая картина КС. Неказеифицирующиеся эпителиоидные гранулёмы. Окраска гематоксилин-эозин. Гранулёмы состоят из многоядерных гигантских клеток, окруженные лимфоцитами и эпителиоидными клетками.

FIG. 4.

Histopathological findings of CS. Non-caseating epithelioid granulomas. Hematoxylin and eosin stain. Granulomas consist of multinucleated giant cells surrounded by lymphocytes and epithelioid cells.

Саркоидное поражение претерпевает ряд изменений, отражающих временную эволюцию патологического процесса.

Интерстициальная фаза КС (гистиоцитарный миокардит)

Саркоидоз вызывается антиген-зависимым иммунным ответом, а в качестве первоначального триггера выступают антиген-презентирующие клетки, такие как дендритные клетки и макрофаги, которые представляют неизвестный антиген лимфоцитам. Соответственно, рекрутируются преимущественно CD4+ хелперные Т-клетки, которые олигоклонально размножаются, активируются и поляризуются в Т-хелперный 1 (Th1), что приводит к соотношению Т-клеток CD4/CD8B приблизительно 10:1. В этой фазе отмечаются лимфоцитарная инфильтрация, интерстициальный отёк и последующая аккумуляция дендритных клеток CD209+ и CD68+ макрофагов, вызванных цитокинами Th1, производимыми Т-клетками, такими как IL-2 и IFN- γ , что обуславливает развитие гистиоцитарного миокардита. Большинство накапливаемых макрофагов – CD68+ CD163- – провоспалительные (M1-макрофаги), тогда как CD68+ CD163+ – противовоспалительные (M2-макрофаги) наблюдается значительно реже [71, 72].

В интерстициальной фазе формирование гранулёмы не столь очевидно, что осложняет постановку диагноза КС по исследованию биоптата при ЭМБ.

В качестве гистологического суррогатного показателя может выступать обнаружение увеличения количества дендритных клеток и снижения числа M2-макрофагов в миокарде при ЭМБ, даже если саркоидная гранулёма четко не визуализируется [72].

В дальнейшем происходит активация M1-макрофагов за счёт контактного взаимодействия с хелперными Т-клетками CD4+ с помощью CD40 и последующей секреции IFN- γ они превращаются в эпителиоидные клетки, имеющие удлинённую форму, бледную и эозинофильную мелкозернистую цитоплазму и центральное овоидное ядро [71]. Некоторые эпителиоидные клетки сливаются, образуя многоядерные гигантские клетки. Соответственно, активированные M1-макрофаги, многоядерные гигантские клетки и дендритные клетки иногда образуют нечетко очерченные гранулёмы [72].

По мере накопления M1-макрофагов и инфильтрации CD4+ хелперными Т-клетками, дальнейшая миграция и активация лимфоцитов и макрофагов, поступающих из правых паратрахеальных лимфатических узлов, замедляется вследствие обструкции лимфодренажа [73]. В результате часто индуцируется лимфангиогенез, и в поражённых участках увеличивается количество лимфатических сосудов D2-40+. При КС наиболее часто поражается базальная часть и правая сторона МЖП, боковая стенка ЛЖ и переднебоковая папиллярная мышца, куда поступает лимфа из правых паратрахеальных лимфатических узлов, имеющих обширную сеть лимфатических капилляров [73].

Гранулематозная фаза кардиального саркоидоза

С прогрессированием заболевания некоторые цитокины в локальной среде, в частности IL-8, TNF- α и макрофагальный белок воспаления 1 α , активизируют дополнительные Т-клетки и макрофаги [51]. Это способствует образованию более плотных гранулём, в центре которых накапливаются активированные M1-макрофаги, многоядерные гигантские клетки и некоторое количество CD4+ хелперных Т-клеток, окруженных CD8+ цитотоксическими Т-клетками. Как правило, эти четко очерченные гранулёмы морфологически «голые» (naked), то есть окруженные небольшим количеством лимфоцитов и плазматических клеток. В большинстве руководств саркоидные гранулёмы описываются как «голые» и «неказеифицирующиеся», что считается гистологическими признаками саркоидоза. Однако интенсивность инфильтрации лимфоцитами и плазматическими клетками у разных пациентов различна, и могут также наблюдаться не «голые» эпителиоидные гранулёмы [71].

Тельца Schaumann, представляющие собой овальные концентрические наслоения кальцифицированных белков, часто выявляются в многоядерных гигантских клетках саркоидных гранулём (до 88 % случаев), в то время как астероидные тельца, представляющие собой звёздчатые структуры, состоящие из нитевидных микротрубочек, наблюдаются реже [68].

Фиброзная фаза кардиального саркоидоза

В фиброзной фазе отмечается переход цитокинового профиля от Th1 к преобладанию Th2, что, вероятно,

обусловлено реакцией на персистирующее гранулематозное воспаление [74]. Th2-клетки секретируют IL-4, IL-5 и IL-13, которые ответственны за альтернативный путь активации макрофагов, приводящий к продукции M2-макрофагов [74]. В этой фазе может наблюдаться больше макрофагов CD68+ CD163+ M2, чем в интерстициальной фазе, хотя постоянно обнаруживаются M1-макрофаги CD68+ CD163- [71].

M2-макрофаги продуцируют цитокины, стимулирующие фиброз, такие как трансформирующий фактор роста (TGF)- β и лиганд хемокинового мотива CC (CCL18) 18. TGF- β приводит к привлечению, активации и пролиферации фибробластов и стимулирует их к выработке коллагена, фибронектина и протеогликанов. TGF- β ингибирует деградацию коллагена, дезактивируя матриксные металлопротеиназы и активируя ингибиторы протеиназ. CCL18 также непосредственно стимулирует выработку коллагена фибробластами. Таким образом, поражения, в которых более 30–50 кардиомиоцитов приводят к некрозу, замещаются сливным (confluent) фиброзом. Липоциты могут проникать в освобожденные пространства миокарда, где объем миокарда уменьшается вследствие фиброза, формируя жировую инфильтрацию [75].

В дальнейшем у некоторых пациентов в саркоидных гранулемах развиваются фиброзные изменения с тяжелым или длительным саркоидным воспалением. Изменения обычно начинаются на периферии гранулем и, в конечном счете, гранулемы полностью замещаются плотным фиброзом [18, 76]. Прогрессирование фиброзного процесса может обуславливать формирование аневризм и развитие фенотипа дилатационной кардиомиопатии.

При отсутствии в миокардиальных биоптатах неказеифицирующихся гранулём вполне применима комбинация новых суррогатных морфологических данных, таких как наличие микрогранулём, скопление M1-макрофагов, признаки лимфоангиогенеза, фрагменты *S. asne*, картина фиброза и жировой инфильтрации миокарда [71].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из висцеральных поражений системного саркоидоза является КС, который оказывает существенное влияние на клиническую картину и прогноз заболевания. Несмотря на колебания значений распространенности и заболеваемости саркоидоза во всем мире, в последнее время отмечен рост случаев кардиальной патологии при саркоидозе, что обусловлено в первую очередь расширением диагностических возможностей. К настоящему времени не идентифицирован точный патоген заболевания, в связи с чем, обсуждается широкий спектр возможных причин, включая факторы окружающей среды, инфекционные возбудители и генетическую предрасположенность. В патогенезе саркоидоза ведущая роль отводится Т-клеткам и каскаду цитокинов, приводящих

к образованию неказеифицирующихся гранулём. В зависимости от преимущественной локализации гранулём в сердце, выраженности и стадийности морфологических изменений, определяется клиническая картина КС: нарушения проводимости, аритмии, СН, перикардальная патология, аортит, формирование аневризм и т.д. Решающая роль в диагностике КС отводится гистологическому исследованию миокарда, хотя саркоидные гранулемы выявляются лишь в 20 % случаев.

Благодарность

Авторы выражают свою искреннюю благодарность проф. д.м.н. Визель А.А. за ценную консультативную помощь в подготовке настоящей статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Баранова О.П., Борисов С.Е., Геппе Н.А. и др. Саркоидоз: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению. *Пульмонология*. 2022; 32(6): 806–833. [Chuchalin AG, Avdeev SN, Ajsanov ZR, Baranova OP, Borisov SE, Geppe NA. Sarcoidosis: federal clinical guidelines for diagnosis and treatment. *Russian Pulmonology Journal*. 2022; 32(6): 806–833. (In Russ.)]. doi: 10.18093/0869-0189-2022-32-6-806-833
2. Sharma R, Kouranos V, Cooper LT, Metra M, Ristic A, Heidecker B, et al. Management of cardiac sarcoidosis. *European heart journal*. 2024; 45(30): 2697–2726. doi: 10.1093/eurheartj/ehae356
3. Hamzeh N, Steckman DA, Sauer WH, Judson MA. Pathophysiology and clinical management of cardiac sarcoidosis. *Nature reviews. Cardiology*. 2015; 12(5): 278–288. doi: 10.1038/nrcardio.2015.22
4. Birnie DH, Nery PB, Ha AC, Beanlands RS. Cardiac sarcoidosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016; 68(4): 411–21. doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.605
5. Визель А.А., Визель И.Ю., Амиров Н.Б. Эпидемиология саркоидоза в Российской Федерации. *Вестник современной клинической медицины*. 2017; 10(5): 66–73. [Vizel' AA, Vizel' IYu, Amirov NB. Epidemiology of sarcoidosis in the Russian Federation. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2017; 10(5): 66–73. (In Russ.)]. doi: 10.20969/VSKM.2017.10(5).66-73
6. Hena KM. Sarcoidosis epidemiology: race matters. *Frontiers in immunology*. 2020; 11: 537382. doi: 10.3389/fimmu.2020.537382
7. Serçe Unat D. Epidemiology and etiology of sarcoidosis. Shedding light on sarcoidosis – the path from etiology to prognosis. *Intech Open Journals*. 2025; 1-18. doi: 10.5772/intechopen.1011795
8. Miyashita K, Hashimoto K, Maeda S, Suda T. Current epidemiological and clinical features of sarcoidosis in Ja-

- pan: a nationwide claims data study. *Cureus*. 2025; 17(5): e83328. doi: 10.7759/cureus.83328
9. Tan JL, Fong HK, Birati EY, Han Y. Cardiac Sarcoidosis. *The American journal of cardiology*. 2019; 123(3): 513–522. doi: 10.1016/j.amjcard.2018.10.021
10. Santulli G. Cardiac Sarcoidosis: updated insights on epidemiology and diagnostic criteria. *American journal of cardiology*. 2023; 204: 425–427. doi: 10.1016/j.amjcard.2023.07.123
11. Farina N, De Luca G, Peretto G, Bartoli A, Esposito A, Matucci-Cerinic M, et al. Cardiac sarcoidosis: clinical insights, diagnosis, and management strategies. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2025; 26(2): 26605. doi: 10.31083/RCM26605
12. Шабалин В.В., Гринштейн Ю.И. Кардиальный саркоидоз: современные возможности диагностики и подходы к терапии. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(11): 4052. [Shabalin VV, Grinshtejn Yul. Cardiac sarcoidosis: modern diagnostics and therapy. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(11): 4052. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4052
13. Cheng RK, Kittleson MM, Beavers CJ, Birnie DH, Blankstein R, Bravo PE, et al. Diagnosis and management of cardiac sarcoidosis: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2024; 149(21): e1197–e1216. doi: 10.1161/CIR.0000000000001240
14. Kawai H, Sarai M, Kato Y, Naruse H, Watanabe A, Matsuyama T, et al. Diagnosis of isolated cardiac sarcoidosis based on new guidelines. *ESC heart failure*. 2020; 7(5): 2662–2671. doi: 10.1002/ehf2.12853
15. Mankad P, Mitchell B, Birnie D, Kron J. Cardiac sarcoidosis. *Current cardiology reports*. 2019; 21(12): 152. doi: 10.1007/s11886-019-1238-1
16. Трисветова Е.Л., Юдина О.А., Смоленский А.З., Черствый Е.Д. Диагностика изолированного саркоидоза сердца. *Архив патологии*. 2019; 81(1): 57–64. [Trisvetova EL, Iudina OA, Smolensky AZ, Cherstvyi ED. Diagnosis of isolated cardiac sarcoidosis. *Russian Journal of Archive of Pathology*. 2019; 81(1): 57–64. (In Russ.)]. doi: 10.17116/patol20198101157
17. Майрина С.В., Рыжкова Д.В., Митрофанова Л.Б., Рыжков А.В., Муртазалиева П.М., Моисеева О.М. Современные подходы к диагностике и лечению саркоидоза сердца: результаты когортного исследования. *Российский кардиологический журнал*. 2023; 28(5): 23–30. [Majrina SV, Ryzhkova DV, Mitrofanova LB, Ryzhkov AV, Murtazalieva PM, Moiseeva OM. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cardiac sarcoidosis: results of a cohort study. *Russian Journal of Cardiology*. 2023; 28(5): 23–30. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5301
18. Smedema JP, Ainslie G, Crijns HJGM. Review: Contrast-enhanced magnetic resonance in the diagnosis and management of cardiac sarcoidosis. *Progress in cardiovascular diseases*. 2020; 63(3): 271–307. doi: 10.1016/j.pcad.2020.03.011
19. Baughman RP, Field S, Costabel U, Crystal RG, Culver DA, Drent M, et al. Sarcoidosis in America. Analysis based on health care use. *Annals of the American Thoracic Society*. 2016; 13(8): 1244–1252. doi: 10.1513/AnnalsATS.201511-760OC
20. Salonen J, Kaarteenaho R. National retrospective registry survey on the epidemiology of sarcoidosis in Finland 2002–2022. *BMJ open respiratory research*. 2024; 11(1): e002461. doi: 10.1136/bmjresp-2024-002461
21. Fidler LM, Balter M, Fisher JH, To T, Stanbrook MB, Gershon A. Epidemiology and health outcomes of sarcoidosis in a universal healthcare population: a cohort study. *The European respiratory journal*. 2019; 54(4): 1900444. doi: 10.1183/13993003.00444-2019
22. Arkema EV, Grunewald J, Kullberg S, Eklund A, Askling J. Sarcoidosis incidence and prevalence: a nationwide register-based assessment in Sweden. *The European respiratory journal*. 2016; 48(6): 1690–1699. doi: 10.1183/13993003.00477-2016
23. Freeman AM, Weinberger HD. Cardiac sarcoidosis: key concepts in pathogenesis, disease management, and interesting cases. *Springer International Publishing: Imprint: Springer*. 2015; 176. doi: 10.1007/978-3-319-14624-9
24. Park JE, Kim YS, Kang MJ, Kim CJ, Han CH, Lee SM, et al. Prevalence, incidence, and mortality of sarcoidosis in Korea, 2003–2015: A nationwide population-based study. *Respiratory medicine*. 2018; 144S: S28–S34. doi: 10.1016/j.rmed.2018.03.028
25. Arkema EV, Cozier YC. Sarcoidosis epidemiology: recent estimates of incidence, prevalence and risk factors. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2020; 26(5): 527–534. doi: 10.1097/MCP.0000000000000715
26. Yoon HY, Kim HM, Kim YJ, Song JW. Prevalence and incidence of sarcoidosis in Korea: a nationwide population-based study. *Respiratory research*. 2018; 19(1): 158. doi: 10.1186/s12931-018-0871-3
27. Wu CH, Chung PI, Wu CY, Chen YT, Chiu YW, Chang YT, et al. Comorbid autoimmune diseases in patients with sarcoidosis: a nationwide case-control study in Taiwan. *The Journal of dermatology*. 2017; 44(4): 423–430. doi: 10.1111/1346-8138.13654
28. Визель А.А., Визель И.Ю. Саркоидоз: основные положения проекта Федеральных клинических рекомендаций. *Терапия*. 2019; 5(31): 20–26. [Vizel' AA, Vizel' IYu. Sarcoidosis: basic provisions of the project of federal clinical recommendations. *Therapy*. 2019; 5(31): 20–26. (In Russ.)]. doi: 10.18565/therapy.2019.5.20-26
29. Визель И.Ю., Визель А.А. Характеристика регистра больных саркоидозом в Республике Татарстан. *Вестник современной клинической медицины*. 2015; 8(5): 18–26. [Vizel' IYu, Vizel' AA. Characteristic of sarcoidosis register in the Republic of Tatarstan. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2015; 8(5): 18–26. (In Russ.)].
30. Vereckei A, Besenyi Z, Nagy V, Radics B, Vágó H, Jenei Z, et al. Cardiac sarcoidosis: a comprehensive clinical review. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2024; 25(2): 37. doi: 10.31083/j.rcm2502037
31. Valeyre D, Prasse A, Nunes H, Uzunhan Y, Brillet PY, Müller-Quernheim J. Sarcoidosis. *Lancet*. 2014; 383(9923): 1155–67. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60680-7
32. Ueberham L, Hagendorff A, Klingel K, Paetsch I, Jahnke C, Kluge T, et al. Pathophysiological gaps, diag-

nostic challenges, and uncertainties in cardiac sarcoidosis. *Journal of the American Heart Association*. 2023; 12(6): e027971. doi: 10.1161/JAHA.122.027971

33. De Bortoli A, Birnie DH. Diagnosis and treatment of cardiac sarcoidosis. *Circulation journal*. 2023; 87(4): 471–480. doi: 10.1253/circj.CJ-22-0671

34. Rubio-Rivas M, Corbella X. Clinical phenotypes and prediction of chronicity in sarcoidosis using cluster analysis in a prospective cohort of 694 patients. *European journal of internal medicine*. 2020; 77: 59–65. doi: 10.1016/j.ejim.2020.04.024

35. Schupp JC, Freitag-Wolf S, Bargagli E, Mihailović-Vučinić V, Rottoli P, Grubanovic A, et al. Phenotypes of organ involvement in sarcoidosis. *The European respiratory journal*. 2018; 51(1): 1700991. doi: 10.1183/13993003.00991-2017

36. Han YS, Rivera-Grana E, Salek S, Rosenbaum JT. Distinguishing uveitis secondary to sarcoidosis from idiopathic disease: cardiac implications. *JAMA ophthalmology*. 2018; 136(2): 109–115. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.5466

37. Iannuzzi MC, Rybicki BA, Teirstein AS. Sarcoidosis. *The New England journal of medicine*. 2007; 357(21): 2153–2165. doi: 10.1056/NEJMra071714

38. Iwai K, Takemura T, Kitaichi M, Kawabata Y, Matsui Y. Pathological studies on sarcoidosis autopsy. II. Early change, mode of progression and death pattern. *Acta pathologica japonica*. 1993; 43(7–8): 377–385. doi: 10.1111/j.1440-1827.1993.tb01149.x

39. Giotra NA, Griffin JM, Pavlovic N, Houston BA, Chasler J, Goetz C. Sarcoidosis-related cardiomyopathy: current knowledge, challenges, and future perspectives state-of-the-art review. *Journal of cardiac failure*. 2022; 28(1): 113–132. doi: 10.1016/j.cardfail.2021.06.016

40. Rybicki BA, Iannuzzi MC, Frederick MM, Thompson BW, Rossman MD, Bresnitz EA, et al. Familial aggregation of sarcoidosis. A case-control etiologic study of sarcoidosis (ACCESS). *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2001; 164(11): 2085–2091. doi: 10.1164/ajrccm.164.11.2106001

41. Te HS, Perlman DM, Shenoy C, Steinberger DJ, Cogswell RJ, Roukoz H, et al. Clinical characteristics and organ system involvement in sarcoidosis: comparison of the University of Minnesota cohort with other cohorts. *BMC pulmonary medicine*. 2020; 20(1): 155. doi: 10.1186/s12890-020-01191-x

42. Markevitz N, Epstein Shochet G, Levi Y, Israeli-Shani L, Shitrit D. Sarcoidosis in Israel: clinical outcome status, organ involvement, and long-term follow-up. *Lung*. 2017; 195(4): 419–424. doi: 10.1007/s00408-017-0015-4

43. Mehta D, Lubitz SA, Frankel Z, Wisnivesky JP, Einstein AJ, Goldman M, et al. Cardiac involvement in patients with sarcoidosis: diagnostic and prognostic value of outpatient testing. *Chest*. 2008; 133(6): 1426–1435. doi: 10.1378/chest.07-2784

44. Kandolin R, Lehtonen J, Airaksinen J, Vihinen T, Miettinen H, Ylitalo K, et al. Cardiac sarcoidosis: epidemiology, characteristics, and outcome over 25 years in a na-

tionwide study. *Circulation*. 2015; 131(7): 624–632. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011522

45. Lehtonen J, Uusitalo V, Pöyhönen P, Mäyränpää M, Kupari M. Cardiac sarcoidosis: phenotypes, diagnosis, treatment, and prognosis. *European heart journal*. 2023; 44(17): 1495–1510. doi: 10.1093/eurheartj/ehad067

46. Mathai SV, Patel S, Jorde UP, Rochlani Y. Epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of cardiac sarcoidosis. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*. 2022; 18(2): 78–93. doi: 10.14797/mdcvj.1057

47. Kysperska K, Kuchynka P, Palecek T. Cardiac sarcoidosis: from diagnosis to treatment. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2021; 165(4): 347–359. doi: 10.5507/bp.2021.057

48. Markatis E, Afthinos A, Antonakis E, Papanikolaou IC. Cardiac sarcoidosis: diagnosis and management. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2020; 21(3): 321–338. doi: 10.31083/j.rcm.2020.03.102

49. Neves FS, Pereira IA, Sztajnbock F, Neto NSR. Sarcoidosis: a general overview. *Advances in rheumatology*. 2024; 64(1): 57. doi: 10.1186/s42358-024-00381-z

50. Rybicki BA, Sinha R, Iyengar S, Gray-McGuire C, Elston RC, Iannuzzi MC. Genetic linkage analysis of sarcoidosis phenotypes: the sarcoidosis genetic analysis (SAGA) study. *Genes and immunity*. 2007; 8(5): 379–386. doi: 10.1038/sj.gene.6364396

51. Chen ES, Moller DR. Etiologies of sarcoidosis. *Clinical reviews in allergy and immunology*. 2015; 49(1): 6–18. doi: 10.1007/s12016-015-8481-z

52. Мановицкая Н.В., Богуш Л.С., Давидовская Е.И., Мановицкая В.О., Якубеня О.Н. Роль некоторых генетических факторов в развитии саркоидоза (обзор). *Рецепт*. 2024; 27(6): 870–881. [Manovitskaya NV, Bogush LS, Davidovskaya EI, Manovitskaya VO, Yakubenya ON. The role of some genetic factors in the development of sarcoidosis (review). *Recept = Prescription*. 2024; 27(6): 870–881. (In Russ.).] doi: 10.34883/Pl.2024.27.6.003

53. Darlington P, Melin J, Rivera N, Grunewald J, Eklund A, Kullberg S. Peripheral blood lymphopenia in sarcoidosis associates with HLA-DRB1 alleles but not with lung immune cells and organ involvement. *Clinical and experimental immunology*. 2023; 13: 213(3): 357–362. doi: 10.1093/cei/uxad052

54. Rivera NV, Ronninger M, Shchetynsky K, Franke A, Nöthen MM, Müller-Quernheim J, et al. High-density genetic mapping identifies new susceptibility variants in sarcoidosis phenotypes and shows genomic-driven phenotypic differences. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2016; 193(9): 1008–1022. doi: 10.1164/rccm.201507-1372OC

55. Eldhagen P, Bobbio E, Darlington P, Grunewald J, Eklund A, Polte CL, et al. Phenotypic and HLA-DRB1 allele characterization of Swedish cardiac sarcoidosis patients. *International journal of cardiology*. 2022; 359: 108–112. doi: 10.1016/j.ijcard.2022.04.006

56. Rybicki BA, Malariak MJ, Poisson LM, Sheffer R, Chen KM, Major M, et al. The major histocompatibility complex gene region and sarcoidosis susceptibility in Af-

rican Americans. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2003; 167(3): 444–449. doi: 10.1164/rccm.2112060

57. Suzuki H, Ota M, Meguro A, Katsuyama Y, Kawagoe T, Ishihara M, et al. Genetic characterization and susceptibility for sarcoidosis in Japanese patients: risk factors of BTNL₂ gene polymorphisms and HLA class II alleles. *Investigative ophthalmology and visual science*. 2012; 53(11): 7109–7115. doi: 10.1167/iov.12-10491

58. Sikorova K, Osoegawa K, Kocourkova L, Strnad A, Petrakova J, Fernández-Viña MA, et al. Association between sarcoidosis and HLA polymorphisms in a Czech population from Central Europe: focus on a relationship with clinical outcome and treatment. *Frontiers in medicine*. 2023; 10: 1094843. doi: 10.3389/fmed.2023.1094843

59. Takashige N, Naruse TK, Matsumori A, Hara M, Nagai S, Morimoto S, et al. Genetic polymorphisms at the tumour necrosis factor loci (TNFA and TNFB) in cardiac sarcoidosis. *Tissue antigens*. 1999; 54(2): 191–193. doi: 10.1034/j.1399-0039.1999.540211.x

60. Darlington P, Haugom-Olsen H, von Sivers K, Wahlström J, Runold M, Svjatocha V, et al. T-cell phenotypes in bronchoalveolar lavage fluid, blood and lymph nodes in pulmonary sarcoidosis-indication for an airborne antigen as the triggering factor in sarcoidosis. *Journal of internal medicine*. 2012; 272(5): 465–471. doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02543.x

61. Shah HH, Zehra SA, Shahrukh A, Waseem R, Hussain T, Hussain MS, et al. Cardiac sarcoidosis: a comprehensive review of risk factors, pathogenesis, diagnosis, clinical manifestations, and treatment strategies. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2023; 10: 1156474. doi: 10.3389/fcvm.2023.1156474

62. Homma JY, Abe C, Chosa H, Ueda K, Saegusa J, Nakayama M, et al. Bacteriological investigation on biopsy specimens from patients with sarcoidosis. *The Japanese journal of experimental medicine*. 1978; 48(3): 251–255.

63. Song Z, Marzilli L, Greenlee BM, Chen ES, Silver RF, Askin FB, et al. Mycobacterial catalase-peroxidase is a tissue antigen and target of the adaptive immune response in systemic sarcoidosis. *The Journal of experimental medicine*. 2005; 201(5): 755–767. doi: 10.1084/jem.20040429

64. Ungprasert P, Crowson CS, Matteson EL. Seasonal variation in incidence of sarcoidosis: a population-based study, 1976–2013. *Thorax*. 2016; 71(12): 1164–1166. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209032

65. Vihlborg P, Bryngelsson IL, Andersson L, Graff P. Risk of sarcoidosis and seropositive rheumatoid arthritis from occupational silica exposure in Swedish iron foundries: a retrospective cohort study. *BMJ Open*. 2017; 7(7): e016839. doi: 10.1136/bmjopen-2017-016839

66. Fazio JC, Viragh K, Houlroyd J, Gandhi SA. A review of silicosis and other silica-related diseases in the engineered stone countertop processing industry. *Journal of occupational medicine and toxicology*. 2025; 20(1): 9. doi: 10.1186/s12995-025-00455-8

67. Hena KM, Murphy S, Zhang Y, Shao Y, Kazeros A, Reibman J. Clinical evaluation of sarcoidosis in community members with World Trade Center dust exposure. *International journal of environmental research and public health*. 2019; 16(7): 1291. doi: 10.3390/ijerph16071291

68. Lagana SM, Parwani AV, Nichols LC. Cardiac sarcoidosis: a pathology-focused review. *Archives of pathology and laboratory medicine*. 2010; 134(7): 1039–1046. doi: 10.5858/2009-0274-RA.1

69. Чучалин А.Г., Визель А.А., Илькович М.М., Авдеев С.Н., Амиров Н.Б., Баранова О.П., и др. Диагностика и лечение саркоидоза. Резюме федеральных согласительных клинических рекомендаций. Часть I. Классификация, этиопатогенез, клиника. *Вестник современной клинической медицины*. 2014; 7(4): 62–70. [Chuchalin AG, Vizel' AA, Il'kovich MM, Avdeev SN, Amirov NB, Baranova OP, et al. Diagnosis and treatment of sarcoidosis. Summary of federal conciliative clinical recommendations. Part I. Classification, etiopathogenesis, clinic. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2014; 7(45): 62–70. (In Russ.)].

70. Terasaki F, Azuma A, Anzai T, Ishizaka N, Ishida Y, Isobe M, et al. JCS 2016 Guideline on diagnosis and treatment of cardiac sarcoidosis – digest version. *Circulation journal*. 2019; 83(11): 2329–2388. doi: 10.1253/circj.CJ-19-0508

71. Kato S, Sakai Y, Okabe A, Kawashima Y, Kuwahara K, Shiogama K, et al. Histology of cardiac sarcoidosis with novel considerations arranged upon a pathologic basis. *Journal of clinical medicine*. 2022; 11(1): 251. doi: 10.3390/jcm11010251

72. Honda Y, Nagai T, Ikeda Y, Sakakibara M, Asakawa N, Nagano N, et al. Myocardial immunocompetent cells and macrophage phenotypes as histopathological surrogates for diagnosis of cardiac sarcoidosis in Japanese. *Journal of the American Heart Association*. 2016; 5(11): e004019. doi: 10.1161/JAHA.116.004019

73. Oe Y, Ishibashi-Ueda H, Matsuyama TA, Kuo YH, Nagai T, Ikeda Y, et al. Lymph vessel proliferation on cardiac biopsy may help in the diagnosis of cardiac sarcoidosis. *Journal of the American Heart Association*. 2019; 8(2): e010967. doi: 10.1161/JAHA.118.010967

74. Locke LW, Crouser ED, White P, Julian MW, Caceres EG, et al. IL-13-regulated macrophage polarization during granuloma formation in an in vitro human sarcoidosis model. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2019; 60(1): 84–95. doi: 10.1165/rcmb.2018-0053OC

75. Cha MJ, Seo JW, Oh S, Park EA, Lee SH, Kim MY, et al. Indirect pathological indicators for cardiac sarcoidosis on endomyocardial biopsy. *Journal of pathology and translational medicine*. 2020; 54(5): 396–410. doi: 10.4132/jptm.2020.06.10

76. Serei VD, Fyfe B. The many faces of cardiac sarcoidosis. *American journal of clinical pathology*. 2020; 153(3): 294–302. doi: 10.1093/ajcp/aqz169

Сведения об авторах

Тарадин Геннадий Геннадьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой терапии им. проф. А.И. Дядыка, ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: taradin@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3984-8482>

Ракитская Ирина Валериевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры терапии им. проф. А.И. Дядыка, ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: rakytskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2694-6614>

Христуленко Алина Леонидовна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры терапии им. проф. А.И. Дядыка, ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: alinakhristulenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9954-4715>

Information about the authors:

Gennady G. Taradin – Cand. Sc. (Med.), associate professor, head of Therapy Department named after Prof. A.I. Dyadyk, Donetsk State Medical University named after M. Gorky; e-mail: taradin@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3984-8482>

Irina V. Rakitskaya – Cand. Sc. (Med.), associate professor, associate professor of Therapy Department named after Prof. A.I. Dyadyk, Donetsk State Medical University named after M. Gorky; e-mail: rakytskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2694-6614>

Alina L. Khristulenko – Cand. Sc. (Med.), associate professor, associate professor of Therapy Department named after Prof. A.I. Dyadyk, Donetsk State Medical University named after M. Gorky; e-mail: alinakhristulenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9954-4715>

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ПРИМЕНЕНИЕ СВЕРТОЧНЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ ДЛЯ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО КЛАССИФИЦИРОВАНИЯ СТАДИЙ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА *PLASMODIUM FALCIPARUM* В МИКРОСКОПИИ МАЗКОВ КРОВИ

Мацаева О.Д.,
Гринев А. Б.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет),
Институт цифрового биодизайна
и искусственного интеллекта в медицине
(119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8,
стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мацаева Ольга Дмитриевна
e-mail: trespasserolya@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Малярия является глобальной проблемой мирового здравоохранения. Традиционная микроскопия крови, являющаяся золотым стандартом диагностики, сопряжена с высокой трудоемкостью, кадровым дефицитом в эндемичных регионах и субъективностью оценки. Автоматизация не только детекции, но и определения стадии развития возбудителя критически важна для назначения стадийно-специфической терапии.

Цель исследования. Разработка и оценка эффективности модели глубокого компьютерного зрения для классификации четырех ключевых стадий эритроцитарного цикла *Plasmodium falciparum* на основе микрофотографий.

Методы. В качестве основы использовалась сверточная нейронная сеть архитектуры ResNet-18. Обучение проводилось методом переноса (transfer learning) с использованием базы данных PfMorphoBank, собранной авторами. Изображения были разделены на четыре целевых класса: молодые трофозоиты, зрелые трофозоиты, шизонты и гаметоциты. Качество классификации оценивали на валидационной и отложенной тестовой выборках по Accurasy, macro-Precision, macro-Recall и macro-F1.

Результаты. На отложенной тестовой выборке дообученная ResNet-18 показала следующие результаты: Accurasy 80,83 %; macro-Precision составила 0,812, macro-Recall – 0,808, macro-F1 – 0,806. Анализ ошибок показал, что модель лучше распознает зрелые трофозоиты и испытывает наибольшие трудности при классификации гаметоцитов и морфологически близких поздних форм.

Заключение. Использование глубоких нейронных сетей демонстрирует высокий потенциал в решении задачи дифференциальной диагностики стадий малярийного плазмодия. Модель показала приемлемые метрики качества, доказывая принципиальную возможность создания автоматизированных систем.

Ключевые слова: машинное обучение, компьютерное зрение, малярия, *Plasmodium falciparum*, ResNet, микроскопия, трансферное обучение, искусственный интеллект в медицине

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 14.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Мацаева О.Д., Гринев А. Б. Применение сверточных нейронных сетей для автоматизированного классифицирования стадий жизненного цикла *Plasmodium falciparum* в микроскопии мазков крови. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 85-93. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.9

APPLICATION OF CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORKS FOR AUTOMATED CLASSIFICATION OF LIFE CYCLE STAGES OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN BLOOD SMEAR MICROSCOPY

**Matsaeva O.D.,
Grinev A.B.**

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University),
Institute for Digital Biodesign and Artificial Intelligence in Medicine, Department of Biology and General Genetics (119048, Moscow, Trubetskaya str., 8, bld. 2, Russian Federation)

Corresponding author:

Olga D. Matsaeva

e-mail: trespasserolya@gmail.com

ABSTRACT

Background. Malaria is a global public health problem. Traditional blood microscopy, the gold standard of diagnosis, is associated with high labor burden, personnel shortages in endemic regions, and subjective assessment. Automation of not only detection but also determination of the pathogen's developmental stage is critically important for prescribing stage-specific therapy.

Aim. To develop and evaluate the effectiveness of a deep computer vision model for classifying four key stages of the erythrocytic cycle of *Plasmodium falciparum* based on microphotographs.

Materials and methods. A convolutional neural network with the ResNet-18 architecture was used as the basis. Training was conducted using transfer learning on the PfMorphoBank database, assembled by the authors. The images were divided into four target classes: young trophozoites, mature trophozoites, schizonts, and gametocytes. Classification quality was assessed on validation and held-out test sets using accuracy, macro-precision, macro-recall, and macro-F1.

Results. On the held-out test set, the fine-tuned ResNet-18 achieved 80.83% accuracy; macro-precision was 0.812, macro-recall was 0.808, and macro-F1 was 0.806. Error analysis showed better recognition of mature trophozoites and the greatest difficulty with gametocytes and morphologically similar late-stage forms.

Conclusion. The use of deep neural networks demonstrates high potential in solving the problem of differential diagnosis of malaria parasite stages. The model showed acceptable quality metrics, proving the fundamental feasibility of creating automated prompting systems.

Keywords: machine learning, computer vision, malaria, *Plasmodium falciparum*, ResNet, microscopy, transfer learning, artificial intelligence in medicine

Received: 31.03.2026
Accepted: 14.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Matsaeva O.D., Grinev A.B. Application of convolutional neural networks for automated classification of life cycle stages of *Plasmodium falciparum* in blood smear microscopy. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 85-93. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.9

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные заболевания, передающиеся трансмиссивным путем, представляют собой одну из наиболее острых проблем во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, малярия, вызываемая паразитами рода *Plasmodium*, ежегодно является причиной сотен миллионов случаев заражения и более 600 тысяч летальных исходов [1]. Из пяти видов плазмодиев, патогенных для человека, *Plasmodium falciparum* ассоциирован с наиболее тяжелыми формами течения заболевания и наивысшим уровнем смертности.

На сегодняшний день «золотым стандартом» диагностики малярии остается световая микроскопия препаратов крови (толстой капли и тонкого мазка), окрашенных по Романовскому – Гимзе. Данный метод позволяет не только подтвердить наличие инвазии, но и идентифицировать видовую принадлежность плазмодия, а также определить уровень паразитемии. Однако традиционная микроскопия имеет ряд критических ограничений. Во-первых, это высокая трудоемкость процесса и колоссальная нагрузка на медицинский персонал. Во-вторых, постановка диагноза сопряжена с фактором субъективности: морфология паразита может искажаться артефактами фиксации, наложением клеток и особенностями окраски. В-третьих, в эндемичных регионах (страны Центральной и Западной Африки, Юго-Восточной Азии) наблюдается острый дефицит квалифицированных паразитологов и лаборантов [2].

Особую клиническую значимость имеет не просто факт обнаружения *P. falciparum* (бинарная классификация эритроцитов на зараженные и не зараженные), но и точное определение стадии его жизненного цикла в эритроцитах (молодые формы, трофозоиты, шизонты, гаметоциты). Стадирование паразита необходимо по нескольким причинам. Наличие в крови трофозоитов и шизонтов ассоциировано с острой клинической симптоматикой и гемолитической анемией [3]. При наличии гаметоцитов (половых форм) в крови лихорадка менее выражена, однако это свидетельствует о длительном течении заболевания. Применение стадийно-специфической терапии (например, добавление примахина, обладающего гаметоцидным действием) является краеугольным камнем стратегии контроля инфекции и одним из инструментов персонализированной медицины.

С развитием технологий искусственного интеллекта глубокие нейронные сети стали активно внедряться в сферу здравоохранения и автоматизированного анализа биомедицинских изображений [4]. Методы компьютерного зрения, такие как сверточные нейронные сети и визуальные трансформеры, продемонстрировали высокую эффективность в классификации вирусов, анализе рентгенограмм [5] и детекции аномалий лейкоцитов [6]. Однако большинство работ по малярии по-прежнему посвящено бинарной детекции зараженных и незараженных клеток [7]. Многоклассовое

стадирование изучено существенно меньше: Li S. et al. [8] предложили метод микроскопии *P. vivax* посредством многостадийного распознавания с использованием Deep Transfer Graph Convolutional Network (DTGCN), включавшем четыре стадии паразита и два класса незараженных клеток; *P. falciparum* рассматривался в этой работе лишь в бинарной постановке (заражено / не заражено) на наборе NLM, служившем неразмеченным целевым доменом. Настоящая работа не заявляет о первом решении задачи стадирования вообще, но закрывает пробел, специфичный для наиболее клинически значимого вида: на собственноручно собранной и зарегистрированной специализированной базе PfMorphoBank с двухуровневой экспертной разметкой выполнена контролируемая четырехклассовая классификация стадий *P. falciparum*, в которой стадирование выделено в самостоятельный контур после бинарной детекции, а группировка стадий задана в клинической терминологии с явным разделением молодых и зрелых трофозоитов и анализом сложностей на переходных формах.

В связи с этим **целью настоящего исследования** стала разработка универсального подхода к созданию моделей компьютерного зрения для диагностики внутриклеточных гемопаразитов и, в частности, обучение, валидация и анализ архитектуры ResNet-18 для автоматического определения четырех стадий развития *Plasmodium falciparum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка данных и база PfMorphoBank

Фундаментом для создания надежной модели является качественный, репрезентативный и хорошо размеченный набор данных. Обучение классификаторов на зашумленных графических данных без надлежащей предобработки неизменно приводит к снижению предсказательной способности модели. Ввиду отсутствия стандартизированных открытых баз, покрывающих все стадии развития, для данного исследования была собственноручно разработана база данных микрфотографий PfMorphoBank (Свидетельство о государственной регистрации № 2025624160).

База данных формировалась с соблюдением требований к окраске мазков крови по Романовскому – Гимзе и включала изображения с хорошей визуализацией морфологических структур паразита (Рис.1). Общий объем выборки составил 3035 изображений пораженных эритроцитов. Для решения задачи многоклассовой классификации была выполнена строгая двухуровневая разметка. Разметка включала выявление паразита в эритроците и определение стадии его развития. Все визуализированные формы *P. falciparum* были классифицированы на четыре патофизиологических класса:

1. **Молодые трофозоиты.** В эту группу входят изображения паразитов с малым диаметром кольца (ободка цитоплазмы), а также в форме «хроматиновой точки».

2. **Зрелые трофозоиты.** Отличаются увеличенным диаметром кольца и хроматинового ядра, сохранением типичной кольцевидной формы. Возможно утолщение цитоплазмы и появление зерен малярийного пигмента (гемозоина).

3. **Шизонты.** Стадия бесполого деления: ядро многократно делится с образованием мерозоитов, пигмент собирается в массивные комки. Паразит занимает большую часть эритроцита.

4. **Гаметоциты.** Стадия половых клеток, которые у *P. falciparum* имеют характерную полулунную, серповидную («банановидную») форму, резко отличаясь от структур других видов, занимают большую часть эритроцита.

Датасет сильно несбалансирован: доминирующий класс – зрелые трофозоиты – составляет около 80 % всех изображений, тогда как критически важный миноритарный класс гаметоцитов насчитывает менее 3 %. Разбиение на обучающую, валидационную и тестовую (отложенную) выборки выполнено стратифицировано по каждому классу в соотношении 80:10:10. Для предотвращения переобучения и повышения инвариантности модели к изменениям освещения и позиции клеток применялись методы аугментации данных, включавшие повороты,

отражения, случайные изменения яркости и контрастности. Аналогичные подходы, как показано в исследовании детекции аномалий лейкоцитов [6], критически важны для повышения генерализующей способности классификаторов.

Архитектура модели глубокого обучения

Выбор архитектуры нейронной сети определялся необходимостью поиска компромисса между способностью извлекать тонкие низко- и высокоуровневые морфологические признаки и оптимизацией вычислительных затрат для возможной последующей интеграции в мобильные системы. В данном исследовании в качестве основной архитектуры была выбрана ResNet-18 (Residual Neural Network).

Исторически увеличение глубины сверточных сетей приводило к проблеме затухающих градиентов. Семейство алгоритмов ResNet решает эту проблему посредством введения блоков со сквозными соединениями, которые позволяют сигналу миновать один или несколько слоев, сохраняя исходную информацию на более глубоких уровнях абстракции. Версия из 18 слоев обладает достаточной обобщающей способностью для распознавания медицинских текстур и обеспечивает хороший баланс между качеством и вычислительной сложностью (рис.2).

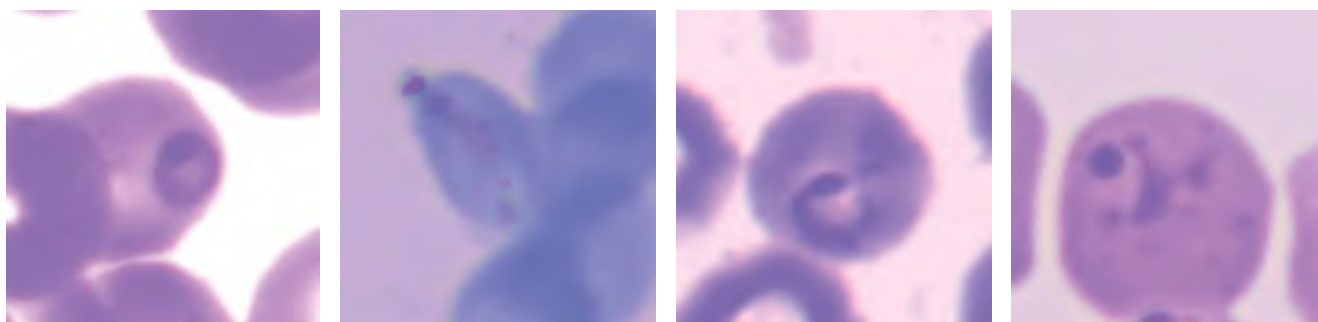


РИС. 1.

Примеры изображений из базы данных PfMorphoBank (Свидетельство о государственной регистрации № 2025624160)

FIG. 1.

Examples of images from the PfMorphoBank database (State Registration Certificate No. 2025624160)

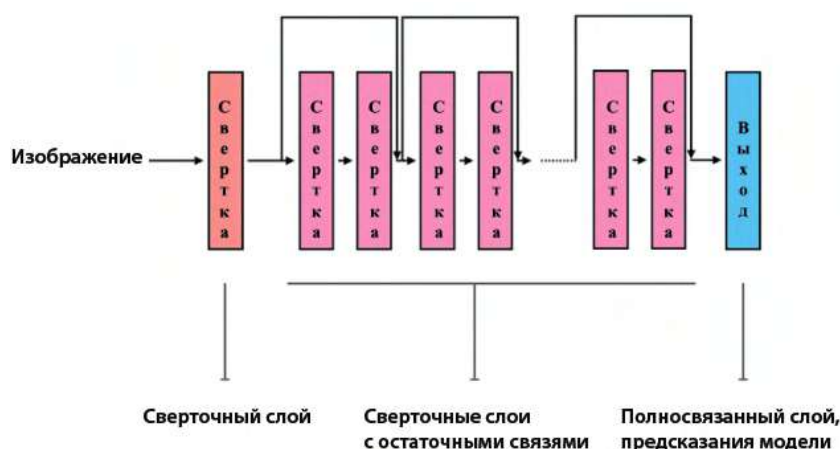


РИС. 2.

Упрощенная архитектура сверточных нейронных сетей семейства ResNet

FIG. 2.

Simplified architecture of convolutional neural networks in the ResNet family

Размер входа составляет 224×224 пикселя. Модель инициализируется весами, полученными на бинарной задаче обнаружения малярийных клеток (детекция «паразит / здоров» на датасете NLM Malaria Screener). Классифицирующая голова исходной модели заменяется на новую голову с 4 выходами и дообучается. Применяется двухфазная стратегия дообучения: в первой фазе обучается только новая 4-классовая голова, во второй – вся сеть размораживается и дообучается с пониженным в 10 раз темпом обучения для сверточных слоев. Такая последовательность соответствует подходу linear probing $\rightarrow$ fine-tuning (LP-FT), для которого показано, что предварительная адаптация головы помогает сохранить полезные предобученные признаки при последующей разморозке модели [9]. При разморозке оптимизатор и расписание скорости обучения пересоздаются заново, что корректно учитывает появление новых групп параметров (backbone) с отдельным темпом обучения.

Протокол обучения

Для достижения наилучшего качества классификации, обучение модели было разделено на два этапа. Сначала ResNet-18, предобученную на наборе данных ImageNet, дообучали на задачу бинарной классификации на наборе «NLM Malaria Screener» [7], размещённом на сайте Национальной медицинской библиотеки США – наиболее крупном доступном наборе данных, содержащем разметку инфицированных и не инфицированных эритроцитов. Затем полученная модель была обучена отличать стадии развития паразита, используя примеры из PfMorphoBank.

Обучение сверточной нейронной сети осуществлялось по двухфазной схеме, согласующейся с принципом LP-FT [9]. На первой фазе в течение 6 эпох оптимизировались параметры только классифицирующей «головы» при замороженных слоях сверточного остова (backbone). На второй фазе производилась полная разморозка сети с ее последующим дообучением продолжительностью до 14 эпох.

В качестве функции потерь на основном этапе многоклассовой классификации использовалась кросс-энтропия (на этапе предварительного обучения применялась бинарная кросс-энтропия). Для компенсации межклассового дисбаланса весовые коэффициенты непосредственно в функцию потерь не вводились – вместо этого выравнивание распределения достигалось за счет процедур батчирования. Формирование батчей объемом 32 изображения выполнялось методом взвешенного сэмплирования с возвращением, что обеспечивало сбалансированное представительство всех морфологических форм в каждом обучающем батче.

Оптимизация параметров модели проводилась с помощью алгоритма AdamW с коэффициентом L2-регуляризации (weight decay), равным 1.0×10^{-4} . На этапе обучения классификатора начальный темп обучения составлял 2.0×10^{-4} , тогда как для весов сверточного остова после его разморозки на второй фазе устанавливалась сниженная скорость обучения – 2.0×10^{-5} . Регулировка темпа обучения осуществлялась

по косинусному расписанию (cosine annealing), которое заново пересоздавалось в момент разморозки backbone для корректного учета изменившейся длины фазы. Контроль качества и ранняя остановка (early stopping) опирались на динамику макро-усредненной F1-метрики (macro-F1) на валидационном множестве: процедура обучения прекращалась досрочно, если значение macro-F1 не увеличивалось на протяжении 5 последовательных эпох.

Для повышения инвариантности алгоритма к вариациям освещенности, ракурса и пространственной ориентации клеток к обучающей выборке применялся комплекс методов аугментации данных. Базовый пайплайн включает случайное кадрирование, горизонтальные и вертикальные отражения, повороты на угол $\pm 15^\circ$, а также цветовые цветокоррекции (изменение яркости, контрастности, насыщенности и оттенка). Для миноритарных классов (молодые трофозоиты, шизонты и гаметоциты) задействовалась усиленная схема аугментации: угол поворота расширялся до $\pm 30^\circ$, дополнительно применялись аффинные преобразования, гауссово размытие и наложение цифрового шума, что позволило существенно искусственно обогатить вариативность редких морфологических стадий.

Статистический анализ

Оценка производительности модели на отложенной тестовой выборке проводилась с помощью стандартных метрик классификации, рассчитанных с макроусреднением по четырем классам:

- Общая точность классификации (Accuracy) – доля правильных ответов по всем четырем классам.
- Macro-Precision и macro-Recall характеризуют соответственно точность и полноту, усредненные поровну по классам; macro-F1 является их гармоническим средним и особенно информативна при дисбалансе классов. Также строилась матрица ошибок для оценки паттернов ложных срабатываний между родственными морфологическими стадиями.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Графики обучения

На рисунке 3 показана динамика функции потерь на обучающей и валидационной выборках по эпохам в ходе бинарного предобучения. На рисунке 4 изображена динамика функции потерь на основном этапе обучения, а на рисунке 5 – macro-F1 на валидации по эпохам. Вертикальная пунктирная линия отмечает переход от фазы обучения головы к полному дообучению (разморозка backbone). Графики демонстрируют отсутствие переобучения, а ранняя остановка фиксирует модель в точке лучшего macro-F1.

После завершения итерационного процесса обучения и подбора гиперпараметров, дообученная модель была протестирована на изолированном наборе данных из коллекции PfMorphoBank, который сеть ранее не видела.

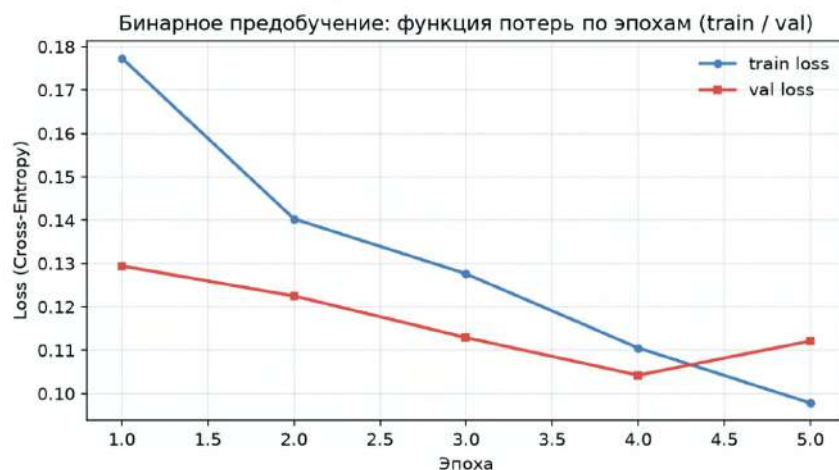


РИС. 3.

Динамика функции потерь на этапе обучения на бинарную классификацию

FIG. 3.

Loss function dynamics during training for binary classification

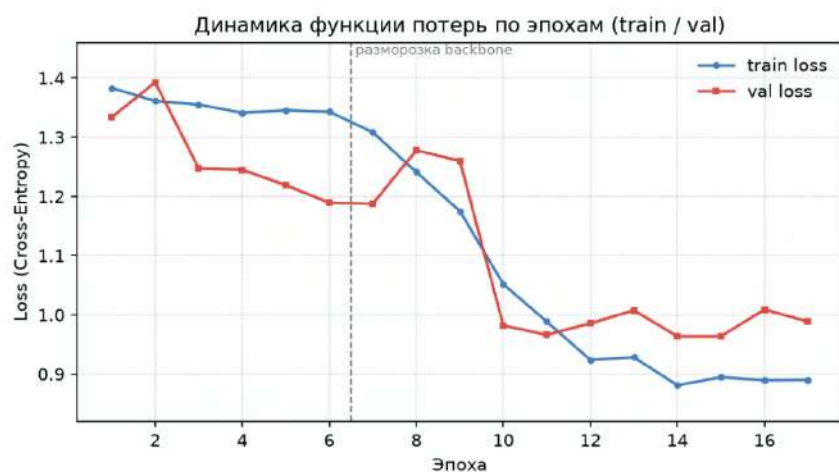


РИС. 4.

Динамика функции на основном этапе обучения

FIG. 4.

Dynamics of the function at the main training stage



РИС. 5.

Macro-F1 на валидации по эпохам

FIG. 5.

Macro F1 on validation by epochs

На отложенной тестовой выборке модель классифицировала стадии *P. falciparum* с Accurasy – 80,83 %. Итоговые макроусредненные метрики составили: Precision – 0,812, Recall – 0,808 и F1 – 0,806. Использование макроусреднения позволяет учитывать качество на каждом классе независимо от его представленности в несбалансированном наборе данных.

Анализ ошибок модели

Анализ ошибок модели на отложенной выборке показывает, что модель хорошо различает ранние формы паразита, но заметно чаще путает поздние морфологически похожие стадии, что представлено на матрице ошибок на рисунке 6. Лучше всего при этом распознаются зрелые трофозоиты.

1. **Проблема классификации гаметоцитов.** Самая сложная для модели категория – гаметоциты: верно распознаётся только 66,7 % объектов. Остальные случаи чаще всего ошибочно относят к зрелым трофозоитам и шизонтам. Это говорит о том, что модель плохо улавливает признаки поздних стадий и часто принимает гаметоциты за морфологически близкие формы.

2. **Разделение стадий трофозоитов.** Стадии трофозоитов модель различает достаточно уверенно. Молодые трофозоиты распознаются в 86,7 % случаев, зрелые – в 93,3 % случаев, что является лучшим результатом среди всех классов. Ошибки здесь немногочисленны, что указывает на хорошее выделение ранних и средних морфологических признаков.

3. **Ошибки на стадии шизонтов.** Для шизонтов точность ниже, чем для трофозоитов: правильно классифицируется 76,7 % объектов. Основная

путаница наблюдается с гаметоцитами и, в меньшей степени, со зрелыми трофозоитами. При этом шизонты почти не смешиваются с молодыми трофозоитами, что говорит о том, что ранние формы модель отделяет уверенно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты тестирования ResNet-18 на базе PfMorphoBank подтверждают, что автоматизация классификации внутриэритроцитарных стадий развития *Plasmodium falciparum* возможна: Accurasy составила 80,83 %, а macro-Precision, macro-Recall и macro-F1 – 0,812, 0,808 и 0,806 соответственно. Эти показатели отражают сбалансированное качество по классам, включая малочисленные; однако анализ ошибок позволяет выявить ключевые «точки роста» разработанного алгоритма.

Главным недостатком представленного вычислительного пайплайна является объективно малое количество микрофотографий полноформатных гаметоцитов в обучающей выборке. Как следствие, наблюдается заметно более низкое качество модели при распознавании половых форм относительно бесполовых стадий развития паразита. Для преодоления этого ограничения и повышения общей надежности классификатора возможны два параллельных пути улучшения.

Во-первых, качество классификации может быть увеличено за счет усложнения архитектуры модели. Перспективным выглядит переход от базовой

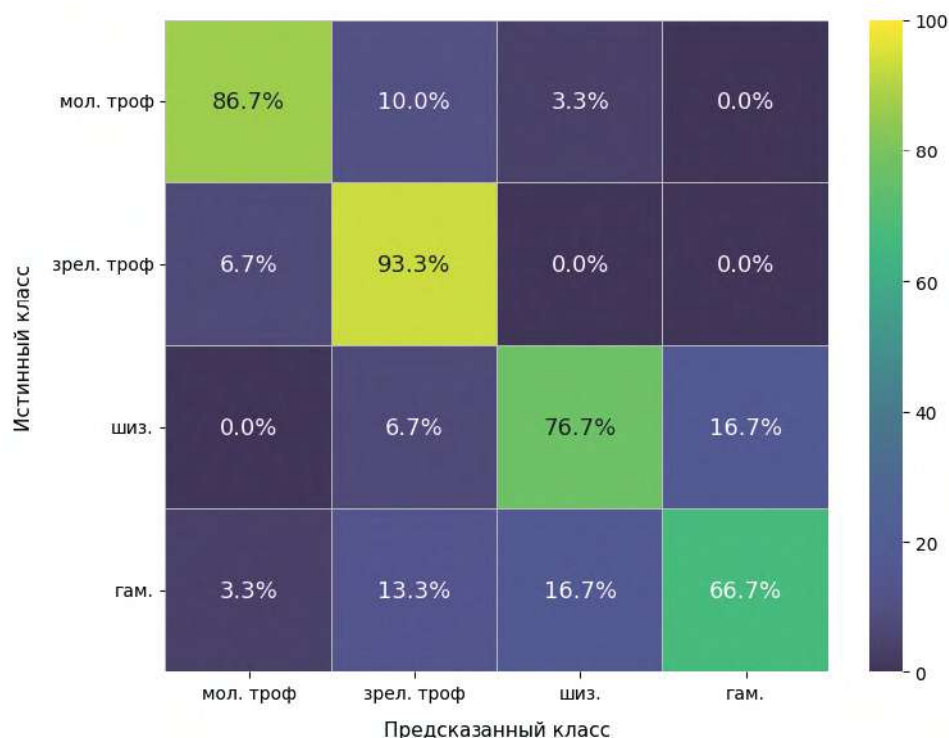


РИС. 6.

Матрица ошибок классификатора на тестовой выборке

FIG. 6.

Classifier error matrix on the test set

ResNet-18 к более глубоким сверточным сетям (ResNet-101, ResNet-152), способным извлекать более высокоуровневые признаки морфологического полиморфизма. Кроме того, оправдан переход к визуальным трансформерам [10] и гибридным визуально-языковым моделям разных семейств. Использование механизмов внимания доказало свою эффективность в работе со сложными медицинскими изображениями [5] и может минимизировать путаницу между поздними шизонтами и зрелыми трофозоидами. В долгосрочной перспективе архитектуру можно масштабировать до мультипаразитарных моделей [11, 12], а также оптимизировать для работы на портативных устройствах [13].

Во-вторых, уже обученную в рамках данного исследования базовую модель можно использовать для расширения датасета алгоритмами полуавтоматического обучения. Нейросеть способна разметить крупнейшие открытые массивы неаннотированных или бинарно размеченных изображений, включая датасет «NLM Malaria Screener» [7]. После ручной экспертной валидации полученной разметки, сформированные данные позволят компенсировать дисбаланс по малым классам в PfMorphoBank, в частности – по гаметоцитам.

Разработанный пайплайн стадирования плазмодия открывает новые возможности для автоматизации в лабораторной практике. В настоящий момент поиск новых терапевтических мишеней требует сложных тестов на эффективность ингибиторов. В этом контексте ИИ-классификатор обладает рядом беспрецедентных преимуществ для цифровизации *in vitro* экспериментов:

- **Автоматизация.** Метод полностью исключает субъективный человеческий фактор при подсчете уровня паразитемии в культуре.
- **Скорость.** Система позволяет анализировать сотни тысяч эритроцитов в сжатые сроки, недоступные для лаборанта.
- **Информативность.** Благодаря стадированию паразита, модель позволяет выявлять *стадийно-специфичную активность* тестируемых химических соединений (например, является ли препарат чисто шизонтоцидным или обладает гаметоцидным действием, обрывающим передачу инфекции).
- **Воспроизводимость.** Использование стандартизированной нейросети повышает сопоставимость результатов доклинического скрининга между разными научно-исследовательскими институтами и фармакологическими компаниями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования был разработан и валидирован биоинформатический инструмент для цифровизации доклинических исследований антималярийных препаратов. Созданная модель компьютерного зрения на базе сверточной нейронной сети не только детектирует возбудителя тропической малярии, но и автоматически определяет стадию

жизненного цикла *Plasmodium falciparum*. Несмотря на необходимость дальнейшего расширения базы данных для лучшего распознавания гаметоцитов, внедрение такого автоматизированного инструмента повысит информативность скрининга библиотек химических соединений, обеспечит объективный контроль влияния лекарств на паразита *in vitro* и будет способствовать ускорению разработки эффективных антималярийных препаратов.

Финансирование

Исследование выполнено без привлечения внешнего финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Liu Q, Jing WZh, Kang LYu, Liu J, Liu M. Trends of the global, regional and national incidence of malaria in 204 countries from 1990 to 2019 and implications for malaria prevention. *Journal of Travel Medicine*. 2021; 28(5): taab046. doi: 10.1093/jtm/taab046
2. Sergiev VP, Baranova AM, Kozhevnikova GM, Tokmalayev AK, Chernyshov DV, Chentsov VB, et al. Problems of clinical diagnosis and treatment of *P. falciparum* malaria in Russian Federation. *Terapevticheskii arkhiv*. 2018; 90(11): 4–8. doi: 10.26442/terarkh201890114-8
3. Haldar K, Mohandas N. Malaria, erythrocytic infection, and anemia. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*. 2009: 87–93. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.87
4. Shahin OR, Alshammari HH, Alabdali RN, et al. Automated multi-model framework for malaria detection using deep learning and feature fusion. *Sci Rep*. 2025; 15, 25672. doi: 10.1038/s41598-025-04784-w
5. Fu X, Lin R, Du W, et al. Explainable hybrid transformer for multi-classification of lung disease using chest X-rays. *Sci Rep*. 2025; 15(1): 6650. doi: 10.1038/s41598-025-90607-x
6. Saidani O, Umer M, Alturki N, et al. White blood cells classification using multi-fold pre-processing and optimized CNN model. *Sci Rep*. 2024; 14: 3570. doi: 10.1038/s41598-024-52880-0
7. Mujahid M, Rustam F, Shafique R, et al. Efficient deep learning-based approach for malaria detection using red blood cell smears. *Sci Rep*. 2024; 14(1): 13249. doi: 10.1038/s41598-024-63831-0
8. Li S, Du Z, Meng X, Zhang Y. Multi-stage malaria parasite recognition by deep learning. *Giga Science*. 2021; 10(6): giab040. doi: 10.1093/gigascience/giab040
9. Kumar A, Raghunathan A, Jones R, Ma T, Liang P. Fine-tuning can distort pretrained features and underperform out-of-distribution. *International Conference on Learning Representations (ICLR)*. 2022. doi: 10.48550/arXiv.2202.10054

10. Tan D, Liang X. Multiclass malaria parasite recognition based on transformer models and a generative adversarial network. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 17136. doi: 10.1038/s41598-023-44297-y
11. Tekle E, Dese K, Girma S, et al. DeepLeish: a deep learning based support system for the detection of Leishmaniasis parasite from Giemsa-stained microscope images. *BMC Med Imaging.* 2024; 24(1): 152. doi: 10.1186/s12880-024-01333-1
12. Mura DA, Zedda L, Loddo A, Di Ruberto C. YOLO-Trypapa: A Novel YOLO-Based Approach for Rapid and Accurate Detection of Small Trypanosoma Parasites. *J. Imaging.* 2025; 11(4): 117. doi: 10.3390/jimaging11040117
13. Lin L, Dacal E, Díez N, et al. Edge Artificial Intelligence (AI) for real-time automatic quantification of filariasis in mobile microscopy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2024; 18(4): e0012117. doi: 10.1371/journal.pntd.0012117

Сведения об авторах

Мацаева Ольга Дмитриевна – стажер-исследователь кафедры биологии и общей генетики Института цифрового биодизайна и искусственного интеллекта в медицине ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); e-mail: trespasserolya@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-5121-4926>

Гринева Александр Борисович – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и общей генетики Института цифрового биодизайна и искусственного интеллекта в медицине ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); e-mail: sagrinev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2546-7697>

Information about the authors

Olga D. Matsaeva – research intern of the Department of Biology and General Genetics, Institute of Digital Biodesign and Artificial Intelligence in Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); e-mail: trespasserolya@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-5121-4926>

Alexander B. Grinev – Cand. Sc. (Biol.), associate professor of the Department of Biology and General Genetics, Institute of Digital Biodesign and Artificial Intelligence in Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); e-mail: sagrinev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2546-7697>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

СЛЁЗНАЯ ЖИДКОСТЬ, СЛЮНА И МОЧА КАК БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

**Лесная А.С.,
Семёнова Н.В.,
Даренская М.А.,
Гончаров И.С.,
Крушинская Н.В.,
Колесникова Л.И.**

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Лесная Анастасия Сергеевна
e-mail: tasi121212@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Свободнорадикальный гомеостаз — это состояние биологической системы, при котором поддерживается баланс между процессами образования свободных радикалов и процессами их нейтрализации за счёт антиоксидантной защиты организма. Нарушение этого баланса приводит к изменению редокс-состояния клетки, что способствует развитию окислительного стресса, являющегося ключевым звеном в патогенезе многих заболеваний. Учитывая, что в большинстве современных исследований параметры редокс-системы изучаются в образцах венозной крови, процедура забора которой является инвазивной, соответственно, имеет ряд ограничений, возникает необходимость поиска альтернативных биологических матриц, пригодных для анализа редокс-параметров.

Целью настоящего обзора является анализ современных представлений о возможностях использования слёзной жидкости, слюны и мочи в качестве перспективных биологических матриц для оценки состояния свободнорадикального гомеостаза.

В обзоре рассмотрены особенности формирования и состава слёзной жидкости, слюны и мочи, а также источники свободных радикалов, продукты окислительной модификации биомолекул и компоненты антиоксидантной защиты, выявляемые в них. Проанализированы факторы, влияющие на интерпретацию параметров свободнорадикального гомеостаза в данных биоматрицах, включая особенности формирования, сбор образцов, влияние локальных и системных патологических процессов, подходы к нормализации показателей и внешние факторы. Показано, что слёзная жидкость обладает высокой информативностью для оценки локальных изменений, происходящих на поверхности глаза и в переднем отделе глазного аппарата. Слюна отражает сочетание локальных и общих изменений в организме, а моча является наиболее изученной и стандартизированной биологической матрицей, показатели которой преимущественно отражают уже сформировавшиеся системные изменения свободнорадикального гомеостаза.

Таким образом, слёзная жидкость, слюна и моча обладают различной диагностической информативностью для оценки локальных и системных изменений свободнорадикального гомеостаза. Перспективы данного направления связаны с разработкой стандартизированных подходов к исследованию данных биоматриц и комплексной оценкой состояния свободнорадикального гомеостаза.

Ключевые слова: окислительный стресс, антиоксидантная защита, редокс-гомеостаз, слёзная жидкость, слюна, моча, неинвазивная диагностика

Статья поступила: 17.07.2026
Статья принята: 28.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Лесная А.С., Семёнова Н.В., Даренская М.А., Гончаров И.С., Крушинская Н.В., Колесникова Л.И. Слёзная жидкость, слюна и моча как биологические матрицы для оценки свободнорадикального гомеостаза (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 94-107. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.10

TEAR FLUID, SALIVA AND URINE AS BIOLOGICAL MATRICES FOR ASSESSING FREE RADICAL HOMEOSTASIS (LITERATURE REVIEW)

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

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazev Str., 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasiya S. Lesnaya
e-mail: tasi121212@mail.ru

ABSTRACT

Free radical homeostasis is a state of a biological system characterized by a balance between the production of free radicals and their neutralization by the body's anti-oxidant defense systems. A disruption of this balance leads to a change in the redox state of the cell, which contributes to the development of oxidative stress, a key link in the pathogenesis of many diseases. Considering that most current studies assess the parameters of the redox system in venous blood samples, the collection procedure of which is invasive and, accordingly, has a number of limitations, there is a need to search for alternative biological matrices suitable for the analysis of redox parameters.

Aim. *To analyze current concepts regarding the potential use of tear fluid, saliva, and urine as promising biological matrices for assessing the state of free radical homeostasis.*

This review examines the characteristics of the formation and composition of tear fluid, saliva, and urine, as well as the sources of free radicals, products of oxidative modification of biomolecules, and components of the antioxidant defense system detected in them. The factors influencing the interpretation of free radical homeostasis parameters in these biological matrices are analyzed, including formation specifics, sample collection methods, the impact of local and systemic pathological processes, approaches to data normalization, and external factors. It is shown that tear fluid provides high diagnostic value for assessing local changes occurring on the ocular surface and in the anterior segment of the eye. Saliva reflects a combination of local and systemic changes, while urine is the most extensively studied and standardized biological matrix, with parameters primarily reflecting established systemic alterations in free radical homeostasis.

Thus, tear fluid, saliva, and urine possess varying diagnostic utility for assessing local and systemic changes in free radical homeostasis. Future prospects in this field are associated with the development of standardized approaches to the analysis of these biological matrices and a comprehensive assessment of free radical homeostasis.

Key words: *oxidative stress, antioxidant defense, redox homeostasis, tear fluid, saliva, urine, non-invasive diagnostics.*

Received: 17.07.2026
Accepted: 28.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Lesnaya A.S., Semenova N.V., Darenskaya M.A., Goncharov I.S., Krushinskaya N.V., Kolesnikova L.I. Tear fluid, saliva and urine as biological matrices for assessing free radical homeostasis (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 94-107. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.10

1. ВВЕДЕНИЕ

Свободнорадикальный гомеостаз — это состояние биологической системы, при котором поддерживается баланс между процессами образования свободных радикалов и процессами их нейтрализации за счёт антиоксидантной защиты организма. Изучение особенностей свободнорадикального гомеостаза позволяет оценивать различные физиологические состояния человека, включая беременность, возрастные изменения, адаптацию к физическим нагрузкам и процессы восстановления после них, а также выявлять особенности метаболической адаптации и формировать индивидуальный свободнорадикальный профиль различных групп населения, что обосновывает актуальность его исследования как в биологии, так и в медицине [1–6].

В организме постоянно происходит образование небольшого количества свободных радикалов, преимущественно активных форм кислорода и азота. Их основными источниками являются митохондриальная электрон-транспортная цепь, ферментативные оксидазные системы, эндотелиальные и иммунные клетки [7, 8]. В оптимальных концентрациях свободные радикалы выполняют важные для организма функции, такие как участие в процессах клеточной пролиферации и дифференцировки, контроле апоптоза, клеточном сигналинге, формировании иммунного ответа, межклеточном взаимодействии, а также в регуляции метаболических и энергетических процессов [9].

Нарушение равновесия между процессами образования свободных радикалов и процессами их инактивации приводит к изменению редокс-состояния клетки, что способствует развитию окислительного стресса (ОС). В зависимости от преобладания того или иного типа активных соединений выделяют несколько видов свободнорадикальных нарушений: ОС, связанный с накоплением активных форм кислорода; нитрозативный стресс, обусловленный избытком активных форм азота; карбонильный стресс, возникающий при увеличении содержания карбонильных соединений; и галогенирующий стресс, связанный с образованием активных форм галогенов. В более ранней литературе термин «окислительный стресс» часто используется как общее обозначение всех нарушений редокс-баланса, современные же исследования рассматривают эти процессы как отдельные, но взаимосвязанные варианты редокс-нарушений [10–12].

Показано, что ОС является ключевым звеном в патогенезе большинства системных заболеваний, включая нейродегенеративные патологии, ожирение, сахарный диабет, сердечно-сосудистые и репродуктивные нарушения [13–17]. Изменения редокс-гомеостаза также выявляются при развитии локальных патологических процессов, в частности, они играют роль в патогенезе офтальмологических заболеваний (синдром сухого глаза, блефарит, кератит) [18–20] и стоматологических патологий (пародонтит, гингивит, кариес) [21–23].

Следует отметить, что нарушения свободнорадикального равновесия могут происходить и в сторону

увеличения активности антиоксидантной системы. Ранее такое состояние рассматривалось исключительно с положительной стороны, однако современные представления предполагают возможность развития редукционного стресса — избыточного накопления восстановительных эквивалентов, маркерами которого являются уровни НАДФН, НАДН и восстановленного глутатиона [24]. Таким образом, современные подходы подчёркивают необходимость комплексного исследования системы свободнорадикального гомеостаза, в котором важное значение имеет не только уровень свободных радикалов, но и состояние антиоксидантной защиты организма.

Согласно данным, представленным в системе PubMed, количество публикаций, посвященных изучению свободнорадикального гомеостаза за последние 10 лет увеличилось в 4,5 раза. При этом в большинстве современных исследований параметры редокс-системы изучались в образцах венозной крови, процедура забора которой является инвазивной, в связи с чем, имеет ряд ограничений [25]. По этой причине растёт актуальность поиска неинвазивно получаемых биологических матриц, позволяющих изучать параметры свободнорадикального гомеостаза с достаточной информативностью. Среди перспективных биоматриц особое внимание привлекают слёзная жидкость, слюна и моча, которые содержат широкий спектр молекулярных компонентов, отражающих особенности метаболических и редокс-процессов в организме, что определяет их высокий аналитический потенциал для оценки состояния свободнорадикального гомеостаза [26].

Таким образом, целью настоящего обзора является анализ современных представлений о возможностях использования слёзной жидкости, слюны и мочи в качестве перспективных биологических матриц для оценки состояния свободнорадикального гомеостаза.

2. МЕТОДОЛОГИЯ ПОИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

Поиск научных публикаций проводился в базах данных PubMed, Google Scholar, eLibrary и КиберЛенинка и охватывал период с января 2000 года по август 2026 года. Особое внимание уделялось исследованиям, опубликованным в течение последних 5–10 лет.

Для поиска публикаций использовались следующие ключевые слова и их англоязычный перевод: слёзы (tear), слёзная жидкость (tear fluid/lacrimal fluid), образцы слёзной жидкости (tear sample), слюна (saliva), ротовая жидкость (oral fluid/salivary fluid), образцы слюны (salivary sample), моча (urine/urinary), образцы мочи (urine sample/urinary sample), окислительный стресс (oxidative stress), активные формы кислорода (ROS/reactive oxygen species), антиоксидантная система (antioxidant system), антиоксидантная защита (antioxidant defense), редокс-гомеостаз (redox homeostasis).

Анализ литературы включал оригинальные экспериментальные работы, исследования с участием

человека, работы на животных моделях, а также обзорные статьи.

3. ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕИНВАЗИВНО ПОЛУЧАЕМЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА

3.1. Возможности использования слёзной жидкости для оценки состояния свободнорадикального гомеостаза

Слёзная жидкость представляет собой многокомпонентный секрет слёзных желез, обеспечивающий очищение, увлажнение и защиту глазной поверхности от внешних воздействий. Она содержит растворенные белки, липиды, муцины, электролиты, гормоны, антиоксиданты, соли, продукты окислительной модификации биомолекул, воспалительные медиаторы, компоненты окружающих тканей, а также продукты обмена [27, 28].

При изучении различных метаболитов в данной биоматрице необходимо иметь представление о её взаимодействии со структурами глаза. Слёзная жидкость непосредственно контактирует с эпителием роговицы, конъюнктивой и краями век. В связи с тем, что конъюнктив и роговица располагаются в переднем отделе глаза и прозрачны по своей структуре, которая позволяет проходить через них фотонам света, они подвергаются постоянному воздействию атмосферного кислорода и ультрафиолетового излучения. В результате данные структуры имеют высокую чувствительность к изменению свободнорадикальных процессов, а повышенная в них генерация активных форм кислорода, способствует предрасположенности к формированию фотоокислительного стресса [29]. Таким образом, конъюнктив и роговица являются ключевыми мишенями свободнорадикального повреждения в глазном аппарате, и, по-видимому, вносят наибольший вклад в изменения параметров свободнорадикального гомеостаза слёзной жидкости [30].

Интересным представляется факт выявления в слёзной жидкости молекул системного происхождения, поступающих в неё через сосудистое русло слёзопродуцирующих тканей. При этом степень отражения системной патологии, вероятнее всего, зависит от характера и выраженности самой патологии. Наиболее ожидаемо увеличение содержания системно-ассоциированных молекул в слёзной жидкости при заболеваниях, сопровождающихся сочетанием системного воспаления, ОС и увеличения проницаемости сосудов, обеспечивающей транспорт циркулирующих системных метаболитов в слёзную жидкость, однако процент их содержания остаётся недостаточно изученным [28].

Учитывая преобладающий вклад в состав слёзной жидкости метаболитов локального происхождения, большинство научных работ по изучению свободнорадикального гомеостаза в данной биологической матрице проводятся в области офтальмологии. Так,

патогенетическая роль ОС установлена для широкого спектра глазных патологий, включая заболевания поверхности глаза (птеригиум, синдром сухого глаза), хрусталика (катаракта), роговицы (кератоконус, травматические и послеоперационные изменения), сетчатки (возрастная макулярная дегенерация, ретинопатии), зрительного нерва, а также травматических, термических и химических ожогах глаз [18, 19].

Установление наличия ОС в слёзной жидкости основано на оценке в ней состояния свободнорадикального гомеостаза, изменения которого определяют по разным параметрам: содержанию свободных радикалов (активных форм кислорода, азота, галогенов), количеству образовавшихся продуктов окислительной модификации биомолекул, а также содержанию и/или активности компонентов антиоксидантной защиты. Учитывая, что наиболее стабильными соединениями являются продукты окислительной модификации биомолекул, измерение их уровня позволяет рассматривать данные параметры в качестве маркеров свободнорадикального повреждения [13, 19, 22].

К маркерам свободнорадикального повреждения определяемых в слёзной жидкости относят продукты липопероксидации (гидроперекиси липидов, изопростаны, малоновый диальдегид (МДА), 4-гидроксиноненаль (4-HNE)), продукты окислительной модификации белков (карбонильные производные, окисление сульфгидрильных групп, нитрозирование, хлорирование), а также маркеры повреждения ДНК, основным из которых является 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) [7, 19, 31].

Для поддержания редокс-гомеостаза в ответ на усиление образования свободных радикалов активируется система антиоксидантной защиты, компоненты которой делят на два больших класса: ферментативные (супероксиддисмутаза, каталаза, ферменты системы глутатиона) и неферментативные антиоксиданты (ретинол, α -токоферол) [28, 30, 32]. Несмотря на схожесть состава с антиоксидантной системой крови, лагримальная антиоксидантная защита имеет свои уникальные особенности. В ней присутствует слёзоспецифичный липокалин и высокие концентрации лактоферрина, осуществляющие свои антиоксидантные функции по принципу синергии. Вместе с ними значительную часть антиоксидантного потенциала слёзной жидкости обеспечивают глутатион, аскорбиновая и мочевиная кислоты [7, 33].

По уровню отдельных компонентов антиоксидантного звена не всегда однозначно можно судить о характере изменений свободнорадикального гомеостаза. Снижение содержания и активности антиоксидантов может свидетельствовать как об истощении антиоксидантной системы, так и о снижении интенсивности окислительных процессов. Тогда как повышение может отражать проявление компенсаторного ответа на развитие ОС или активное поступление некоторых антиоксидантов с пищей [19, 32]. Поэтому для общего понимания характера течения окислительно-восстановительных процессов используют интегральные

показатели – общий окислительный статус (TOS), общий антиоксидантный статус (TAS) и индекс окислительного стресса (OSI). В недавней работе Yesilirmak N., et al. было проведено сравнение интегральных показателей сыворотки крови и слёзной жидкости, которое выявило сильную положительную корреляцию между ними, подтверждающую потенциальную возможность использования слёзной жидкости для оценки не только локальных, но и системных окислительно-восстановительных процессов [34].

Выбор подходов к исследованию представленных показателей должен учитывать физиологические особенности изучаемой биоматрицы в естественных условиях. В процессе секреции слёзная жидкость под действием сил поверхностного натяжения распределяется по глазной поверхности с формированием слёзной плёнки, обеспечивающей гомеостаз поверхности глаза. Процесс её формирования сводится к образованию трёх функциональных слоёв: липидного (поверхностного), водного (промежуточного) и муцинового (преэпителиального). Вследствие динамической организации и взаимодействия со структурами глазной поверхности, состав слёзной плёнки не является полностью идентичным составу слёзной жидкости, но напрямую зависит от нее, что необходимо учитывать при выборе исследуемого образца для оценки редокс-гомеостаза [35].

Учитывая строение слёзной плёнки её исследование в основном проводится *in vivo* с использованием неинвазивных методов визуализации (интерферометрия, кератография, видеомикроскопия и др.). В отличие от слёзной плёнки, слёзная жидкость является более доступным биоматериалом для стандартизированного забора и в меньшей степени подвержена воздействию сопутствующих факторов (испарению, контаминации, взаимодействию с глазными структурами). Это делает её более пригодной для оценки системных процессов, тогда как слёзная плёнка в большей степени отражает локальные процессы, протекающие на поверхности глаза [36].

По составу и функциям выделяют три основных типа слёз: базальные, рефлекторные и эмоциональные. Базальные слёзы обеспечивают постоянное увлажнение и защиту роговицы от внешних факторов, рефлекторные слёзы выделяются в ответ на раздражающие стимулы, а эмоциональные образуются при психоэмоциональных реакциях. Для оценки свободнорадикального гомеостаза наиболее репрезентативными являются образцы базальной слёзной жидкости, поскольку они имеют физиологический состав, который не отражает влияние внешней стимуляции [25].

Для получения базальной слёзной жидкости применяются методы забора с использованием стеклянных микрокапилляров, микропипеток или адсорбирующих материалов, например, фильтровальных полосок Ширмера. Различия в методах забора слёзной жидкости могут приводить к вариативности результатов исследования вследствие влияния таких факторов, как рефлекторное слёзоотделение, контаминация и различия

в удержании анализируемых веществ, что способно исказить количественное определение белков, липидов, метаболитов, микроРНК и, в частности, маркеров окислительного стресса [3, 37].

Образцы, собранные с помощью полосок Ширмера, характеризуются эффективной абсорбцией белков, однако дальнейшая их экстракция может сопровождаться неполным извлечением белковых молекул и приводить к количественным потерям. При этом установлено, что распределение белков по длине абсорбционной полоски неоднородно, так как зависит от их молекулярной массы и способности к капиллярной миграции, исходя из этого, для экстракции не рекомендуется использовать участок полоски, контактирующий с эпителием конъюнктивы [38]. Кроме того, использование полосок Ширмера может стимулировать рефлекторное слёзотечение вследствие механического воздействия на поверхность глаза, что способно изменять концентрацию белков и маркеров ОС [36, 39].

Для получения образца базальной слёзной жидкости, максимально приближенного к физиологическому составу, используют микрокапиллярный метод забора. При правильном проведении данного метода исключается риск контаминации и механической стимуляции глаз, в результате чего сохраняется естественная слёзопродукция, что позволяет рассматривать его как потенциального кандидата в качестве золотого стандарта [36, 37]. Преимуществом микрокапиллярного метода также является возможность получения образцов надлежащего качества, содержащих до 10 мкг/мкл белков, а результаты определяемых параметров в таких образцах, характеризуются хорошей воспроизводимостью [40].

Однако, как и у других методов забора слёзной жидкости, у микрокапиллярного отсутствуют единые стандарты преаналитического этапа анализа, регламентирующие сбор образца, что затрудняет сопоставимость результатов исследования между научными группами и лабораториями. Учитывая задачи исследования и выбор определяемых параметров свободнорадикального гомеостаза (молекул свободных радикалов, продуктов перекисного окисления липидов, высоко- или низкомолекулярных антиоксидантов и др.) специалисты, выполняющие анализ, должны самостоятельно подбирать наиболее подходящие условия для сбора биоматериала. Например, для исследования антиоксидантных компонентов белковой природы – высокомолекулярных белков, ферментов или пептидов – можно придерживаться рекомендаций Aydin E., et al, которые применяют данный метод для протеомного анализа слёзной жидкости [37, 40].

В своих трудах авторы отмечают, что рекомендуемый объём получаемых образцов не должен превышать 60 мкл, чтобы исключить слёзотечение, вызываемое стрессовой реакцией глаз. В основном данным способом удаётся получить от 5 до 45 мкл слёзной жидкости [40]. При этом небольшой объём образца не является ограничением, его достаточно для проведения современных высокочувствительных методов анализа,

развитие которых позволило значительно расширить возможности исследования альтернативного биоматериала [37]. В частности, использование методов жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС) позволяет проводить анализ в объёме менее 0,5 мкл слёзной жидкости, что существенно превосходит аналитические возможности традиционных методик [36].

Таким образом, в настоящее время продолжается разработка унифицированных рекомендаций по сбору, обработке и представлению данных анализа указанной биоматрицы, что является необходимым этапом для повышения воспроизводимости исследований и формирования валидированных референсных интервалов [41].

3.2. Возможности использования слюны для оценки состояния свободнорадикального гомеостаза

Слюна — секрет, производимый слюнными железами и состоящий преимущественно из водной фазы с растворёнными в ней органическими и неорганическими веществами. Благодаря простому сбору и наличию в слюне различных биомаркеров, она широко используется в биомедицинских целях, а развитие методов её исследования позволило выделить отдельное направление — «саливадиагностика» [26, 42].

Секреция слюны позволяет поддерживать гомеостаз полости рта, за счёт обеспечения слюной пищеварительной, буферной, реминерализующей, увлажняющей, регуляторной и иммунной функций [25]. В зависимости от источника секреции выделяют несколько типов слюны: околоушную, подъязычную, подчелюстную, а также секрет, продуцируемый малыми слюнными железами. Также в последние годы описаны трубные железы носоглотки, слюнной секрет которых характеризуется высоким содержанием муцинов, однако вклад их секреции в общий объём слюноотделения признан незначительным [43].

Для сбора секрета от определенной пары желёз применяют метод зондирования выводных протоков или специальные устройства, фиксирующиеся непосредственно на устьях выводных протоков слюнных желёз. Однако проведение данной процедуры требует определенных навыков и может сопровождаться дискомфортом у пациента, поэтому чаще всего используется в исследовательских целях [44].

Более удобными для получения являются образцы смешанной слюны или ротовой жидкости, в связи с чем, данный тип биоматериала является предпочтительнее в качестве объекта изучения. Ротовая жидкость представляет собой смесь секрета всех слюнных желёз с содержимым полости рта: десневой жидкостью, компонентами крови, клетками буккального эпителия, микроорганизмами и продуктами их метаболизма, а также с соединениями, поступающими из дыхательных путей и внешней среды [45].

По типу получения образцов, выделяют стимулированную и нестимулированную слюну. Как упоминалось

ранее для изучения свободнорадикального гомеостаза в слёзной жидкости более целесообразно использовать образцы базальных слёз, но в ситуации с ротовой жидкостью данный вопрос остаётся открытым. Известно, что в стимулированной слюне преобладает гидрокарбонатная буферная система, а в нестимулированной — фосфатная. Данные различия обусловлены неодинаковым вкладом различных слюнных желёз в процессы секреции: при стимулированном слюноотделении преобладающий вклад вносят околоушные железы, выделяющие преимущественно серозную слюну с незначительным количеством слизи, тогда как при нестимулированном — подчелюстные, выделяющие как серозную, так и слизистую слюну [46]. В отдельных исследованиях показано, что параметры свободнорадикального гомеостаза в стимулированной слюне могут быть даже выше, чем в нестимулированной, вероятно, за счёт повышенного поступления этих соединений из плазмы во время стимуляции. При этом некоторые параметры имели более высокую точность по сравнению с образцами крови, что свидетельствует о значительном влиянии стимулированной секреции на содержание компонентов свободнорадикального гомеостаза в слюне [47]. Кроме того, существенное влияние на количество слюны и её состав оказывают циркадные ритмы, пол, возраст, характер питания, курение, гигиена полости рта и другие факторы [45].

Процесс получения нестимулированной слюны предполагает сбор биоматериала путём пассивного стекания, а стимулированной — после активации секреции с помощью механических или химических стимулов [26, 48]. Вне зависимости от типа собираемой слюны необходимо учитывать подготовку пациента, время взятия биоматериала, первичную обработку образца, режим хранения, транспортировку и другие условия [49]. Соблюдение единых требований к преаналитическому этапу является необходимым для корректной интерпретации полученных показателей, в частности, особо чувствительных к внешним воздействиям показателей свободнорадикального гомеостаза.

Несмотря на это, состав ротовой жидкости в физиологических условиях остаётся относительно стабильным, что позволяет использовать изменения её параметров для оценки локальных патологических состояний [45]. Так, в стоматологической практике оценка показателей свободнорадикального гомеостаза в слюне применяется для изучения патологических процессов, связанных с развитием кариеса, заболеваний тканей пародонта и изменений микробиома полости рта [20–22].

Кроме внешнего воздействия, установлено, что слюнные железы способны изменять состав секрета в ответ на метаболические изменения, происходящие в организме. Это позволяет рассматривать слюну не только как источник информации о состоянии тканей полости рта, но и как потенциальную биоматрицу для изучения системных процессов [50]. Отмечено, что поступление компонентов из крови в слюну происходит посредством различных механизмов, включая

пассивную диффузию, активный транспорт и микрофильтрацию через эпителиальный барьер слюнных протоков, благодаря чему в её составе присутствует широкий спектр биологически значимых соединений [27]. В связи с этим саливадиагностика рассматривается как перспективное направление для оценки ряда биохимических и молекулярных показателей, в том числе в качестве возможной альтернативы анализу крови [51]. Однако следует учитывать, что содержание многих соединений в слюне не всегда напрямую отражает их концентрацию в плазме, поскольку на получаемые значения могут влиять местные процессы, особенности оральной микробиоты и состояние тканей полости рта [25].

В настоящее время нарушения свободнорадикального гомеостаза в ротовой жидкости выявлены при таких системных патологиях, как сахарный диабет, ожирение, инсулинорезистентность, метаболический синдром, хроническая болезнь почек, сердечно-сосудистые и аутоиммунные заболевания, воспалительные заболевания кишечника и нейродегенеративные процессы [22, 27, 51]. Показана потенциальная диагностическая значимость отдельных слюнных маркеров ОС у пациентов с инсультом, при котором показатели продуктов окисления липидов и белков позволяли различать пациентов и контрольные группы с высокой чувствительностью и специфичностью [47]. Несмотря на это, внедрение анализа показателей свободнорадикального гомеостаза ротовой жидкости в клиническую практику остаётся ограниченным из-за высокой вариабельности получаемых результатов, связанной с особенностями исследуемых показателей и сложностью их интерпретации [42].

Одной из таких особенностей является неодинаковая стабильность биомаркеров свободнорадикального гомеостаза, которая зависит от свойств самих молекул (молекулярной массы, растворимости в воде, липидах, природы исследуемых веществ). Учитывая высокую реакционную способность свободных радикалов, изучение свободнорадикального гомеостаза в ротовой жидкости рациональнее проводить по содержанию в ней продуктов окисления и компонентов антиоксидантной защиты, тогда как измерение количества активных форм кислорода и азота в слюне остаётся затруднительным [47].

Сложность интерпретации полученных данных связана с невозможностью однозначного определения источника образования свободных радикалов, поскольку их уровень отражает суммарное влияние локальных и системных процессов. Одним из наиболее значимых локальных источников их образования является воспаление тканей пародонта, сопровождающееся активацией иммунных клеток и усилением генерации свободных радикалов. Кроме того, на их образование могут влиять и внешние факторы, такие как ксенобиотики (этанол, компоненты табачного дыма, другие химические соединения), особенности питания (рацион с высоким содержанием жиров или белков), стоматологические процедуры (озон, ультразвуковое

воздействие, лазерное и ультрафиолетовое излучение) и материалы, используемые в стоматологии (фторсодержащие соединения, композитные материалы, несъёмные ортодонтические конструкции и титановые импланты) [52].

Учитывая вышеизложенное, в исследованиях свободнорадикального гомеостаза ротовой жидкости основное внимание уделяется определению содержания продуктов окислительной модификации биомолекул, отражающих последствия окислительных процессов. В целом спектр определяемых параметров в слюне, во многом соответствует этому спектру в других биологических жидкостях, включая слезную. В ротовой жидкости также исследуют продукты перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков и повреждения нуклеиновых кислот [20, 46, 51].

В тоже время антиоксидантная защита ротовой жидкости помимо универсальных антиоксидантов имеет слюнную пероксидазную систему, состоящую из слюнной пероксидазы (сиалопероксидазы), лактопероксидазы и миелопероксидазы нейтрофилов [9, 21]. Все представленные пероксидазы используют перекись водорода в качестве субстрата для реализации своих функций: сиало- и лактопероксидаза – для образования гипотиоцианата, миелопероксидаза – для образования гипохлорноватистой кислоты, которые участвуют в антимикробной защите полости рта [20]. В отличие от других компонентов антиоксидантной защиты, поступающих в ротовую жидкость из системного кровотока, сиалопероксидаза синтезируется непосредственно слюнными железами, что подчёркивает наличие специфического звена антиоксидантной защиты ротовой жидкости [22].

Среди неферментативных низкомолекулярных антиоксидантов наиболее известными являются аскорбиновая и мочева кислоты, альбумин, глутатион, билирубин и мелатонин. Из них основными слюнными антиоксидантами считаются альбумин, аскорбиновая и мочева кислоты, причём вклад последней в общую антиоксидантную активность слюны может достигать 70–80 % [53].

Поступление мочева кислоты в слюну происходит из плазмы крови путём пассивной диффузии, в связи с чем, её концентрация в ротовой жидкости положительно коррелирует с уровнем в крови, а также со слюнными показателями активности супероксиддисмутазы и содержанием МДА. При этом её диагностическая ценность сопоставима или превышает таковую по сравнению с сывороточным уровнем мочева кислоты и не зависит от пола и скорости слюноотделения [47]. Это позволяет рассматривать уровень мочева кислоты в слюне как потенциальный маркер системных изменений редокс-гомеостаза. В тоже время в антиоксидантную защиту сыворотки крови значительный вклад вносит мелатонин, определяемый в нестимулированной слюне, что было показано на пациентах с нарушениями сна [54].

Важно отметить, что повышение активности антиоксидантной системы является адаптивным ответом

на увеличение окислительных процессов, в то время как её снижение может отражать не только уменьшение окислительной нагрузки, но и истощение компонентов антиоксидантной защиты. В связи с этим параметры свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты следует оценивать в комплексе, принимая во внимание особенности исследуемой биоматрицы [21, 47, 55]. Для суммарной оценки редокс-гомеостаза, позволяющей учитывать вклад множества прооксидантных и антиоксидантных компонентов свободнорадикальной системы, наиболее удобным является использование интегральных показателей (TOS, TAS, OSI) [46, 53]. Выбор такого подхода осуществляется с учётом необходимости оценить вклад не отдельных окислительно-восстановительных путей, а определить состояние прооксидантного и/или антиоксидантного звена в целом.

Исследовать состояние свободнорадикального гомеостаза в ротовой жидкости можно с помощью разработанных коммерческих наборов, основанных на спектрофотометрическом, колориметрическом, флуориметрическом или иммуноферментном анализе, а также используя современные методы жидкостной хроматографии или электрофореза в сочетании с масс-спектрометрией. Однако большинство производимых наборов валидированы только для анализа образцов крови, а применение современных высокоточных технологий требует дорогостоящего оборудования и реактивов [42, 49, 56]. В связи с чем, остаются востребованы классические ручные методы, основанные на самостоятельном приготовлении реактивов, использование которых позволяет адаптировать методики для альтернативного биоматериала без существенных финансовых затрат.

3.3. Возможности использования мочи для оценки состояния свободнорадикального гомеостаза

Моча является продуктом работы мочевыделительной системы, образование которой обеспечивает выведение из организма конечных продуктов метаболизма и избытка различных веществ. Её состав формируется в почечных нефронах вследствие процессов клубочковой фильтрации плазмы крови, канальцевой реабсорбции и канальцевой секреции, поэтому в ней присутствуют соли, микроэлементы, низкомолекулярные органические соединения, гормоны, ферменты, продукты обмена и клеточные компоненты [57]. Преимуществом данной биоматрицы по сравнению с другими биологическими жидкостями является получение большого объёма мочевых образцов. Однако эти образцы нестабильны и после сбора в них продолжают происходить метаболические изменения, что требует её немедленного анализа или заморозки [27].

Существуют различные типы мочевых образцов, различающиеся составом и условиями сбора: разовая порция, первая / вторая порция утренней мочи, суточная моча, а также образцы, полученные после нагрузок. В диагностических и исследовательских целях в основном используют разовые образцы

мочи – для экспресс-диагностики, среднюю порцию первой утренней мочи – для обнаружения инфекций и метаболических нарушений за счёт высокой концентрации растворённых в ней соединений, и суточную мочу – для количественного определения экскреции веществ за 24 часа, однако сбор последней сопровождается повышенным риском ошибок [58].

Для исключения возможных ошибок при сборе биоматериала необходимо соблюдать одинаковые условия получения образцов и подготовку пациента, что позволит повысить точность получаемых результатов и их сопоставимость [26]. Основные условия стандартизации предполагают сбор образцов мочи в стерильный контейнер после проведения гигиенических процедур наружных половых органов, чтобы исключить вероятность попадания в образец контаминирующих компонентов. При необходимости полученные образцы мочи хранят при низкой температуре [59]. При оценке параметров свободнорадикального гомеостаза также важно учитывать время от момента сбора до начала анализа, условия центрифугирования и количество циклов замораживания / размораживания образцов [56].

Наличие в моче соединений плазменного происхождения и продуктов системного метаболизма позволяют использовать её не только для оценки состояния мочевыделительной системы, но и для ряда системных патологий [60]. Изменения свободнорадикального гомеостаза, выявленные в образцах мочи, описаны при широком спектре системных заболеваний: хронической болезни почек, сахарном диабете, ожирении, метаболическом синдроме, сердечно-сосудистых заболеваниях, онкологических, нейродегенеративных процессах и др. [56, 61]. Характер выявленных изменений может быть связан как с увеличением продуктов окислительной модификации биомолекул вследствие активации окислительных процессов, так и со снижением параметров системы антиоксидантной защиты. При этом оба варианта изменений могут быть следствием чрезмерного образования свободных радикалов, возникающих при воспалительных процессах, гипоксии, воздействии токсических факторов, метаболических нарушениях, хронических заболеваниях и т.д. [7–9, 56].

Дополнительный вклад в конечные значения показателей редокс-гомеостаза мочи могут вносить свободные радикалы, образующиеся непосредственно в мочевыделительной и репродуктивной системах, особенно при наличии в них патологических процессов [57, 60]. Степень этого влияния зависит от пола пациента, анатомических особенностей, локализации и выраженности протекаемого процесса. У женщин результаты анализа мочи могут искажаться при наличии воспалительных и инфекционных процессов влагалища, шейки матки, наружных половых органов, а также в зависимости от фазы менструального цикла и наличия менструального кровотечения [62]. У мужчин дополнительными источниками свободных радикалов, влияющими на результаты мочевых показателей,

могут быть воспалительные и инфекционные заболевания предстательной железы, уретры и других органов мочеполовой системы, сопровождающиеся изменением клеточного и микроорганизменного состава мочи, появлением в ней воспалительных компонентов и активацией процессов свободнорадикального окисления [63, 64].

Помимо влияния патологических процессов, значения мочевых показателей зависит от особенностей формирования мочи, возраста, характера питания, циркадных ритмов, приёма лекарственных препаратов, времени сбора образца, потребления жидкости, объёма диуреза и функционального состояния почек [26]. При этом выраженная вариабельность степени разведения мочи обуславливает необходимость нормализации исследуемых показателей, что позволяет повысить сопоставимость результатов между отдельными образцами и группами исследования. Основные подходы к нормализации показателей свободнорадикального гомеостаза в моче представлены в таблице.

Наиболее распространённым подходом к нормализации мочевых биомаркеров является выражение концентрации определяемого показателя относительно содержания креатинина мочи, что обусловлено его достаточно стабильным физиологическим выведением из организма. Данный тип нормализации применяется при оценке ряда показателей окислительного повреждения, в частности F2-изопростанов и 8-OHdG, для которых в отдельных исследованиях показана точность определения более 90 % [27, 65].

Альтернативные подходы к нормализации, например, по осмоляльности и удельной плотности мочи, могут применяться для исследования различных

метаболитов, белков и молекулярных маркеров, включая преобладающие низкомолекулярные антиоксиданты мочи, — метаболиты глутатионовой системы, мочевую и аскорбиновую кислоты [55]. Для оценки мочевых ферментативных антиоксидантов может использоваться нормализация данных показателей относительно содержания общего белка мочи или расчёт абсолютной скорости экскреции фермента. Таким образом, выбор подхода к нормализации мочевых показателей должен учитывать не только цели исследования и особенности используемой методики, но и биологическую природу оцениваемого показателя [66].

В целом, среди неинвазивно получаемых биожидкостей, исследование мочи наиболее стандартизировано и включает регламентацию всех этапов анализа в соответствии с международными и клиническими рекомендациями, национальными нормативными документами и стандартными операционными процедурами лабораторий, при этом особое значение уделяется контролю преаналитических факторов [58]. Однако существующие подходы стандартизации в основном относятся к рутинной клинической лабораторной диагностике, тогда как определение показателей свободнорадикального гомеостаза не имеет общепринятых рекомендаций. Это приводит к субъективному выбору аналитических методов, подходов к нормализации и, как следствие, отсутствию единых референсных значений. Вместе с тем для отдельных мочевых биомаркеров, например, 8-oxodG, были разработаны международные стандарты, включающие рекомендации по унификации методов анализа, контролю преаналитических факторов и повышению межлабораторной сопоставимости результатов [67].

ТАБЛИЦА

ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К НОРМАЛИЗАЦИИ И ПРЕДСТАВЛЕНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА МОЧЕВЫХ ПАРАМЕТРОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА

TABLE

BASIC APPROACHES TO NORMALIZATION AND PRESENTATION OF THE RESULTS OF ANALYSIS OF URINARY PARAMETERS OF FREE RADICAL HOMEOSTASIS

Параметр нормализации	Применение	Особенности и ограничения
Креатинин мочи	Продукты окислительного повреждения ДНК, липидов и некоторые другие продукты окислительной модификации биомолекул	Зависит от индивидуальных особенностей обмена креатинина (мышечной массы, возраста, пола, питания, беременности) и функционального состояния почек
Удельная плотность	Низкомолекулярные соединения и другие показатели, концентрация которых зависит от степени разведения образца	Зависит от состава растворенных веществ мочи (например, глюкозы и белков)
Осмоляльность мочи	Низкомолекулярные соединения и другие показатели, концентрация которых зависит от степени разведения образца	Зависит от водно-электролитного баланса и концентрационной функции почек
Общий белок мочи	Ферментативные компоненты антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, каталаза, ферменты глутатионовой системы)	Зависит от вариабельности белкового состава мочи
Расчёт суточной экскреции	Оценка абсолютного количества вещества, экскретируемого с мочой за 24 часа	Зависит от корректности стандартизированного сбора мочи в течение суток

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Параметры свободнорадикального гомеостаза, изучаемые в образцах слёзной жидкости, слюны и мочи в преобладающем большинстве схожи с редокс-параметрами, определяемыми в образцах крови, но не дублируют их значения. Каждая их рассмотренных биожидкостей обладает различной диагностической информативностью для оценки локальных и системных редокс-изменений, однако вклад этих изменений в получаемые результаты остаётся неуточнённым. В перспективе их совместное использование может стать основой для формирования комплексного подхода к исследованию состояния свободнорадикального гомеостаза организма, с учётом разработки методов стандартизации для каждой биоматрицы.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Колесникова Л.И., Сутина Л.В., Лабыхина А.В., Осипова Е.В., Лещенко О.Я., Загарских Е.Ю. и др. Состояние репродуктивного здоровья, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у подростков, проживающих в крупном промышленном центре Ангарск. *Acta Biomedica Scientifica*. 2005; 5: 42–47. [Kolesnikova LI, Suturina LV, Labygina AV, Osipova EV, Leshchenko OA, Zagarskikh EL, et al. The state of reproductive health, lipid peroxidation processes and the antioxidant system in adolescents living in the large industrial center of Angarsk. *Acta Biomedica Scientifica*. 2005; 5: 42–47. (In Russ.)].
2. Семёнова Н.В. Окислительный стресс и менопауза (обзор литературы). *Acta Biomedica Scientifica*. 2014; 2(96): 120–125. [Semenova NV. Oxidative stress and menopause (literature review). *Acta Biomedica Scientifica*. 2014; 2(96): 120–125. (In Russ.)].
3. Sandu CA, Donica VC, Balmus IM, Bilha IM, Ganea CV, Sandu IA, et al. Tear-based oxidative stress biomarkers in primary and sarcoidosis-associated dry eye disease. *Int J Mol Sci*. 2026; 27(4): 2071. doi: 10.3390/ijms27042071
4. Флоренсов В.В., Протопопова Н.В., Колесникова Л.И. Состояние перекисного окисления липидов и антиокислительной системы у беременных с осложнённым течением беременности и плацентарной недостаточностью. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2005; LIV(2): 44–49. [Florensov VV, Protopopova NV, Kolesnikova LI. The state of lipid peroxidation and the antioxidant system in pregnant women with uncomplicated pregnancy and placental insufficiency. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei*. 2005; LIV(2): 44–49. (In Russ.)].
5. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Долгих М.И., Семёнова Н.В. Адаптивные реакции липидного обмена у представительниц коренного и пришлого населения Тофаларии, проживающих в экстремальных условиях среды. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2014; 50(5): 343–348. [Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Dolgikh MI, Semenova NV. Adaptive reactions of lipid metabolism in indigenous and non-indigenous female individuals of Tofalarian population living under extreme environmental conditions. *Zhurnal evoliutsionnoi biokhimii i fiziologii*. 2014; 50(5): 343–348. (In Russ.)].
6. Никитина О.А., Семёнова Н.В., Новикова Е.А., Карачева А.Н., Лесная А.С., Колесников С.И. и др. Уровень 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина и антиоксидантный статус в динамике физиологической беременности. *Acta Biomedica Scientifica*. 2025; 10(2): 140–149. [Nikitina OA, Semenova NV, Novikova EA, Karacheva AN, Lesnaya AS, Kolesnikov SI, et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine level and antioxidant status in the dynamics of physiological pregnancy. *Acta Biomedica Scientifica*. 2025; 10(2): 140–149 (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2025-10.2.14
7. Lopez-Contreras AK, Martínez-Ruiz MG, Oliveira-Montano C, Robles-Rivera RR, Arevalo-Simental DE, Castellanos-González JA, et al. Importance of the use of oxidative stress biomarkers and inflammatory profile in aqueous and vitreous humor in diabetic retinopathy. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(9): 891. doi: 10.3390/antiox9090891
8. Patra DC, Mondal SP. Paper-based electrochemical sensor integrated with gold nanoparticle-decorated carbon cloth as a working electrode for nitric oxide detection in artificial tears. *ACS Appl Bio Mater*. 2024; 7(8): 5247–5257. doi: 10.1021/acsabm.4c00425
9. Белоус Е.М., Синьковская К.Д. Образование активных форм кислорода в клетках. Роль митохондрий. *Актуальные проблемы общей и клинической биохимии*. 2024: сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно. 2024; 24: 129–136. [Belous EM, Sinkovskaia KD. Formation of reactive oxygen species in cells. The role of mitochondria. *Current issues in general and clinical biochemistry*. 2024: *Proceedings of the Republican scientific and practical conference, Grodno*. 2024; 24: 129–136. (In Russ.)].
10. Бричагина А.С., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Возрастная менопауза и карбонильный стресс. *Успехи геронтологии*. 2022; 35(2): 206–213. [Brichagina AS, Semenova NV, Kolesnikova LI. Age-related menopause and carbonyl stress. *Advances in Gerontology*. 2022; 35(2): 206–213. (In Russ.)]. doi: 10.34922/AE.2022.35.2.004
11. Лесная А.С., Даренская М.А., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Новый аспект метаболических нарушений при ожирении: карбонильный стресс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023; 43(6): 24–33. [Lesnaya AS, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikova LI. A new aspect of metabolic disorders in obesity: carbonyl stress. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023; 43(6): 24–33. (In Russ.)]. doi: 10.18699/SSMJ20230603
12. Лесная А.С., Семёнова Н.В., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Балжирова Д.Б., Колесникова Л.И. К вопросу о нитрозативном стрессе у подростков с экзогенно-конституциональным ожирением. *Вопросы детской диетологии*. 2023; 21(6): 85–90. [Lesnaya AS, Semenova NV, Darenskaya MA, Rychkova LV, Balzhirova DB, Koles-

nikova LI. Nitrosative stress in adolescents with exogenous constitutional obesity. *Pediatric nutrition*. 2023; 21(6): 85–90. (In Russ.). doi: 10.20953/1727-5784-2023-6-85-90

13. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень Сибирской Медицины*. 2017; 16(4): 16–29. [Kolesnikova LI, Darenskaia MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: a pathophysiolgists view. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 16(4): 16–29. (In Russ.).] doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29

14. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Бричагина А.С., Колесников С.И., Колесникова Л.И. 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин как маркер окислительного стресса при инсомнии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171(3): 369–372. doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-3-369-372 [Semenova NV, Madaeva IM, Brichagina AS, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as an oxidative stress marker in insomnia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171(3): 369–372. (In Russ.).] doi: 10.1007/s10517-021-05233-0

15. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. Новосибирск: Новосибирское отделение издательства «Наука»; 2011: 135. [Kolesnikova LI, Osipova EV, Grebenkina LA. *Oxidative stress in reproductive endocrine disorders in women*. Novosibirsk: Novosibirskoe otdelenie izdatelstva "Nauka"; 2011. (In Russ.).]

16. Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Rychkova LV, Kravtsova OV, Semenova NV, Kolesnikov SI. Relationship between lipid metabolism state, lipid peroxidation and antioxidant defense system in girls with constitutional obesity. *AIMS Molecular Science*. 2021; 8(2): 117–126. doi: 10.3934/molsci.2021009

17. Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. Diabetic nephropathy: significance of determining oxidative stress and opportunities for antioxidant therapies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(15): 12378. doi: 10.3390/ijms241512378

18. Navel V, Malecaze J, Pereira B, Baker JS, Malecaze F, Sapin V, et al. Oxidative and antioxidative stress markers in keratoconus: a systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol*. 2021; 99(6): e777–e794. doi: 10.1111/aos.14714

19. Navel V, Sapin V, Henrioux F, Blanchon L, Labbe A, Chiambaretta F, et al. Oxidative and antioxidative stress markers in dry eye disease: A systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol*. 2022; 100(1): 45–57. doi: 10.1111/aos.14892

20. Courtois P. Oral peroxidases: from antimicrobial agents to ecological actors (Review). *Mol Med Rep*. 2021; 24(1): 500. doi: 10.3892/mmr.2021.12139

21. Martins JR, Díaz-Fabregat B, Ramírez-Carmona W, Monteiro DR, Pessan JP, Antoniali C. Salivary biomarkers of oxidative stress in children with dental caries: Systematic review and meta-analysis. *Arch Oral Biol*. 2022; 139: 105432. doi: 10.1016/j.archoralbio.2022.105432

22. Čižmarová B, Tomečková V, Hubková B, Huraťová A, Ohlasová J, Birková A. Salivary redox homeostasis

in human health and disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(17): 10076. doi: 10.3390/ijms231710076

23. Даренская М.А., Гончаров И.С., Колесников С.И., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Пародонтит и окислительный стресс: современные тенденции в изучении патогенетической взаимосвязи и способы коррекции. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(1): 81–91. [Darenskaya MA, Goncharov IS, Kolesnikov SI, Semenova NV, Kolesnikova LI. Periodontitis and oxidative stress: current trends in the study of pathogenetic relationships and methods of correction. *Patologicheskaja fiziologija i eksperimental-naia terapija*. 2025; 69(1): 81–91. (In Russ.).] doi: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.81-91

24. Chun KS, Kim DH, Surh YJ. Role of reductive versus oxidative stress in tumor progression and anticancer drug resistance. *Cells*. 2021; 10(4): 758. doi: 10.3390/cells10040758

25. Лесная А.С., Семёнова Н.В., Даренская М.А., Колесникова Л.И. Неинвазивно получаемый биологический материал человека: возможности, ограничения и перспективы применения в клинической лабораторной диагностике и биомедицинских исследованиях (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2026; 71(9): 1112–1121. [Lesnaya AS, Semenova NV, Darenskaya MA, Kolesnikova LI. Non-invasively obtained human biological material: potential, limitations and prospects for use in clinical laboratory diagnostics and biomedical research (review of literature). *Klinicheskaja Laboratornaja Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2026; 71(9): 1112–1121. (In Russ.).] doi: 10.51620/0869-2084-2026-71-9-1112-1121

26. Al-Assi G, Abdulsahib WK, Abdal-Wahab ST, Padma Priya G, Ray S, Divakaran S, et al. Non-invasive biological matrices on biosensor design. *Clin Chim Acta*. 2026; 582: 120785. doi: 10.1016/j.cca.2025.120785

27. Bălaşa AF, Chircov C, Grumezescu AM. Body fluid biomarkers for Alzheimers disease – an up-to-date overview. *Biomedicines*. 2020; 8(10): 421. doi: 10.3390/biomedicines8100421

28. Чеснокова Н.Б., Нероева Н.В., Павленко Т.А., Безнос О.В. Изменение метаболизма слезной жидкости при патологии сетчатки. *Российский офтальмологический журнал*. 2025; 18(3): 158–65. [Chesnokova NB, Neroeva NV, Pavlenko TA, Beznos OV. Changes of tear metabolism in retinal pathology. *Russian Ophthalmological Journal*. 2025; 18(3): 158–65. (In Russ.).] doi: 10.21516/2072-0076-2025-18-3-158-165

29. Фрайкин Г.Я. Фотосенсибилизированные реакции окислительного повреждения биомолекул: роль в генотоксических и цитотоксических процессах. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2024; 79(3): 167–183. [Fraikin Gla. Photosensitized reactions of oxidative damage to biomolecules: role in genotoxic and cytotoxic processes. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seria 16. Biologija*. 2024; 79(3): 167–183. (In Russ.).] doi: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-3-1

30. Böhm EW, Buonfiglio F, Voigt AM, Bachmann P, Safi T, Pfeiffer N, et al. Oxidative stress in the eye and its role in the pathophysiology of ocular diseases. *Redox Biol.* 2023; 68: 102967. doi: 10.1016/j.redox.2023.102967
31. Sert S, Arıcı C, Mergen B, Balci Ekmekçi Ö. The effect of conjunctiva-müller muscle resection on tear oxidative stress levels in patients with blepharoptosis. *Turk J Ophthalmol.* 2024; 54(3): 133–139. doi: 10.4274/tjo.galenos.2024.02697
32. Hu R, Shi J, Xie CM, Yao XL. Dry eye disease: oxidative stress on ocular surface and cutting-edge antioxidants. *Glob Chall.* 2025; 9(7): e00068. doi: 10.1002/gch2.202500068
33. Bu J, Liu Y, Zhang R, Lin S, Zhuang J, Sun L, et al. Potential new target for dry eye disease – oxidative stress. *Antioxidants (Basel).* 2024; 13(4): 422. doi: 10.3390/antiox13040422
34. Yesilirmak N, Bukan N, Kurt B, Yuzbasioglu S, Zhao M, Rodrigues-Braz D, et al. Evaluation of ocular and systemic oxidative stress markers in ocular rosacea patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2023; 64(13): 22. doi: 10.1167/iops.64.13.22
35. Кузнецова В.М. Изменение биохимического состава слезной жидкости при синдроме сухого глаза. *Международный студенческий научный вестник.* 2024; 3: 71–71. [Kuznetsova VM. Changes in the biochemical composition of tear fluid in dry eye syndrome. *Mezhdunarodnyi studencheskii nauchnyi vestnik.* 2024; 3: 71–71. (In Russ.)]. doi: 10.17513/msnv.21575
36. Xiao J, Frenia K, Garwood KC, Kimmel J, Labriola LT. High-throughput tear proteomics via in-capillary digestion for biomarker discovery. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(22): 12239. doi: 10.3390/ijms252212239
37. Aydin E, Azizoglu S, Chong L, Gokhale M, Suphioglu C. From proteome to miRNome: a review of multi-omics ocular allergy research using human tears. *Int J Mol Sci.* 2026; 27(2): 671. doi: 10.3390/ijms27020671
38. Vergouwen DPC, Schotting AJ, Endermann T, van de Werken HJG, Grashof DGB, Arumugam S, et al. Evaluation of pre-processing methods for tear fluid proteomics using proximity extension assays. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 4433. doi: 10.1038/s41598-023-31227-1
39. Nättinen J, Aapola U, Jylhä A, Vaajanen A, Uusitalo H. Comparison of capillary and schirmer strip tear fluid sampling methods using SWATH-MS proteomics approach. *Transl Vis Sci Technol.* 2020; 9(3): 16. doi: 10.1167/tvst.9.3.16
40. Aydin E, Dhar P, Gokhale M, Chong L, Azizoglu S, Suphioglu C. A review of emerging tear proteomics research on the ocular surface in ocular allergy. *Biology (Basel).* 2022; 11(2): 312. doi: 10.3390/biology11020312
41. Schmeetz J, van de Sande N, Rojas-Carabali W, Mergen B, Bonnet C, Boychev N, et al. International reporting guidelines for tear fluid research: A Delphi consensus. *Cont Lens Anterior Eye.* 2025; 48(5): 102448. doi: 10.1016/j.clae.2025.102448
42. Базарный В.В., Соснин Д.Ю. Ротовая жидкость как объект неинвазивной лабораторной диагностики. *Лабораторная и клиническая медицина. Фарма-ция.* 2023; 3(3): 4–11. [Bazarnyi VV, Sosnin DYU. Oral fluid as an object of noninvasive laboratory diagnostics. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy.* 2023; 3(3): 4–11. (In Russ.)]. doi: 10.14489/lcmp.2023.03.pp.004-011
43. Ling SW, van der Veldt A, Segbers M, Luiting H, Brabander T, Verburg F. Tubarial salivary glands show a low relative contribution to functional salivary gland tissue mass. *Ann Nucl Med.* 2024; 38(11): 913–918. doi: 10.1007/s12149-024-01965-x
44. Камнева Н.А., Аксенова В.О., Кузнецова У.А., Раджабова М.В. Заболевания слюнных желез у детей. *Концепции, теория и методика фундаментальных и прикладных научных исследований.* 2022; 157–168. [Kamneva NA, Aksenova VO, Kuznetsova YuA, Radzhabova MV. Diseases of the salivary glands in children. *Kontseptsii, teoriia i metodika fundamentalnykh i prikladnykh nauchnykh issledovani.* 2022; 157–168. (In Russ.)].
45. Сарф Е.А., Бельская Л.В. Факторы вариабельности состава смешанной слюны (обзор литературы). *Биомедицинская химия.* 2025; 71(5): 319–332. Sarf EA, Bel'skaia LV. Factors of variability in the composition of mixed saliva (literature review). *Biomeditsinskaya khimiia.* 2025; 71(5): 319–332. doi: 10.18097/PBMCR1574
46. Wang J, Schipper HM, Velly AM, Mohit S, Gornitsky M. Salivary biomarkers of oxidative stress: A critical review. *Free Radic Biol Med.* 2015; 85: 95–104. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.005
47. Maciejczyk M, Bielas M, Zalewska A, Gerreth K. Salivary biomarkers of oxidative stress and inflammation in stroke patients: from basic research to clinical practice. *Oxid Med Cell Longev.* 2021; 2021: 5545330. doi: 10.1155/2021/5545330
48. Boroumand M, Olianias A, Cabras T, Manconi B, Fanni D, Faa G, et al. Saliva, a bodily fluid with recognized and potential diagnostic applications. *J Sep Sci.* 2021; 44(19): 3677–3690. doi: 10.1002/jssc.202100384
49. Бурмистров М.Е., Петров М.В., Вечканова Е.И., Комиссаренко И.А., Марков В.В., Афанасьева Е.А. Сравнительный анализ методов сбора, хранения и исследования слюны при оценке биомаркеров атеросклероза (обзор литературы). *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* 2026; 1: 106–124. [Burmistrov ME, Petrov MV, Vechkanova EI, Komissarenko IA, Markov VV, Afanaseva EA. Comparative analysis of methods for collecting, storing and studying saliva in assessing biomarkers of atherosclerosis (literature review). *University proceedings. Volga region. Medical sciences.* 2026; 1: 106–124. (In Russ.)]. doi: 10.21685/2072-3032-2026-1-8
50. Копенкин М.А., Полушина Л.Г., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В., Базарный В.В. Биохимические особенности ротовой жидкости при старении. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2024; 69(3): 108–115. [Kopenkin MA, Polushina LG, Sementsova EA, Mandra YuV, Bazarnyi VV. Change features of saliva biochemical parameters during aging. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics).* 2024; 69(3): 108–115. (In Russ.)]. doi: 10.51620/0869-2084-2024-69-3-108-115

51. Finamore A, Peluso I, Cauli O. Salivary stress/immunological markers in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(22): 8562. doi: 10.3390/ijms21228562
52. Żukowski P, Maciejczyk M, Waszkiel D. Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. *Arch Oral Biol.* 2018; 92: 8–17. doi: 10.1016/j.archoral-bio.2018.04.018
53. Tóthová L, Kamodyová N, Červenka T, Celec P. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015; 5: 73. doi: 10.3389/fcimb.2015.00073
54. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Роль мелатонина как компонента антиоксидантной защиты при инсомнии в перименопаузе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019; 119(7): 7–13. [Semenova NV, Madaeva IM, Kolesnikova LI. The role of melatonin as a component of the antioxidant defense system in perimenopausal women with insomnia. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2019; 119(7): 7–13. (In Russ.).] doi: 10.17116/jnevro20191190717
55. Ialongo C. Preanalytic of total antioxidant capacity assays performed in serum, plasma, urine and saliva. *Clin Biochem.* 2017; 50(6): 356–363. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.11.037
56. Peña-Bautista C, Durand T, Vigor C, Oger C, Galano JM, Cháfer-Pericás C. Non-invasive assessment of oxidative stress in preterm infants. *Free Radic Biol Med.* 2019; 142: 73–81. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.02.019
57. Ягмурова Г.Р. Физиология выделительной системы. *Наука и мировоззрение.* 2025; 1(47): 96–101. [Iagmurova GR. Physiology of the excretory system. *Nauka i mirovozzrenie.* 2025; 1(47): 96–101. (In Russ.).]
58. Kouri TT, Hofmann W, Falbo R, Oyaert M, Schubert S, Gertsen JB, et al. The EFLM European Urinalysis Guideline 2023. *Clin Chem Lab Med.* 2024; 62(9): 1653–1786. doi: 10.1515/cclm-2024-0070
59. Павлова В.Ю., Денисенко В.Е., Чеснокова Л.Д., Анешина И.И. Диагностические возможности исследования мочи. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2022; 7(4): 122–135. [Pavlova VYu, Denisenko VE, Chesnokova LD, Aneshina II. Diagnostic possibilities of urinalysis. *Fundamental and clinical medicine.* 2022; 7(4): 122–135. (In Russ.).] doi: 10.23946/2500-0764-2022-7-4-122-135
60. Il'yasova D, Scarbrough P, Spasojevic I. Urinary biomarkers of oxidative status. *Clin Chim Acta.* 2012; 413(19–20): 1446–1453. doi: 10.1016/j.cca.2012.06.012
61. Graille M, Wild P, Sauvain J, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB. Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020; 21(11): 3743. doi: 10.3390/ijms21113743
62. Данусевич И.Н., Наделяева Я.Г., Лазарева Л.М., Немченко У.М., Колесникова Л.И. Особенности вагинальной микробиоты при хроническом цервиците и хроническом эндометрите у женщин с невынашиванием беременности. *Acta Biomedica Scientifica.* 2025; 10(3): 12–21. [Danusevich IN, Nadeliaeva IaG, Lazareva LM, Nemchenko UM, Kolesnikova LI. Features of vaginal microbiota in chronic cervicitis and chronic endometritis in women with miscarriage. *Acta Biomedica Scientifica.* 2025; 10(3): 12–21. (In Russ.).] doi: 10.29413/ABS.2025-10.3.2
63. Курашова Н.А., Колесникова Л.И. Окислительный стресс при некоторых воспалительных и инфекционных заболеваниях урогенитального тракта у мужчин. *Урология.* 2018; 1: 155–158. [Kurashova NA, Kolesnikova LI. Oxidative stress in some inflammatory and infectious diseases of the urogenital tract in men. *Urologiia.* 2018; 1: 155–158. (In Russ.).] doi: 10.18565/urol-ogy.2018.1.155-158
64. Братчиков О.И., Дубонос П.А., Тюзиков И.А., Шумакова Е.А. Механизмы окислительного стресса в патогенезе хронического бактериального простатита (обзор литературы). *Андрология и генитальная хирургия.* 2022; 23(3): 19–28. [Bratchikov OI, Dubonos PA, Tiuzikov IA, Shumakova EA. Mechanisms of oxidative stress in the pathogenesis of chronic bacterial prostatitis (literature review). *Andrologiia i genitalnaia khirurgiia.* 2022; 23(3): 19–28. (In Russ.).] doi: 10.17650/2070-9781-2022-23-3-19-28
65. Li T, Tynkkynen T, Ihanus A, Zhao S, Mäkinen VP, Ala-Korpela M. Characteristics of normalization methods in quantitative urinary metabolomics - implications for epidemiological applications and interpretations. *Biomolecules.* 2022; 12(7): 903. doi: 10.3390/biom12070903
66. Wang J, Li Y, Wang Y, Wang G, Zhao C, Zhang Y, et al. Comparison of protein solubilization and normalization methods for proteomics analysis of extracellular vesicles from urine. *J Proteome Res.* 2025; 24(5): 2430–2442. doi: 10.1021/acs.jproteome.4c01085
67. Evans MD, Olinski R, Loft S, Cooke MS. Toward consensus in the analysis of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a noninvasive biomarker of oxidative stress. *FASEB J.* 2010; 24(4): 1249–60. doi: 10.1096/fj.09-147124

Сведения об авторах

Лесная Анастасия Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: tasi1212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Семёнова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-201>

Гончаров Иван Сергеевич – соискатель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: ivanstom@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9675-9385>

Крушинская Наталья Валерьевна – аспирант ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5275-0793>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, научный руководитель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: kolesnikova20121@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

Anastasiya S. Lesnaya – Cand. Sc. (Biol.), researcher at the laboratory of pathophysiology, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: tasi121212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), professor of the RAS, chief researcher at the laboratory of pathophysiology, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction; e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Marina A. Darenskaya – Dr. Sc. (Biol.), professor of the RAS, chief researcher of the laboratory of pathophysiology, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-201>

Ivan S. Goncharov – applicant of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: ivanstom@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9675-9385>

Natalia V. Krushinskaya – postgraduate student, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5275-0793>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), member of the RAS, professor, academic adviser at the Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: kolesnikova20121@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭТОКСИЛИРОВАННОГО НОНИЛФЕНОЛА И НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МЕДИ (CuO) НА БИОПЛЕНКИ *RHODOCOCCLUS RUBER*

Баяндина Е.А.^{1,2},
Куюкина М.С.^{1,2},
Ившина И.Б.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», (614068, Пермь, Букирева, 15, Россия)

² ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН (614081, Пермь, Голева 13, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Баяндина Елена Александровна
e-mail:
elenababaiandinapsu@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Этокселированный нонилфенол (ЭНФ) — поверхностно-активное вещество с высокой токсичностью и эндокринно-разрушающим действием, сохраняющимся после частичной биodeградации. В нанобиоремедиации сублетальные концентрации наночастиц могут индуцировать горметический эффект, стимулируя образование биопленок и усиливая катаболический потенциал микроорганизмов. В частности, наночастицы оксида меди (НЧ CuO) в сублетальных концентрациях модифицируют поверхностные свойства клеток и стимулируют формирование биопленок, усиливая биокаталитический потенциал бактерий рода *Rhodococcus* в биоремедиации. Однако механизмы адаптации биопленок родококков к органическим ксенобиотикам и нанометаллам недостаточно изучены.

Цель исследования. Оценить влияние комбинированного воздействия ЭНФ и сублетальных концентраций НЧ CuO на морфологию, свойства и формирование биопленок *Rhodococcus ruber*.

Материалы и методы. Использовали штаммы *R. ruber* ИЭГМ 1263 и ИЭГМ 71 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) при воздействии ЭНФ (0,16–100 г/л) и НЧ CuO (0,0007–0,5 г/л). Биопленки выращивали на полипропиленовых дисках, ζ-потенциал клеток измеряли методом динамического светорассеяния, жизнеспособность и морфологию клеточной поверхности изучали с помощью совмещенной конфокальной лазерной и атомно-силовой микроскопии (КЛСМ-АСМ).

Результаты. Комбинированное воздействие ЭНФ и НЧ CuO приводило к снижению жизнеспособности родококков на 20–80 %, при этом суммарный токсический эффект определялся воздействием наноксида меди. Биопленки штамма *R. ruber* ИЭГМ 1263, выращенные в присутствии сублетальных (1–10 г/л ЭНФ и 0,001 г/л НЧ CuO) концентраций экотоксикантов, характеризовались пониженной (в 2,6 раз) адсорбцией на носителе, коагgregацией клеток, более отрицательным (–34,2 мВ) значением ζ потенциала и увеличением (до 4,8 нм) шероховатости клеточной поверхности по сравнению с контролем.

Заключение. Выявлены морфoфизиологические адаптации клеток *Rhodococcus ruber*, способствующие формированию биопленок и повышению устойчивости бактерий к комплексному химическому стрессу. Полученные данные подтверждают перспективность использования биопленок родококков для биоремедиации экосистем, загрязненных органическими ксенобиотиками и нанометаллами.

Ключевые слова: биопленки, *Rhodococcus*, наночастицы оксида меди, этокселированный нонилфенол, биоремедиация

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 18.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Баяндина Е.А., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Комбинированное воздействие этокселированного нонилфенола и наночастиц оксида меди (CuO) на биопленки *Rhodococcus ruber*. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 108–116. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.11

COMBINED EFFECT OF ETHOXYLATED NONYLPHENOL AND COPPER OXIDE NANOPARTICLES (CuO) ON *RHODOCOCCLUS RUBER* BIOFILMS

Bayandina E.A.^{1,2},
Kuyukina M.S.^{1,2},
Ivshina I.B.^{1,2}

¹ Perm State University, (Bukirev St., 15, Perm 614068, Russian Federation)

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Golev St., 13, Perm 614081, Russian Federation)

Corresponding author:

Elena A. Bayandina

e-mail:

elenababaiandinapsu@gmail.com

ABSTRACT

Background. Ethoxylated nonylphenol (ENP) is a surfactant characterized by high toxicity and endocrine-disrupting activity that persists after partial biodegradation. In nanobioremediation, sublethal concentrations of nanoparticles can induce a hormetic effect, stimulating biofilm formation and enhancing the catabolic potential of microorganisms. Copper oxide nanoparticles (CuO NPs) at sublethal concentrations modify cell surface properties and stimulate biofilm formation, thereby enhancing the biocatalytic potential of bacteria of the genus *Rhodococcus* in bioremediation processes. However, the mechanisms of *Rhodococcus* biofilm adaptation to organic xenobiotics and nano-metals remain poorly understood.

Aim. To evaluate the effect of combined exposure to ENP and sublethal concentrations of CuO NPs on the morphology, surface properties, and biofilm formation of *Rhodococcus ruber*.

Materials and methods. Strains *R. ruber* IEGM 1263 and IEGM 71 from the Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms were used. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined under exposure to ENP (0.16–100 g/L) and CuO NPs (0.0007–0.5 g/L). Biofilms were cultivated on polypropylene discs. The ζ -potential of cells was measured by dynamic light scattering, while cell viability and surface morphology were analyzed using combined confocal laser scanning and atomic force microscopy (CLSM-AFM).

Results. Combined exposure to ENP and CuO NPs reduced rhodococcal viability by 20–80 %, whereas the overall toxic effect was mainly determined by copper oxide nanoparticles. Biofilms of the resistant strain *R. ruber* IEGM 1263 grown in the presence of sublethal concentrations of ecotoxins (1–10 g/L ENP and 0.001 g/L CuO NPs) were characterized by decreased adhesion to the carrier (2.6-fold), cell coaggregation, a more negative ζ -potential (–34.2 mV), and increased cell surface roughness (up to 4.8 nm) compared with the control.

Conclusion. Morphophysiological adaptations of *Rhodococcus ruber* cells promoting biofilm formation and increasing bacterial resistance to complex chemical stress were identified. The obtained data confirm the potential of using *Rhodococcus* biofilms for bioremediation of ecosystems contaminated with organic xenobiotics and nano-metals.

Keywords: biofilms, *Rhodococcus*, copper oxide nanoparticles, ethoxylated nonylphenol, bioremediation

Received: 31.03.2026

Accepted: 18.08.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Bayandina E.A., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Combined effect of ethoxylated nonylphenol and copper oxide nanoparticles (CuO) on *Rhodococcus ruber* biofilms. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 108-116. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.11

ВВЕДЕНИЕ

Этокселированный нонилфенол (ЭНФ) — устойчивое неионогенное поверхностно-активное вещество, относящееся к ксеноэстрогенам. Его массовое поступление в окружающую среду связано с промышленным и бытовым использованием моющих средств. В условиях биологической очистки сточных вод ЭНФ подвергается неполной биодegradации, образуя еще более токсичные продукты — нонилфенол и короткоцепочечные этоксилаты [1, 2]. Высокая химическая стойкость, способность взаимодействовать с клеточными липидами, эндокринно-разрушающая активность и склонность к биоаккумуляции делают эти соединения существенными загрязнителями водных и почвенных экосистем и определяют их экологические и потенциальные медико-биологические риски.

Несмотря на внедрение инновационных биотехнологий очистки сточных вод, эффективность удаления ЭНФ остается недостаточной из-за его устойчивости к биоразложению и токсичности (повреждение клеточных мембран) для микроорганизмов-биодеструкторов [3, 4]. В этой связи растет интерес к использованию биопленок, поскольку клетки в биопленочной форме обладают повышенной резистентностью к токсикантам и сохраняют метаболическую активность в стрессовых условиях [5]. Нанометаллы, в том числе НЧ CuO, влияют на микроорганизмы за счет индукции окислительного стресса, нарушения целостности клеточной стенки и цитоплазматической мембраны [6, 7]. При воздействии нанометаллов на микроорганизмы в сублетальных концентрациях часто наблюдаются изменения морфологии клеток, их адгезивных свойств и формирование многоклеточных агрегатов [8, 9].

Бактерии рода *Rhodococcus* являются перспективными агентами биоремедиации благодаря специфической структуре клеточной стенки, широкому спектру катаболической активности, способности синтезировать развитый экзополимерный матрикс и формировать стабильные биопленки [10].

Металлические наночастицы способны усиливать антимикробное и биоцидное воздействие органических соединений через совместные механизмы, включая генерацию активных форм кислорода, высвобождение ионов и повреждение мембран [11, 12]. В то же время, бактерии могут развивать устойчивость к комбинированному стрессу, вызванному нанометаллами и антибиотиками, через активацию ионных насосов, экспрессию экзополимерного матрикса и адаптацию биопленок [13, 14]. Понимание адаптационных механизмов клинически значимых микроорганизмов важно для прогнозирования рисков появления резистентных форм и снижения эффективности новых наноантибиотиков [15]. С другой стороны, сегодня все большее внимание уделяется взаимодействию полезных микробных биопленок, осуществляющих деградацию органических загрязнителей, с металлическими

наночастицами с целью ускорения биоремедиационных процессов [16].

Нами ранее было показано, что отдельные представители родококков проявляют устойчивость к воздействию как ЭНФ [17], так и НЧ CuO, демонстрируя целый комплекс адаптивных клеточных реакций [18]. Однако в литературе отсутствуют сведения о механизмах адаптации данных бактерий к совместному действию органических ксенобиотиков и нанометаллов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить комбинированное воздействие этокселированного нонилфенола и наночастиц CuO на жизнеспособность, морфологию, поверхностные свойства клеток и формирование биопленок *Rhodococcus ruber*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бактериальные штаммы и химические реагенты. Использовали штаммы *R. ruber* ИЭГМ 71 и ИЭГМ 1263 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ¹). Этокселированный нонилфенол (ЭНФ) Berol 09 (Akzo Nobel, Швеция) применяли в виде водного раствора. Наночастицы оксида меди (CuO) (50–80 нм) (ООО «Эквилибриум», Россия) диспергировали в PBS (Phosphate-Buffered Saline) (pH 7,4) с использованием ультразвукового гомогенизатора Soniprep 150 (MSE, UK) в течение 15 мин.

Определение МИК. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) ЭНФ и НЧ CuO при раздельном и совместном внесении определяли методом серийных двукратных разведений в минеральной среде RS в 96-луночных микропланшетах. В первый ряд лунок вносили исходные растворы ЭНФ (100 г/л) и НЧ CuO (0,5 г/л) с последующим двукратным разведением, после чего добавляли 10 мкл бактериальной суспензии ($3,0 \times 10^7$ кл/мл). Планшеты инкубировали 72 ч при 28 °C, затем окрашивали 0,2 % раствором йодонитротетразолия (ИНТ). Оптическую плотность определяли при $\lambda = 630$ нм с использованием спектрофотометра Multiskan Ascent (Thermo Electron Corporation, США).

Получение биопленок на полипропиленовых дисках. Для получения биопленок использовали 250-мл колбы со средой RS с 1,0 об. % *n*-гексадекана, в которые вносили 0,5 мл бактериальной суспензии с $OP_{600} = 1,0$ и диски из вспененного полипропилена ($\varnothing 0,5$ см; 100 шт.), затем добавляли ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л). В качестве контролей использовали колбы с инокулированной средой без внесения полипропиленовых дисков и/или без добавления ЭНФ и НЧ CuO. Все образцы инкубировали при 28 °C с перемешиванием 120 об/мин в течение 24, 48 и 72 ч. Степень адсорбции клеток на носителе определяли по разнице оптической

1 Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним ИЭГМ, www.iegmc.ru).

плотности (ОП 600) культуральной жидкости в опытных и контрольных (без внесения дисков) образцах.

КЛСМ-АСМ. Образец биопленки промывали физиологическим раствором (0,9 % NaCl), наносили на покровное стекло, окрашивали набором LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit (Invitrogen, США) и сканировали с помощью совмещенного конфокального лазерного сканирующего микроскопа FluoView 1000 (Olympus, Япония) и атомно-силового микроскопа MFP-3D-BIO (Asylum Research, США) в полуконтактном режиме на воздухе.

Определение ζ -потенциала. Образец биопленки промывали физиологическим раствором и суспендировали в 1 мМ растворе KNO_3 до достижения ОП 600 равного 0,2. Измерение ζ -потенциала проводили методом динамического светорассеяния на ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания) при 25 °С.

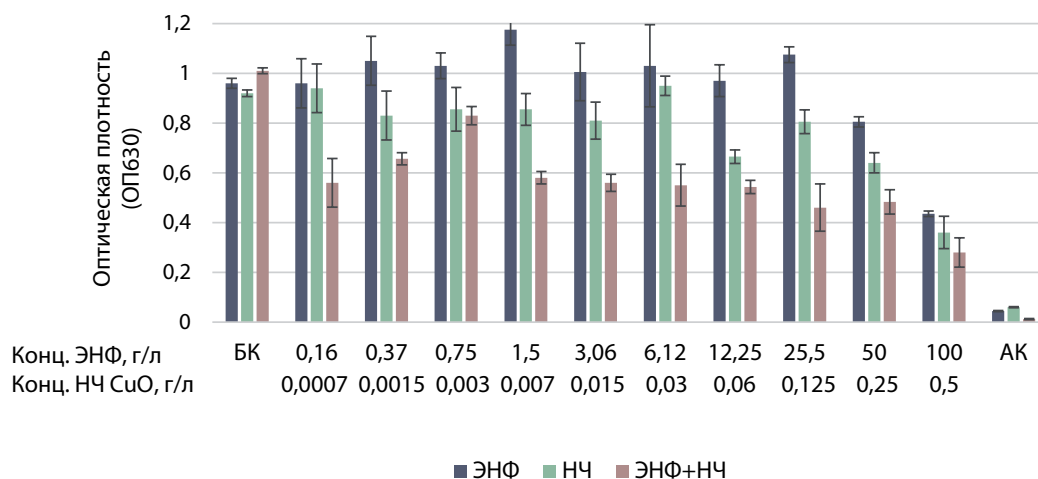
Статистика. Все данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$, $n = 3$).

Достоверность различий оценивали с помощью непарного t -теста Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате комбинированного воздействия ЭНФ и НЧ CuO обнаружен выраженный синергический эффект на жизнеспособность клеток *R. ruber* ИЭГМ 71 (рис. 1А), при этом степень ингибирования бактериальной культуры достигала 20–70 %, что на 10–40 % выше таковой при раздельном действии экотоксикантов. Для сравнения, штамм *R. ruber* ИЭГМ 1263 оказался более устойчивым к комбинированному воздействию ЭНФ и НЧ CuO (рис. 1Б). Так степень жизнеспособности клеток не отличалась от контрольной при низких и умеренных концентрациях экотоксикантов, тогда как при высоких концентрациях наблюдалось 40–75 % ингибирование по сравнению с контролем, однако

А



Б

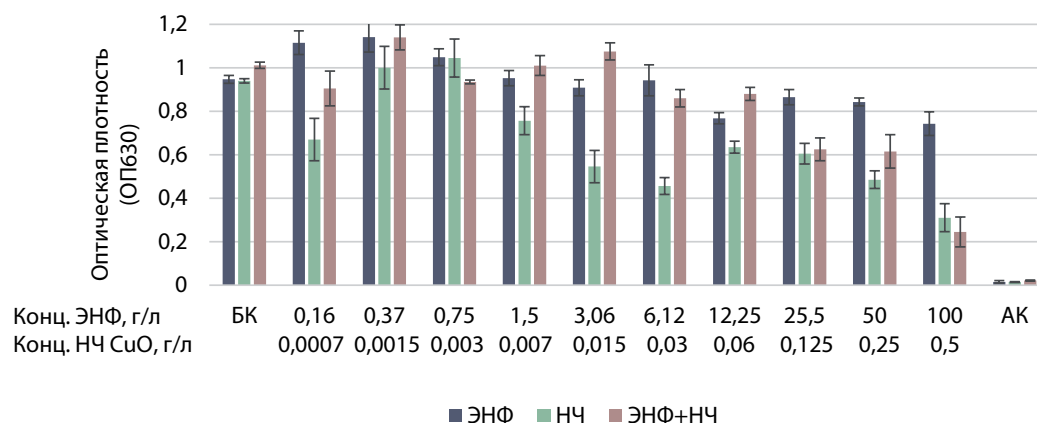


РИС. 1.

Снижение жизнеспособности клеток *R. ruber* ИЭГМ 71 (А) и ИЭГМ 1263 (Б) в зависимости от концентрации ЭНФ и НЧ CuO. АК – абиотический контроль, БК – биотический контроль

FIG. 1.

Decrease in the viability of *R. ruber* IEGM 71 (А) and IEGM 1263 (Б) cells depending on the concentration of ENP and CuO NPs. АК – abiotic control, БК – biotic control

этот эффект был менее выражен, чем при изолированном действии нанометалла. Для обоих штаммов ингибирующее воздействие НЧ CuO значительно превышало таковое ЭНФ, что согласуется с ранее полученными результатами и литературными данными о высокой токсичности наноксида меди [18].

На основании полученных данных о чувствительности исследованных штаммов родококков к комбинированному воздействию ЭНФ и НЧ CuO для дальнейших экспериментов были выбраны концентрации экотоксикантов, вызывающие выраженный, но не летальный стресс для бактериальных клеток (1,0 и 10 г/л ЭНФ и 0,001 г/л НЧ CuO), что позволило изучить адаптационные свойства биопленок.

Известно, что адгезивные свойства клеток играют ключевую роль в формировании биопленок бактерий рода *Rhodococcus*, определяя их устойчивость к стрессам и эффективность трансформации сложных загрязнителей [10, 19, 20]. Так показано, что при адгезии *R. erythropolis* к металлическим и неметаллическим поверхностям происходит перестройка липидного профиля клеток, что сказывается на эффективности формирования биопленок [21].

Как видно на рисунке 2, степень адсорбции клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 на полипропиленовых дисках в присутствии ЭНФ и НЧ CuO снижалась на 25–45 % по сравнению с контролем, что свидетельствует об уменьшении способности клеток закрепляться на поверхности носителя. Напротив, для штамма *R. ruber* ИЭГМ 71 выявлено статистически достоверное усиление процесса адсорбционной иммобилизации клеток, вплоть до 85 %, в присутствии экотоксикантов. Следует отметить, что в ходе эксперимента наблюдалось образование клеточных агрегатов при одновременном воздействии ЭНФ и НЧ CuO, особенно выраженное для *R. ruber* ИЭГМ 1263, что отражает особенности раннего этапа

формирования биопленок родококков под действием комбинированного химического стресса.

Обнаруженные различия в чувствительности штаммов *R. ruber* ИЭГМ 71 и *R. ruber* ИЭГМ 1263 к комбинированному воздействию ЭНФ и НЧ CuO, вероятно, связаны с местом их выделения, а также генетическими и фенотипическими особенностями. Штамм *R. ruber* ИЭГМ 1263², выделенный из нефтезагрязненных отходов, характеризуется более широким спектром каталитической активности, включая биodeградацию бензола и ксилола, что может влиять на устойчивость к комплексному химическому стрессу. Напротив, штамм *R. ruber* ИЭГМ 71³, изолированный из поверхностных вод, в условиях стресса, вероятно, активирует усиленную адгезию и формирует биопленки как средства защиты.

С помощью совмещенного КЛСМ-АСМ сканирования были изучены морфологические изменения клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 в составе биопленок при комбинированном воздействии ЭНФ и НЧ CuO (рис. 3). Установлено, что в контрольных условиях клетки родококков имели характерную палочковидную форму и гладкую поверхность со слабо выраженным нанорельефом (рис. 3А), сохраняющуюся в присутствии сравнительно низкой (1,0 г/л) концентрации ЭНФ (рис. 3Б). Комбинированное воздействие ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л) вызывало нарушение гладкого рельефа, увеличение структурной неоднородности поверхности и усиление клеточной агрегации (рис. 3В).

При повышении концентрации ЭНФ до 10 г/л в присутствии НЧ CuO наблюдалось увеличение числа мертвых и поврежденных клеток, искажение формы и формирование крупных плотных клеточных агрегатов с заметными перепадами высоты рельефа поверхности (рис. 3Г), свидетельствующее об усилении стрессиндуцированных морфологических

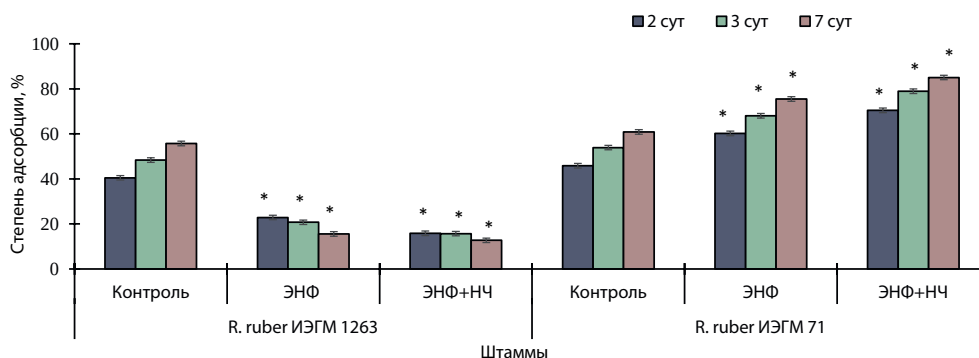


РИС. 2.

Влияние ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л) на адсорбционную иммобилизацию клеток родококков на полипропиленовых дисках. * – достоверные различия с контролем ($p < 0,05$)

FIG. 2.

Effect of ENP (1.0 g/L) and CuO NPs (0.001 g/L) on the adsorption immobilization of rhodococcal cells on polypropylene disks. * – significant differences from the control ($p < 0.05$)

2 Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (ИЭГМ). Паспорт штамма *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 1263 (http://www.iegmc.ru/strains/rhodoc/ruber/r_ruber1263.html)

3 Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (ИЭГМ). Паспорт штамма *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 71 (http://www.iegmc.ru/strains/rhodoc/ruber/r_ruber71.html)

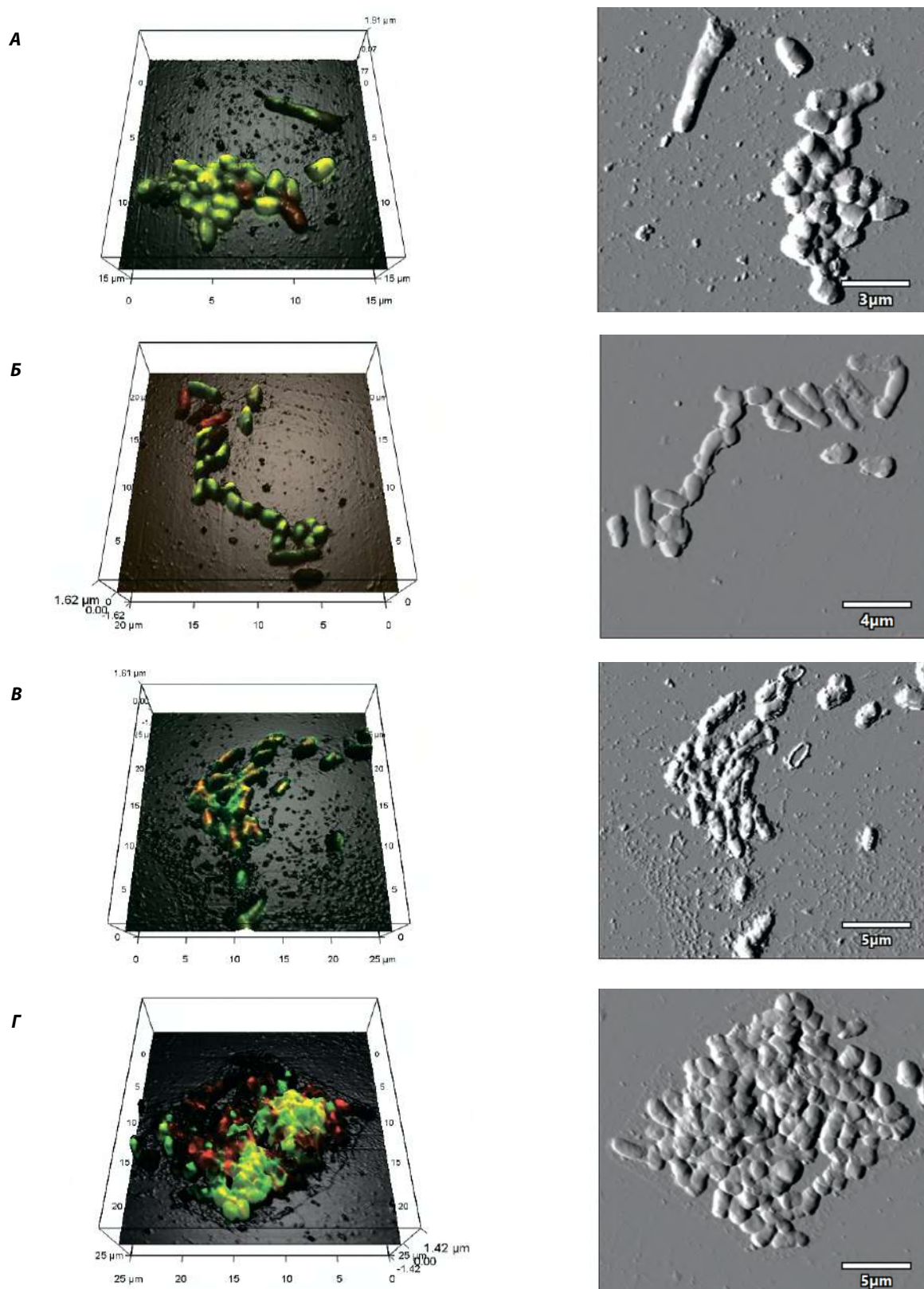


РИС. 3.

Совмещенные 3D КЛСМ-АСМ изображения (слева) и АСМ сканы (по каналу высоты) (справа) клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 в контроле (А); в присутствии ЭНФ (1,0 г/л) (Б); ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л) (В); ЭНФ (10 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л) (Г). Клетки окрашены с помощью набора LIVE/DEAD, живые – светятся зеленым, мертвые – красным, с поврежденной клеточной мембраной – желто-оранжевым цветом

FIG. 3.

Combined 3D CLSM-AFM images (left) and AFM scans (height channel) (right) of *R. ruber* IEGM 1263 cells in the control (A); in the presence of ENP (1.0 g/L) (B); ENP (1.0 g/L) and CuO NPs (0.001 g/L) (C); ENP (10 g/L) and CuO NPs (0.001 g/L) (D). Cells were stained using the LIVE/DEAD kit: live cells appear green, dead cells appear red, and cells with damaged cell membranes appear yellow-orange

перестроек. Полученные результаты согласуются с ранее полученными нами [18] и литературными [22] данными по индуцированному НЧ CuO увеличению продукции экзополимерного матрикса, особенно его белкового компонента, как защитному стресс-ответу биопленки.

Показатели среднеквадратичной шероховатости (Rq) поверхности клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 также варьировали в зависимости от условий воздействия на них ЭНФ и НЧ CuO (рис. 4). В контрольных образцах величина Rq составляла $2,5 \pm 0,53$ нм, что характерно для относительно гладкого нанорельефа клеточной поверхности. Под воздействием ЭНФ в концентрации 1,0 г/л значение Rq оставалось близким к контролю ($2,4 \pm 0,87$ нм), подтверждая отсутствие значимых морфологических изменений клеток.

Комбинированное воздействие ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л) вызывало статистически значимое увеличение показателя шероховатости клеточной поверхности до $4,8 \pm 0,67$ нм. Выявленный двукратный рост значения Rq может отражать адсорбцию НЧ CuO или ионов Cu^{2+} на клеточной поверхности. Кроме того, это может быть связано с изменением локализации поверхностных липидов, как ранее было показано при воздействии на родококки наночастиц оксида меди [18].

Электрокинетический (ζ) потенциал является интегральным показателем клеточного заряда и чувствительным индикатором повреждений цитоплазматической мембраны при воздействии на клетку НЧ металлов [23]. Анализ динамики ζ -потенциала клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 выявил повышение отрицательно заряда клеточной поверхности при всех вариантах воздействия ЭНФ и наноксида меди (рис. 5). Так при добавлении ЭНФ (1,0 г/л) ζ -потенциал изменялся от $-25,55 \pm 0,4$ мВ в контроле до $-31,4 \pm 0,5$ мВ, указывая на увеличение плотности отрицательно заряженных групп на поверхности клеточной стенки.

Комбинированное воздействие ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л) приводило к дальнейшему смещению ζ -потенциала в отрицательную область (до $-34,2 \pm 0,4$ мВ), что свидетельствует о существенной перестройке поверхностных структур

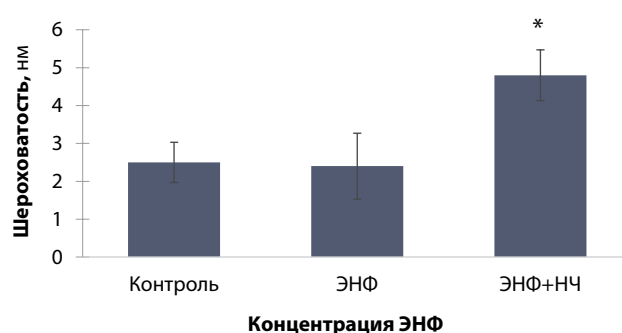


РИС. 4.

Среднеквадратичная шероховатость (Rq) поверхности клеток биопленки *R. ruber* ИЭГМ 1263 в контроле, в присутствии ЭНФ (1,0 г/л) и при совместном воздействии ЭНФ (1,0 г/л) и НЧ CuO (0,001 г/л). * – статистически значимые различия по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

FIG. 4.

Root mean square roughness (Rq) of the biofilm cell surface of *R. ruber* IEGM 1263 in the control, in the presence of ENP (1.0 g/L), and under combined exposure to ENP (1.0 g/L) and CuO NPs (0.001 g/L). * – statistically significant differences compared to the control ($p < 0.05$)

и вероятной адсорбции отрицательно заряженных наночастиц оксида меди на клеточной стенке родококков, как показано нами ранее [18].

Стоит отметить, что ζ -потенциал клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 вырос до -50 мВ на 7-е сутки при комбинированном воздействии низких концентраций ЭНФ (1 г/л) и НЧ CuO (0,1 г/л), тогда как при более высокой концентрации ЭНФ (10 г/л) аналогичный эффект отсутствовал. Ранее было показано [24], что значения ζ -потенциала клеток родококков закономерно сдвигаются в сторону показателей, характерных для НЧ, что свидетельствует об их аккумуляции на поверхности клеток. Кроме того, ЭНФ как поверхностно-активное вещество может связываться с НЧ CuO и тем самым влиять на агрегационную стабильность: при высокой концентрации ЭНФ вероятно образование ассоциатов с наночастицами, что снижает их доступность для адсорбции на клеточной поверхности [25].

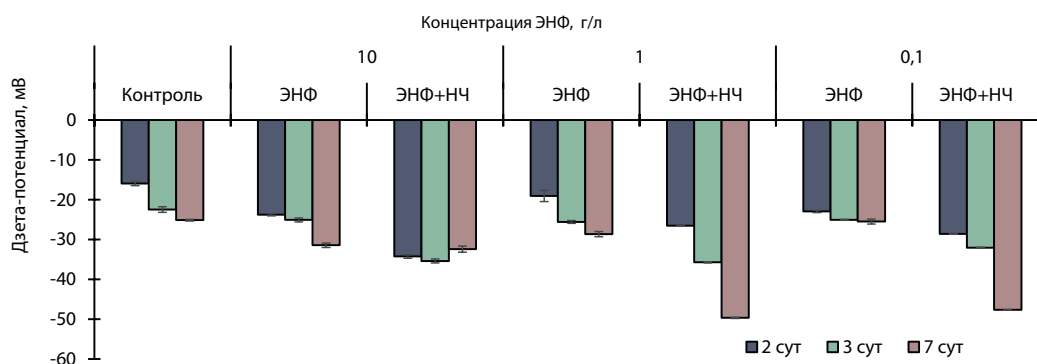


РИС. 5.

Влияние ЭНФ и НЧ CuO (0,001 г/л) на ζ -потенциал клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 в биопленке

FIG. 5.

Effect of ENP and CuO NPs (0.001 g/L) on the ζ -potential of *R. ruber* IEGM 1263 cells in the biofilm

Таким образом, выявленные изменения клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 при комбинированном воздействии ЭНФ и НЧ CuO – снижение адгезии, усиление коагрегации, увеличение шероховатости и отрицательного ζ -потенциала – могут рассматриваться как адаптивный ответ на стресс, повышающий устойчивость биопленок. Снижение адгезии и агрегация способствуют защите клеток внутри агрегатов [22], а увеличение отрицательного заряда и шероховатости, вероятно, связано с синтезом экзополимерного матрикса, создающего дополнительный барьер для токсикантов [18, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования установлено, что комбинированное воздействие ЭНФ (1,0 г/л) и сублетальных концентраций НЧ CuO (0,001 г/л) на биопленки *Rhodococcus ruber* индуцирует комплекс морфологических изменений (изменение формы клеток и их агрегация, повышение шероховатости и отрицательного ζ -потенциала клеточной поверхности), способствующих повышению устойчивости к комплексному химическому стрессу. Полученные данные позволяют рассматривать биопленки родококков как перспективный объект для использования в биоремедиации экосистем, загрязненных нанометаллами и органическими ксенобиотиками.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации FSNF-2025-0013.

Выражение признательности

Использовано оборудование ЦКП «Специализированный кабинет атомно-силовой и конфокальной микроскопии» ПГНИУ и ЦКП «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов» ПФИЦ УрО РАН.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Zhang J, Yang M, Zhang Y, Chen M. Biotransformation of nonylphenol ethoxylates during sewage treatment under anaerobic and aerobic conditions. *J Environ Sci (China)*. 2008; 20(2): 135–141. doi: 10.1016/S1001-0742(08)60021-2
2. Lu D, Yu L, Li M, Zhai Q, Tian F, Chen W. Behavioral disorders caused by nonylphenol and strategies for protection. *Chemosphere*. 2021; 275: 129973. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129973
3. Corvini PF, Vinken R, Hommes G, Schmidt B, Dohmann M. Degradation of the radioactive and non-la-

- belled branched 4(3',5'-dimethyl 3'-heptyl)-phenol nonylphenol isomer by sphingomonas TTNP3. *Biodegradation*. 2004; 15(1): 9–18. doi: 10.1023/b:biod.0000009937.20251.d2
4. Lu J, Jin Q, He Y, Wu J, Zhao J. Biodegradation of nonylphenol ethoxylates by *Bacillus* sp. LY capable of heterotrophic nitrification. *FEMS Microbiol Lett*. 2008; 280(1): 28–33. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.01039.x
5. Mishra S, Huang Y, Li J, Wu X, Zhou Z, Lei Q, et al. Biofilm-mediated bioremediation is a powerful tool for the removal of environmental pollutants. *Chemosphere*. 2022; 294: 133609. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.133609
6. Ningombam L, Mana T, Apum G, Ningthoujam R, Singh YD. Nano-bioremediation: A prospective approach for environmental decontamination in focus to soil, water, and heavy metals. *Environ Nanotechnol Monit Manag*. 2024; 21: 100931. doi: 10.1016/j.enmm.2024.100931
7. Asghar N, Hussain A, Nguyen DA, Ali S, Hussain I, Junejo A, et al. Advancement in nanomaterials for environmental pollutants remediation: a systematic review on bibliometrics analysis, material types, synthesis pathways, and related mechanisms. *J Nanobiotechnology*. 2024; 22(1): 26. doi: 10.1186/s12951-023-02151-3
8. Yang Y, Alvarez PJJ. Sublethal Concentrations of Silver Nanoparticles Stimulate Biofilm Development. *Environ Sci Technol Lett*. 2015; 2(8): 221–226. doi: 10.1021/acs.estlett.5b00159
9. Miao L, Wang C, Hou J, Wang P, Ao Y, Li Y, et al. Response of wastewater biofilm to CuO nanoparticle exposure in terms of extracellular polymeric substances and microbial community structure. *Sci Total Environ*. 2017; 579: 588–597. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.11.056
10. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Криворучко А.В., Тюмина Е.А. Актиномицеты *Rhodococcus ruber* – ключевые и универсальные биоокислители газообразных алканов C₂–C₄. *Микробиология*. 2025; 94(1): 3–32. [Ivshina IB, Kuyukina MS, Krivoruchko AV, Tyumina EA. Actinomycetes *Rhodococcus ruber* – key and universal biooxidizers of gaseous alkanes C₂–C₄. *Microbiology*. 2025; 94(1): 3–32. (In Russ.)]. doi: 10.7868/S3034546425010019
11. Abdullah J, Jamil T, Atif M, Khalid S, Metwally K, Yahya G, et al. Recent Advances in the Development of Metal/Metal Oxide Nanoparticle and Antibiotic Conjugates (MNP–Antibiotics) to Address Antibiotic Resistance: Review and Perspective. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(16): 8915. doi: 10.3390/ijms25168915
12. Slavin YN, Asnis J, Häfeli UO, Bach H. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *J Nanobiotechnology*. 2017; 15(1): 65. doi: 10.1186/s12951-017-0308-z
13. Pal C, Asiani K, Arya S, Rensing C, Stekel DJ, Larsson DGJ, et al. Chapter Seven – Metal Resistance and Its Association with Antibiotic Resistance. *Advances in Microbial Physiology*. 2017; 70: 261–313. doi: 10.1016/b.sampbs.2017.02.001
14. Niño-Martínez N, Salas Orozco ME, Martínez-Castañón GA, Torres Méndez F, Ruiz F. Molecular Mechanisms of Bacterial Resistance to Metal and Metal Oxide Nanoparticles. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(11): 2808. doi: 10.3390/ijms20112808

15. Prabhu C, Uchangi S, Deekshit VK. Understanding Bacterial Resistance to Heavy Metals and Nanoparticles: Mechanisms, Implications, and Challenges. *J Basic Microbiol.* 2025; 65(2): e2400596. doi: 10.1002/jobm.202400596
16. Kuyukina MS, Bayandina EA, Ivshina IB. Interactions of microbial biofilms with metal nanoparticles in the context of bioremediation. *Folia Microbiologica.* 2026; 1–11. doi: 10.1007/s12223-026-01459-5
17. Баяндина Е.А., Поздеева А.В., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Устойчивость коллекционных штаммов родококков к воздействию экотоксиканта – этоксилированного нонилфенола. *Вестник ПГУ. Биология.* 2023; (4): 337–348. [Bayandina EA, Pozdeeva AV, Kuyukina MS, Ivshina IB. Resistance of *Rhodococcus* collection strains to the effects of ecotoxicant – ethoxylated nonylphenol. *Bulletin of PSU. Biology.* 2023; (4): 337–348. (In Russ.)]. doi: 10.17072/1994-9952-2023-4-337-348
18. Kuyukina MS, Bayandina EA, Kostrikin NA, Sorokin VV, Mulyukin AL, Ivshina IB. Adaptations of *Rhodococcus rhodochrous* biofilms to oxidative stress induced by copper(II) oxide nanoparticles. *Langmuir.* 2025; 41(2): 1356–1367. doi: 10.1021/acs.langmuir.4c03987
19. de Carvalho CCCR. *Adaptation of Rhodococcus to organic solvents Biology of Rhodococcus.* Cham: Springer. 2019; 16: 109–131. doi: 10.1007/978-3-642-12937-7_5
20. Pátek M, Grulich M, Nešvera J. Stress response in *Rhodococcus* strains. *Biotechnol Adv.* 2021; 53: 107698. doi: 10.1016/j.biotechadv.2021.107698
21. Rodrigues CJC, de Carvalho CCRC. *Rhodococcus erythropolis* cells adapt their fatty acid composition during biofilm formation on metallic and non-metallic surfaces. *FEMS Microbiol Ecol.* 2015; 91(12): fiv135. doi: 10.1093/femsec/fiv135
22. Miao L, Wang C, Hou J, Wang P, Ao Y, Li Y, et al. Aggregation and removal of copper oxide (CuO) nanoparticles in wastewater environment and their effects on the microbial activities of wastewater biofilms. *Bioresour Technol.* 2016; 216: 537–544. doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.082
23. Ferreyra Maillard A, Gonçalves S, Santos NC, López de Mishima BA, Dalmasso PR, Hollmann A. Studies on interaction of green silver nanoparticles with whole bacteria by surface characterization techniques. *Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes.* 2019; 1861(6): 1086–1092. doi: 10.1016/j.bbamem.2019.03.011
24. Kuyukina MS, Makarova MV, Pistsova ON, Glebov GG, Osipenko MA, Ivshina IB. Exposure to metal nanoparticles changes zeta potentials of *Rhodococcus* cells. *Heliyon.* 2022; 8(11): e11632. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11632
25. Khan R, Inam MA, Khan S, Jiménez AN, Park DR, Yeom IT. The Influence of Ionic and Nonionic Surfactants on the Colloidal Stability and Removal of CuO Nanoparticles from Water by Chemical Coagulation. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.* 2019; 16(7): 1260. doi: 10.3390/ijerph16071260

Сведения об авторах

Баяндина Елена Александровна – аспирант, инженер-исследователь *Rhodococcus*-центра, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»; младший научный сотрудник лаборатории механобиологии живых систем, ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН; e-mail: elenabaiaandinapsu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9266-3877>

Куюкина Мария Станиславовна – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»; ведущий научный сотрудник, ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН; e-mail: kuyukina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9165-8363>

Ившина Ирина Борисовна – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»; заведующая лабораторией, ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН; e-mail: lvshina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2558-4789>

Information about the authors

Elena A. Bayandina – postgraduate student, research engineer at the *Rhodococcus* Centre; Perm State University (PSU); junior researcher at the Laboratory of Mechanobiology of Living Systems, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; e-mail: elenabaiaandinapsu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9266-3877>

Maria S. Kuyukina – Dr. Sc. (Biol.), professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University (PSU); leading researcher, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; e-mail: kuyukina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9165-8363>

Irina B. Ivshina – Dr. Sc. (Biol.), professor, member of the Russian Academy of Sciences, professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University (PSU); head of the Laboratory, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; e-mail: lvshina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2558-4789>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОГО МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА НА ОСНОВЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

**Зугеева Р.Е.,
Смурова Н.Е.,
Горкавенко А.С.,
Клименко Е.С.,
Белькова Н.Л.,
Семёнова Н.В.,
Рычкова Л.В.**

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Зугеева Раиса Евгеньевна
e-mail: raya.zugeeva@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Лактобациллы, являясь представителями нормобиоты, представляют большой интерес как наиболее важный и перспективный объект биотехнологии для создания пробиотических препаратов и функционального питания. Ключевым критерием выбора штаммов является подтвержденная безопасность, а именно отсутствие генов вирулентности и устойчивости к антимикробным препаратам (АМП). Важным аспектом в биобезопасности лактобацилл также является отсутствие плазмидного материала в геноме.

Цель работы. Оценить безопасность штаммов лактобацилл на основании фенотипической чувствительности к АМП и полногеномного анализа для обоснованного отбора штаммов-кандидатов в состав пробиотических консорциумов.

Материалы и методы. В исследование вошло 34 штамма лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа здоровых и условно-здоровых детей и подростков Иркутской области. Идентификацию штаммов проводили с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования. Чувствительность к АМП определяли диско-диффузионным методом. Проводили скрининг геномов штаммов лактобацилл на наличие генов устойчивости к АМП, вирулентности и плазмидных последовательностей.

Результаты. Фенотипический анализ чувствительности штаммов лактобацилл к АМП выявил как общие для всей коллекции черты, так и видоспецифичные особенности, преимущественно в отношении оксациллина и пенициллина G. В геномах всех проанализированных штаммов лактобацилл гены устойчивости к АМП и вирулентности отсутствовали. Плазмиды обнаружены в геномах 26 из 34 штаммов. По способности к горизонтальному переносу 37 плазмид были немобильными, 22 – мобильными и 1 – конъюгативная. Штаммы с мобильными и конъюгативными плазмидами были исключены из списка кандидатных штаммов в пробиотические консорциумы.

Заключение. Предложенный алгоритм отбора штаммов лактобацилл, включающий оценку фенотипической чувствительности к АМП, скрининг генома на наличие генов устойчивости к АМП, вирулентности и мобильных плазмидных элементов, позволяет отбирать безопасные штаммы для дальнейшего конструирования пробиотических консорциумов.

Ключевые слова: лактобациллы, микробный консорциум, пробиотик, чувствительность к антибиотикам, полногеномное секвенирование, плазмиды

Статья поступила: 22.07.2026
Статья принята: 24.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Зугеева Р.Е., Смурова Н.Е., Горкавенко А.С., Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. Обоснование выбора штаммов лактобацилл для создания пробиотического микробного консорциума на основе их биологической безопасности. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 117-125. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.12

RATIONALE OF THE SELECTION OF LACTOBACILLI STRAINS FOR THE DEVELOPMENT OF A PROBIOTIC MICROBIAL CONSORTIUM BASED ON THEIR BIOLOGICAL SAFETY

Zugeeva R.E.,
Smurova N.E.,
Gorkavenko A.S.,
Klimenko E.S.,
Belkova N.L.,
Semenova N.V.,
Rychkova L.V.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazev Str., 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Raisa E. Zugeeva
e-mail: raya.zugeeva@mail.ru

ABSTRACT

Background. Lactobacilli, being representatives of the normobiota, are of great interest as the most important and promising biotechnological targets for the development of probiotics and functional nutrition. The key criterion for strain selection is proven safety, specifically the absence of virulence and antimicrobial resistance (AMR) genes. An important aspect of the biosafety of lactobacilli is the absence of plasmids in the genome.

Aim. To evaluate the safety of lactobacilli strains based on their phenotypic susceptibility to antimicrobials (AMs) and whole-genome analysis for the evidence-based selection of candidate strains for probiotic consortia.

Materials and methods. The study included 34 strains of lactobacilli isolated from the intestinal biotope of healthy and apparently healthy children and adolescents in the Irkutsk region. The strains were identified using MALDI-TOF mass spectrometry and whole-genome sequencing. Susceptibility to AMs was determined using the disk diffusion method. The genomes of lactobacillus strains were screened for the presence of AMR, virulence, and plasmid sequences.

Results. A phenotypic analysis of the susceptibility of lactobacilli strains to AMs revealed both collection-wide characteristics and species-specific features, mainly in relation to oxacillin and penicillin G. The genes for AMR and virulence were absent in the genomes of all analyzed lactobacillus strains. Plasmids were found in the genomes of 26 of the 34 strains. In terms of horizontal transfer, 37 plasmids were non-mobilizable, 22 were mobilizable, and 1 was conjugative. Strains with mobile and conjugative plasmids were excluded from the list of candidate strains for probiotic consortia.

Conclusion. The proposed algorithm for selecting lactobacilli strains, including the assessment of phenotypic susceptibility to AMs, genome screening for the presence of AMR and virulence genes, and mobile plasmid elements, enables the selection of safe strains for the further development of probiotic consortia.

Key words: lactobacilli, microbial consortia, probiotic, antibiotic susceptibility, whole-genome sequencing, plasmids

Received: 22.07.2026
Accepted: 24.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Zugeeva R.E., Smurova N.E., Gorkavenko A.S., Klimenko E.S., Belkova N.L., Semenova N.V., Rychkova L.V. Rationale of the selection of lactobacilli strains for the development of a probiotic microbial consortium based on their biological safety. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 117-125. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.12

ОБОСНОВАНИЕ

Кишечная микробиота — сложная динамичная экосистема, состоящая из множества микроорганизмов, которые играют фундаментальную роль в регулировании большинства аспектов физиологии макроорганизма [1]. Симбионты кишечника обеспечивают поддержание гомеостаза, модулируя метаболизм, поддерживая эпителиальный гомеостаз и улучшая иммунную толерантность кишечника. Дисбиоз кишечника может приводить к неблагоприятным состояниям, таким как метаболический синдром, воспалительные заболевания кишечника, ожирение [2, 3].

Лактобациллы, являясь представителями нормобиоты, представляют большой интерес как наиболее важный и перспективный объект биотехнологии для создания пробиотических препаратов и функционального питания для коррекции различных нарушений [4]. Представители семейства *Lactobacillaceae* характеризуются комплексом биологически значимых свойств, включая антагонистическую активность в отношении патогенной и условно-патогенной микробиоты, способность к синтезу органических кислот, витаминов группы В и других биологически активных соединений, а также участие в регуляции иммунных реакций и поддержания целостности барьерного эпителия кишечника. Указанные характеристики обуславливают их перспективность в качестве основы для конструирования пробиотических микробных консорциумов [5, 6].

Однако эффективность пробиотиков возможна лишь при строгом отборе штаммов с учетом их биологических и технологических свойств. Отбор штаммов для включения в состав пробиотических препаратов, основан на стандартах, которые были опубликованы Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций и Всемирной организацией здравоохранения [7]. Штаммы-кандидаты должны обладать устойчивостью к условиям желудочно-кишечного тракта, антагонистической активностью в отношении патогенных бактерий, а также способностью продуцировать активные вторичные метаболиты. Для разработки пробиотических консорциумов также важно оценивать биосовместимость штаммов и их способность к совместному культивированию [8].

Ключевым критерием выбора штаммов является подтвержденная безопасность, а именно отсутствие генов вирулентности и устойчивости к АМП [9]. Также важным аспектом в биобезопасности лактобацилл является отсутствие плазмидного материала [10]. Количество плазмид, их размер и функции значительно варьируют внутри представителей семейства *Lactobacillaceae*. Преимущественно плазмиды кодируют широкий спектр адаптивных признаков, таких как устойчивость к тяжелым металлам и другим стрессовым факторам, метаболизм аминокислот и углеводов, синтез бактериоцинов, экзополисахаридов и пигментов [11]. Однако известны случаи, когда плазмиды кодируют гены устойчивости к АМП. Содержание таких генов в плазмидной ДНК считается не безопасным, поскольку

возможен горизонтальный перенос генов другим представителям нормобиоты кишечника, а также условно-патогенным и патогенным микроорганизмам [12].

Полногеномный анализ позволяет провести скрининг всего генома на наличие генов вирулентности, устойчивости к АМП и мобильных генетических элементов [13]. Применение такого подхода позволит снизить риски, связанные с потенциальной передачей генетических детерминант вирулентности и резистентности, и провести эффективный отбор безопасных штаммов для последующей разработки пробиотических препаратов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить безопасность штаммов лактобацилл на основании фенотипической чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) и полногеномного анализа для обоснованного отбора штаммов-кандидатов в состав пробиотических консорциумов.

МЕТОДЫ

Объекты исследования

Штаммы лактобацилл, выделенные из кишечника здоровых и условно здоровых детей и подростков Иркутской области. Информация о пациентах после получения бактериальных культур обезличивалась, т. к. основной целью исследования было изучение биологических свойств выделенных штаммов.

Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Протокол № 6 от 21.12.2015 г.) и выполнено с информированного согласия подростков старше 15 лет или родителей/законных представителей детей младше 15 лет. При работе с лицами, участвующими в исследовании, соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией ВМА (в ред. 2013 г.) и Приказом МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 200н «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики».

Методы исследования

Выделение и идентификация штаммов

Выделение и идентификацию описанных культур проводили по ранее описанной методике [12]. Культивирование суспензии биоматериала проводили на жидкой питательной среде MRS (HiMedia Laboratories, Индия) при 37 °C в течение 48 ч. С последующим высевом на плотную питательную среду MRS (ФБНУ ГНЦ ПМБ, Россия). Чашки культивировали в анаэробных условиях с использованием газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз» (ИНКО, Россия) при 37 °C в течение 48 ч. Чистые культуры получали путем культивирования изолированных колоний. Идентификацию полученных изолятов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием прибора Smart MS 5020 (Zhuhai DL Biotech, Китай). Достоверность идентификации оценивалась

по трехбалльной шкале согласно протоколу производителя. Интерпретация результатов проводилась согласно следующим критериям: значение оценки $\geq 2,0$ соответствовало достоверной идентификации на уровне вида, значение в диапазоне от 1,7 до 1,9 — достоверной идентификации на уровне рода, значение менее 1,7 расценивалось как недостоверный результат.

Диско-диффузионный метод определения чувствительности штаммов лактобацилл к АМП

Оценку чувствительности выделенных штаммов лактобацилл к АМП определяли диско-диффузионным методом [12]. Тестирование проводили к следующим группам АМП: β -лактамы (ампициллин (АМП, 10 мкг/мл)), пенициллины (амоксиклав (АМС, 10 мкг/мл), оксациллин (ОХС, 1 мкг/мл), пенициллин G (Р, 1 ЕД)), тетрациклины (тетрациклин (ТЕТ, 30 мкг/мл)), линкозамиды (клиндамицин (СМН, 2 мкг/мл)), макролиды (эритромицин (ЕРУ, 15 мкг/мл)), амфениколы (хлорамфеникол (СНЛ, 30 мкг/мл)) (НИЦФ, Россия).

Интерпретацию полученных результатов проводили согласно МУ 2.3.2.2789–10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке, безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов»: при диаметре зоны ингибирования ≤ 8 –10 мм штамм считали устойчивым к АМП (R), при значениях 11–20 мм — чувствительным при увеличенной экспозиции (I), при значениях ≥ 21 мм — чувствительным (S) [10].

Полногеномное секвенирование

Для выделения ДНК использовали клетки, отобранные в логарифмической фазе роста. Для этого культивирование проводили в жидкой среде Lactobacillus MRS Broth (HiMedia, Индия) при 37 °C в течение 12 ч. Клетки осаждали центрифугированием 9 мл культуральной жидкости при 2200 g в течение 10 мин на центрифуге Neofuge 1600R (Heal Force, Китай). Супернатант удаляли, осажденные клетки ресуспендировали в 100 мкл стерильного физиологического раствора и перенесли в стерильные пробирки объемом 1,5 мл. Геномную ДНК выделяли с помощью коммерческого набора реагентов «Набор для выделения геномной ДНК из бактериальных клеток» (diaGene, Россия). Для этого бактериальные клетки обрабатывали лизирующим раствором с добавлением лизоцима (конечная концентрация 1 мкг/мкл) и 4 мкл РНКазы А при 37 °C в течение 30 мин. Далее ДНК осаждали на силикагелевом сорбенте спин-колонки и промывали путем последовательного нанесения на спин-колонку промывочных растворов. После нанесения каждого раствора спин-колонку в пробирке центрифугировали. Очищенную ДНК элюировали деионизированной водой. ДНК хранили при температуре -80 °C.

Полногеномное секвенирование проводили на NGS-секвенаторе «HELICON G400» (MGI, Китай) в режиме двустороннего считывания (2 × 150 N) с использованием набора реагентов MGIEasy Fast FS Library Prep Set (FCL PE150) (MGI, Китай).

Биоинформационная обработка данных и сборка геномов

Биоинформационный анализ проводили по схеме, описанной ранее [6], с модификациями. Оценку качества необработанных данных секвенирования проводили с помощью программы FastQC v.0.74 [14]. Для удаления адаптерных последовательностей и последовательностей с низким качеством секвенирования использовали инструмент Trimmomatic v.0.39 для парных чтений [15]. Сборку геномов *de novo* до уровня контигов осуществляли с применением программного пакета Spades v.4.2.0 и надстройкой «isolate» для чтений с высокой степенью покрытия [16]. Качество и первичную статистику собранных геномов оценивали с помощью программы Quast v.5.3.0 [17]. Аннотацию бактериальных генов получали с использованием программного инструмента Prokka v.1.14.6 [18]. Видовую идентификацию на основе значений ANI (англ., Average Nucleotide Identity) проводили на веб-сервере MiGA. Принадлежность к определенному виду устанавливали при значении ANI более 95 % в результате попарного сравнения с базой эталонных геномов RefSeq [19].

Скрининг геномов на наличие генов устойчивости к АМП и вирулентности проводили с помощью инструмента ABRicate v.1.4.0 [20] с применением баз данных CARD, ResFinder и VFDB.

Поиск последовательностей плазмид в геномах лактобацилл проводили в программе MOB-Recon v.3.1.9 [21]. Предполагаемую мобильность плазмид определяли *in silico* по комбинации биомаркеров программы MOB-Recon.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация штаммов лактобацилл

В ходе исследования биоматериала детей и подростков было выделено 34 изолята лактобацилл. Все изоляты были грамположительными палочками, расположенными одиночно, в цепочках либо попарно. Идентификацию штаммов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием референтной базы данных прибора Smart MS 5020. Для видов *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Lactiplantibacillus plantarum* степень достоверной идентификации соответствовала высокому уровню от 2,14 до 2,37, что позволило отнести изоляты к соответствующим видам лактобацилл. Для *Limosilactobacillus mucosae* был зарегистрирован средний уровень достоверности от 1,72 до 1,75. Результаты идентификации изолятов методом масс-спектрометрии были подтверждены методом полногеномного секвенирования, видовой состав полученных изолятов представлен в таблице 1.

Все выделенные изоляты лактобацилл вошли в рабочую коллекцию пробиотических штаммов бактерий лаборатории биомедицинской микробиологии ИЭМ ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

ТАБЛИЦА 1

ВИДОВОЙ СОСТАВ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ ИЗОЛЯТОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Вид бактерий	Количество изолятов, абс.
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	3
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	4
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	21
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	1
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	4
<i>Limosilactobacillus mucosae</i>	1

TABLE 1

SPECIES COMPOSITION OF THE IDENTIFIED LACTOBACILLI ISOLATES FROM CHILDREN AND ADOLESCENTS

Оценка чувствительности штаммов лактобацилл к АМП

При оценке чувствительности штаммов лактобацилл были выявлены как общие для всей коллекции черты для всех видов, так и признаки, дифференцирующие отдельные таксономические группы. Чувствительность некоторых штаммов лактобацилл к АМП была описана нами ранее [12], в настоящей работе они включены в сравнительный анализ наряду с результатами для новых штаммов (рис. 1).

Установлено, что все изученные штаммы лактобацилл, независимо от видовой принадлежности, характеризовались чувствительностью к амоксициллину и эритромицину. К ампициллину и тетрациклину для некоторых штаммов была показана чувствительность только при увеличенной экспозиции согласно рекомендациям EUCAST. Сохранение чувствительности к указанным антибиотикам является общим свойством штаммов исследованной коллекции (рис. 1).

Для видов *L. fermentum* и *L. plantarum* выявлен сходный профиль: все представители данных видов были устойчивы к оксациллину. В отношении пенициллина штаммы видов *L. fermentum* и *L. plantarum* демонстрировали либо чувствительность, либо чувствительность при увеличенной экспозиции. Исключением стал штамм *L. plantarum* 45P, проявивший устойчивость к пенициллину G. Также некоторые штаммы из данных групп показали устойчивость к клиндамицину (*L. fermentum* 67P и *L. plantarum* 70P). К остальным АМП данные виды лактобацилл проявили чувствительность или чувствительность при увеличенной экспозиции.

Вид *L. delbrueckii* был чувствителен ко всем протестированным АМП. К оксациллину была выявлена чувствительность при увеличенной экспозиции. Штамм вида *L. mucosae* также проявил чувствительность ко всем АМП. Штамм вида *L. paracasei* проявлял чувствительность в отношении всех АМП, кроме оксациллина, к которому проявил устойчивость.

Наблюдалась вариабельность чувствительности к АМП среди штаммов вида *L. rhamnosus*. Устойчивые штаммы вида *L. rhamnosus* были выявлены только в отношении оксациллина и хлорамфеникола. К другим АМП представители вида *L. rhamnosus* были либо

чувствительны, либо чувствительны при увеличенной экспозиции.

Таким образом, фенотипический анализ чувствительности штаммов лактобацилл к АМП выявил как общие для всей коллекции черты, так и видоспецифические особенности, преимущественно в отношении оксациллина и пенициллина G.

Полногеномный анализ

Гены устойчивости к АМП и вирулентности в геномах лактобацилл

В геномах всех проанализированных штаммов лактобацилл гены устойчивости к АМП и вирулентности с помощью баз данных CARD, ResFinder и VFDB не были обнаружены. Отсутствие данных генетических детерминант позволяет определять исследуемые штаммы как безопасные на данном этапе проверки. Полученные данные геномного анализа подтверждают результаты фенотипической оценки чувствительности к АМП.

Плазмидные последовательности в геномах штаммов лактобацилл

В геномах 26 из 34 исследуемых штаммов были обнаружены плазмиды (рис. 2). Геномы восьми штаммов *L. rhamnosus* 27P, 28P, 34P, N94, 043-2023, 047-2023, 051-2023 и *L. mucosae* 026-2023 не содержали плазмид.

Количество и размер плазмид значительно варьировали у разных штаммов. В геномах отдельных штаммов обнаруживалось от одной до десяти плазмид. Всего проанализировано 60 плазмид, при этом 27 плазмид определены в геномах штаммов вида *L. rhamnosus*, 15 – вида *L. plantarum*, 8 – вида *L. fermentum*, 6 – вида *L. paracasei*, 4 – вида *L. delbrueckii*. Длина плазмид варьировала от 2336 до 171807 п.н. Большинство обнаруженных плазмид (37 плазмид) классифицированы как немобильные, то есть не способные к межклеточному переносу. При этом 22 плазмиды предположительно мобильные и только одна – конъюгативная, то есть способная к самостоятельному переносу. Конъюгативная плазмида была обнаружена у штамма *L. plantarum* 70P, что указывает на потенциально высокий риск горизонтального переноса генов и данный штамм не может быть использован в биотехнологических целях.

Некоторые штаммы вида *L. rhamnosus* (72P, 078-2023, 086-2023, 109-2023, 110-2023, 116-2023, 119-2023)

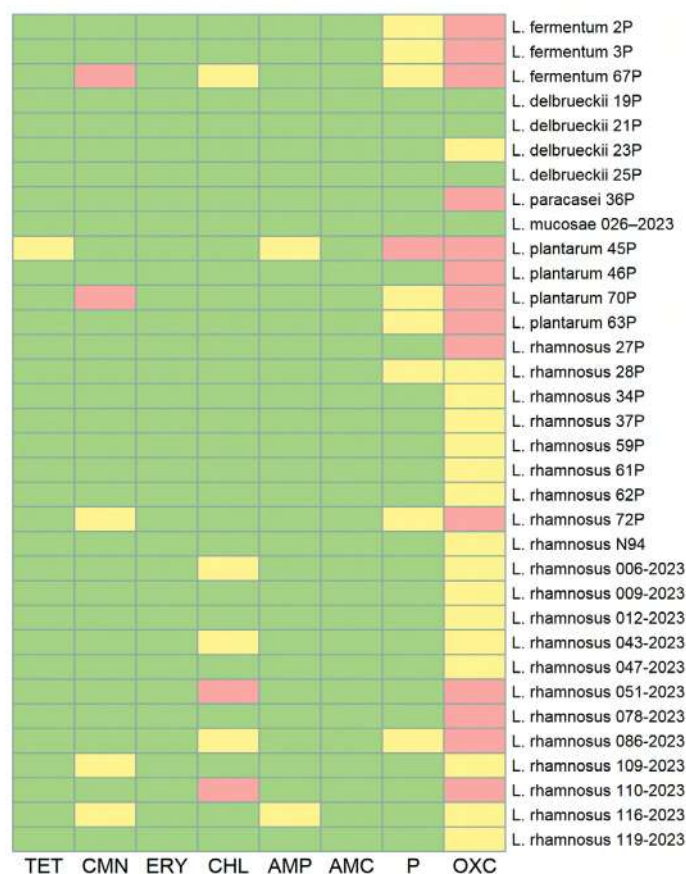


РИС. 1.

Чувствительность штаммов лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа детей и подростков Иркутской области, к АМП. TET – тетрациклин, CMN – клиндамицин, ERY – эритромицин, CHL – хлорамфеникол, AMP – ампициллин, AMC – амоксициллин, P – пенициллин G, OXC – оксациллин. Зелёным цветом обозначены чувствительные штаммы, жёлтым — чувствительные при увеличенной экспозиции, красным — устойчивые штаммы.

FIG. 1.

Susceptibility of lactobacilli strains isolated from the intestinal biotope of children and adolescents in the Irkutsk region to AMs. TET – tetracycline, CMN – clindamycin, ERY – erythromycin, CHL – chloramphenicol, AMP – ampicillin, AMC – amoxicillin, P – penicillin G, OXC – oxacillin. Susceptible strains are indicated in green, susceptible to increased exposure are indicated in yellow, and resistant strains are indicated in red.

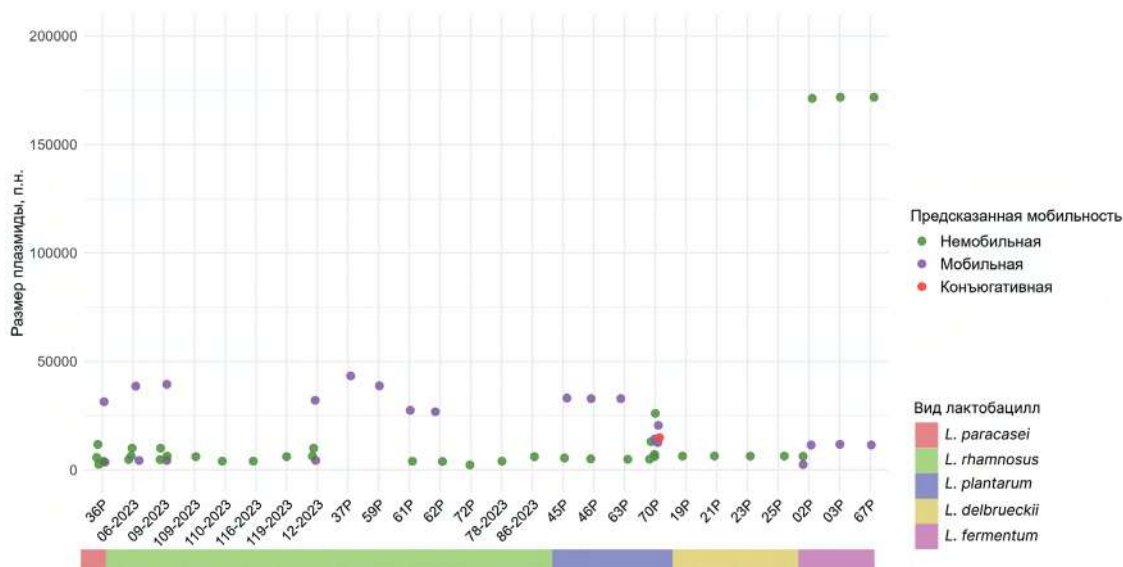


РИС. 2.

Характеристика размера и предсказанной мобильности плазмид штаммов лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа детей и подростков Иркутской области

FIG. 2.

Characteristic of the size and predicted mobility of plasmids in lactobacilli strains isolated from the intestinal biotope of children and adolescents in the Irkutsk region

содержали только немобильные плазмиды, тогда как остальные обладали либо только мобильными плазмидами (37Р, 59Р), либо сочетали оба типа плазмид (06-2023, 09-2023, 12-2023, 61Р, 62Р). Штаммы вида *L. plantarum* содержали по одной мобильной и одной немобильной плазмиде, за исключением штамма 70Р, в геноме которого детектировано шесть немобильных, три мобильных и одна конъюгативная плазмиды. Все штаммы вида *L. fermentum* имели как мобильные, так и немобильные плазмиды. Штаммы вида *L. delbrueckii* содержали в геноме только плазмиды не способные к межклеточному переносу. В геноме штамма вида *L. paracasei* было обнаружено четыре немобильных и две мобильных плазмиды.

Несмотря на то, что все исследуемые штаммы лактобацилл не содержали генов устойчивости к АМП и вирулентности, в геномах значительной части штаммов обнаружены последовательности мобильных плазмид, имеющих потенциал к передаче генетического материала. Плазмиды лактобацилл часто кодируют гены, определяющие адаптивные свойства, например, устойчивость к тяжелым металлам [11]. В условиях сложной системы кишечного микробиоценоза возможный перенос адаптивных генов к комменсальным или условно-патогенным микроорганизмам может давать им конкурентное преимущество. Это, в свою очередь, может стать причиной изменений качественного и количественного состава микробиоты кишечника. Поэтому на данном этапе скрининга наличие мобильных плазмид следует рассматривать как нежелательный признак.

Также следует отметить, что обилие мобильных генетических элементов может указывать как на генетическую пластичность, так и на нестабильность генома. Штаммы лактобацилл при длительном культивировании в условиях, имитирующих условия желудочно-кишечного тракта, могут терять плазмиды, что может негативно сказываться на воспроизводимости пробиотического эффекта [22]. Поэтому в данной работе мы рассматриваем отсутствие мобильных и конъюгативных плазмид не только как критерий безопасности, но и как маркер стабильности генома и свойств штаммов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предложенный алгоритм отбора штаммов лактобацилл, включающий оценку фенотипической чувствительности к АМП, скрининг генома на наличие генов устойчивости к АМП, вирулентности и мобильных плазмидных элементов, позволяет отбирать безопасные штаммы для дальнейшего конструирования пробиотических консорциумов. По результатам отбора в качестве перспективных кандидатов для формирования пробиотических консорциумов отобраны штаммы видов *L. mucosae* (026-2023), *L. rhamnosus* (27Р, 28Р, 34Р, 72Р, N94, 043-2023, 047-2023, 051-2023, 078-2023, 086-2023, 109-2023, 110-2023, 116-2023, 119-2023), *L. delbrueckii* (19Р, 21Р, 23Р, 25Р). Для подтверждения

биологической безопасности штаммов видов *L. plantarum* и *L. fermentum* необходимо провести подробный анализ мобильных плазмид, включающий функциональную аннотацию генов, картирование IS-элементов и транспозонов, а также оценку систем стабильности плазмид.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение пробиотического потенциала отобранных штаммов *in vitro* и их совместимости в условиях консорциума.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственной темы № 125011600372-4.

Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 625913. doi: 10.3389/fcimb.2021.625913
2. Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Погодина А.В., Рычкова Л.В., Даренская М.А. Коморбидность функциональных расстройств кишечника и ожирения с точки зрения микробиома. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 56-66. [Klimenko ES, Belkova NL, Pogodina AV, Rychkova L, Darenskaya MA. Comorbidity of functional bowel disorders and obesity in terms of microbiome. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 56-66. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.6
3. Маев И.В., Лямина С.В. Кишечная микробиота: новые возможности диагностики и лечения. *Клиническая медицина*. 2024; 102(4): 297-308. [Maev IV, Lyamina SV. Gut microbiome: new diagnostic and treatment options. *Klinicheskaya meditsina*. 2023; 102(4): 297-308. (In Russ.)]. doi: 10.30629/0023-2149-2024-102-4-297-308
4. Савинова Ю.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. История, современные направления и перспективы развития про- и пребиотических препаратов в России и за рубежом. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 211-227. [Savinova YuS, Belkova NL, Semenova NV, Rychkova LV. History, current trends and prospects for the development of pro- and prebiotic drugs in Russia and abroad. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 211-227. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.23
5. Shah AB, Baiseitova A, Zahoor M, Ahmad I, Ikram M, Bakhsh A, et al. Probiotic significance of *Lactobacillus* strains: a comprehensive review on health impacts, research gaps, and future prospects. *Gut Microbes*. 2024; 16(1): 2431643. doi: 10.1080/19490976.2024.2431643

6. Klimenko E, Belkova N, Gorkavenko A, Smurova N, Zugeeva R, Morozova A, et al. *Lactobacillus paragasseri* Ig94 With High L-Lactic Acid Production and Probiotic Potential. *Front. Biosci.* 2026; 18(2): 47162. doi: 10.31083/FBE47162
7. Araya M, Morelli L, Reid G, Sanders M, Stanton C, Pineiro M, et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. *World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations.* 2002; 35–45.
8. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010; 60. [The system of pre-registration preclinical study of drug safety. *Selection, verification and storage of production strains used in the production of probiotics: Methodological guidelines.* – М.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2010; 60. (In Russ.)].
9. Кишилова С.А., Леонова В.А., Митрова В.А., Рожкова И.В. Современные биотехнологические решения в области использования молочнокислых бактерий для молочной промышленности: от селекции штаммов до пробиотических продуктов. *Техника и технология пищевых производств.* 2025; 55(3): 624–633. [Kishilova SA, Leonova VA, Mitrova VA, Rozhkova IV. Advanced Biotechnological Solutions for Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry: From Strain Selection to Probiotic Products. *Food Processing: Techniques and Technology.* 2025; 55(3): 624–633. (In Russ.)]. doi: 10.21603/2074-9414-2025-3-2596
10. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2011; 104. [Methodological guidelines for the sanitary and epidemiological assessment of the safety and functional potential of probiotic microorganisms used for food production: *Methodological guidelines.* – М.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor. 2011; 104. (In Russ.)].
11. Davray D, Deo D, Kulkarni R. Plasmids encode niche-specific traits in *Lactobacillaceae*. *Microbial Genomics.* 2021; 7(3): 000472. doi: 10.1099/mgen.000472
12. Smurova NE, Gorkavenko AS, Zugeeva RE, Belkova NL, Chemezova NN, Kondratov IG, et al. Analysis of Antibiotic Susceptibility of *Lactobacillus* Strains Isolated from Adolescent Gut Microbiota. *Bull Exp Biol Med.* 2026; 180: 618–621. doi: 10.1007/s10517-026-06687-w
13. Kondratov IG, Ogarkov OB, Sinkov VV, Suzdalnitsky AE, Koshcheyev ME, Orlova EA, et al. Prediction of metabolic profile and virulence factors of facultative-anaerobic bacteria from tuberculous necrosis foci based on whole-genome sequencing data. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2025; 179: 446–449. doi: 10.1007/s10517-025-06508-6
14. Andrews SA. *Quality Control tool for High Throughput Sequence Data.* <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> [date of access: July 07, 2026].
15. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014; 30(15): 2114–2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170
16. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology.* 2012; 19(5): 455–477. doi: 10.1089/cmb.2012.0021
17. Mikheenko A, Prijibelski A, Saveliev V, Antipov D, Gurevich A. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics.* 2018; 34(13): i142–i150. doi: 10.1093/bioinformatics/bty266
18. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics.* 2014; 30(14): 2068–2069. doi: 10.1093/bioinformatics/btu153
19. Rodriguez-R LM, Gunturu S, Harvey WT, Rosselló-Mora R, Tiedje JM, Cole JR, et al. The Microbial Genomes Atlas (MiGA) webserver: taxonomic and gene diversity analysis of Archaea and Bacteria at the whole genome level. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(W1): W282–W288. doi: 10.1093/nar/gky467
20. Seemann T. *ABRicate: mass screening of contigs for antibiotic resistance genes.* <https://github.com/tseemann/abricate/> [date of access: July 07, 2026].
21. Robertson J, Nash JHE. MOB-suite: software tools for clustering, reconstruction and typing of plasmids from draft assemblies. *Microbial genomics.* 2018; 4(8): e000206. doi: 10.1099/mgen.0.000206
22. Sağlam H, Karahan AG. Plasmid stability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains in artificial gastric juice, at elevated temperature, and in the presence of novobiocin and acriflavine. *Arch Microbiol.* 2021; 203(1): 183–191. doi: 10.1007/s00203-020-02017-4

Сведения об авторах

Зугеева Раиса Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: raya.zugeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8522-7359>

Смурова Надежда Евгеньевна – лаборант-исследователь лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: nadinasmurova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>

Горкавенко Анна Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: annapend@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0398-4598>

Клименко Елизавета Станиславовна – младший научный сотрудник функциональной группы геномных исследований и биоинформационного анализа, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Семёнова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, директор ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Information about the authors

Raisa E. Zugeeva – junior researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: raya.zugeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8522-7359>

Nadezhda E. Smurova – laboratory assistant-researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: nadinasurova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>

Anna S. Gorkavenko – junior researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: annapend@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0398-4598>

Elizaveta S. Klimenko – junior researcher at the Functional Group of Genomic Research and Bioinformatics analysis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), assoc. prof., leading research at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), professor of the RAS, chief researcher at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), corresponding member of the RAS, professor, Director of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ VIII-ТУБУЛИНА В ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦАХ ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ПОЛА ПРИ СТАРЕНИИ

Мальков А.А.^{1,2},
Прощина А.Е.¹,
Кривова Ю.С.¹,
Харламова А.С.¹,
Годовалова О.С.¹,
Гулимова В.И.¹,
Бучака А.С.¹,
Сонин Г.А.¹,
Грушецкая Е.О.¹,
Савельев С.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского» (117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3, Россия)

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мальков Артем Александрович
e-mail: i@aamalkov.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Многочисленные исследования связывают нарушения обоняния с ускоренным снижением когнитивных функций при нейродегенеративных заболеваниях, однако механизм участия в этих процессах первичного обонятельного центра, обонятельной луковицы, остается неясным. β III-тубулин является одним из наиболее часто применяемых нейрональных маркеров, но данные о его распределении в обонятельной луковице ограничены.

Цель работы. Провести анализ распределения β III-тубулина в обонятельных луковицах мужчин и женщин при старении.

Методы. Исследование выполнено на аутопсийном материале. Обонятельные луковицы получены от 10 мужчин и 14 женщин пожилого (60–74 года, $n = 11$) и старческого (75–89 лет, $n = 13$) возрастов. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ниссля и по Маллори для цитоархитектонического анализа. Иммуногистохимический анализ проводили с использованием первичных антител к нейронспецифическому β III-тубулину. Выполняли морфометрический и статистический анализ.

Результаты. Иммуногистохимическая реакция на β III-тубулин выявлена в основном в слое вхождения волокон обонятельного нерва и в клубочковом слое. Были выявлены половые различия: обнаружено значимое ($p = 0,006$) преобладание площади реакции на β III-тубулин на срезах обонятельных луковиц, полученных от женщин. Это совпадает с результатами исследований, показывающих, что у женщин в обонятельных луковицах почти в два раза больше нейронов, а способность к распознаванию запахов, как правило, лучше, чем у мужчин. Несмотря на тенденцию к уменьшению уровня β III-тубулина с возрастом, статистически значимых отличий не выявлено.

Заключение. Исследование выявило половую и возрастную изменчивость в распределении β III-тубулина в обонятельной луковице человека. Поэтому необходим обязательный учет этих факторов при проведении функциональной диагностики обоняния.

Ключевые слова: обонятельная луковица, клубочковый слой, β III-тубулин, старение, половая изменчивость

Статья поступила: 24.03.2026
Статья принята: 13.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Мальков А.А., Прощина А.Е., Кривова Ю.С., Харламова А.С., Годовалова О.С., Гулимова В.И., Бучака А.С., Сонин Г.А., Грушецкая Е.О., Савельев С.В. Распределение β III-тубулина в обонятельных луковицах людей разного пола при старении. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 126-135. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.13

BIII-TUBULIN DISTRIBUTION IN THE HUMAN OLFACTORY BULB: EFFECTS OF AGING AND SEX

Malkov A.A.^{1,2},
Proshchina A.E.¹,
Krivova Yu.S.¹,
Kharlamova A.S.¹,
Godovalova O.S.¹,
Gulimova V.I.¹,
Buchaka A.S.¹,
Sonin G.A.¹,
Grushetskaya E.O.¹,
Saveliev S.V.¹

¹ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Center of Surgery (Tsyurupa str., 3, Moscow 117418, Russian Federation)

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Trubetskaya str., 8-2, Moscow 119048, Russian Federation)

Corresponding author:
Artyom A. Malkov
e-mail: i@aamalkov.ru

ABSTRACT

Background. Numerous studies link olfactory impairment to accelerated cognitive decline in neurodegenerative diseases, yet the mechanism by which the olfactory bulb participates in these processes remains unclear. β III-tubulin is one of the most commonly used neuronal markers, but data on its distribution in the olfactory bulb are limited.

Aim. To analyze the distribution of β III-tubulin in the olfactory bulbs of men and women during aging.

Methods. The study was performed on autopsy material. Olfactory bulbs were obtained from 10 men and 14 women of elderly (60–74 years, $n = 11$) and senile (75–89 years $n = 13$) ages. Histological sections were stained with hematoxylin and eosin, Nissl stain, and Mallory's trichrome for cytoarchitectonic analysis. Immunohistochemical analysis was performed using primary antibodies against neuron-specific β III-tubulin. Morphometric and statistical analyses were carried out.

Results. β III-tubulin immunoreactivity was mainly detected in the olfactory nerve fiber layer and the glomerular layer. Analysis of sex differences revealed a significant ($p = 0.006$) predominance of the β III-tubulin reaction area in olfactory bulb sections obtained from women. This aligns with research findings showing that women have nearly twice as many neurons in their olfactory bulbs and typically exhibit better odor identification ability compared to men. Despite a trend towards a decrease in β III-tubulin levels with age, no statistically significant differences were found.

Conclusion. The study revealed sex- and age-related variability in the distribution of β III-tubulin in the human olfactory bulb. Therefore, these factors should be taken into account when performing functional olfactory diagnostics.

Keywords: olfactory bulb, glomerular layer, β III-tubulin, aging, sex-related variability

Received: 24.03.2026
Accepted: 13.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Malkov A.A., Proshchina A.E., Krivova Yu.S., Kharlamova A.S., Godovalova O.S., Gulimova V.I., Buchaka A.S., Sonin G.A., Grushetskaya E.O., Saveliev S.V. β III-tubulin distribution in the human olfactory bulb: effects of aging and sex. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 126-135. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.13

ОБОСНОВАНИЕ

Многочисленные исследования связывают нарушение обоняния с ускоренным когнитивным снижением при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе при болезни Альцгеймера (БА) и болезни Паркинсона (БП) [1–3]. БА и БП — социально-значимые заболевания, ассоциированные с возрастом. Большинство пациентов с БА (до двух третей) являются женщины, а БП диагностируется чаще у мужчин [4]. Важно отметить, что обе болезни в настоящее время неизлечимы. Однако при ранней диагностике развитие болезней можно замедлить, что критично для улучшения качества жизни пациентов и их близких.

В обонятельных луковицах (ОЛ) протекают первые этапы процесса обработки обонятельных стимулов, поскольку именно здесь аксоны рецепторных нейронов обонятельного эпителия взаимодействуют с более сложной функциональной сетью нейронов ОЛ. У человека ОЛ имеют четкую структурную организацию: в них выделяют 6 слоев [5]. Механизм участия этой части мозга в нейродегенеративных процессах остается неясным, а данные о половозрастных различиях в ОЛ ограничены.

ОЛ людей пожилого и старческого возраста, а также лиц с расстройствами обоняния часто демонстрируют отклонения от нормальной морфологической структуры: наблюдается прогрессирующее с возрастом уменьшение количества клубочков и митральных клеток, что влияет на толщину клубочкового слоя [6–9]. Было обнаружено, что количество митральных клеток снижается с возрастом примерно на 10 % за десятилетие. В ОЛ долгожителей (> 90 лет) обнаруживается менее 30 % от ожидаемого количества клубочков и митральных клеток [7]. Толщина слоев ОЛ также уменьшается с возрастом [9]. Большинство ранних исследований проведено с применением только методов гистологического окрашивания и требует уточнения на современном методическом уровне.

В актуальных работах ОЛ изучаются преимущественно в связи с развитием нейродегенеративных заболеваний. Одним из патологоанатомических признаков БА являются нейрофибриллярные клубки, которые часто обнаруживаются в структурах головного мозга, связанных с обонятельной функцией: в ОЛ, обонятельном тракте, энторинальной коре, переднем обонятельном ядре и миндалевидном теле. Количество нейрофибриллярных клубков в этих областях коррелирует с тяжестью деменции [1]. Есть также данные о том, что обонятельные центры являются одной из первых мишеней амилоидного перерождения в переднем мозге [10]. Целый ряд исследований связывает развитие нейродегенеративных заболеваний с нарушением формирования микротрубочек [11]. Белок микротрубочек β III-тубулин — это ключевой маркер развивающихся и зрелых нейронов в нервной системе, включая ОЛ. Его обнаружение говорит о нейронной дифференцировке и используется для идентификации новых, молодых и развивающихся нейронов в ОЛ на животных

моделях [12]. Роль тубулина в развитии деменции активно изучается. Предполагается, что снижение уровня или функциональности этого белка — один из ключевых механизмов, ведущих к гибели нейронов и потере памяти [13]. В недавнем исследовании подтверждено значительное снижение экспрессии генов, кодирующих специфические формы β -тубулина в мозге пациентов с БА. Это снижение коррелирует с формированием нейрофибриллярных клубков и результатами когнитивных тестов [14]. Показано, что тубулин играет активную защитную роль, предотвращая образование агрегатов белков тау и альфа-синуклеина. Считается, что при старении в отсутствие нейродегенеративных заболеваний уровень тубулина в клетках головного мозга сохраняется. Исследования на животных моделях (мыши) показывают, что содержание тубулина и скорость его синтеза остаются стабильными у старых особей [15, 16]. Тем не менее, данные о распределении β III-тубулина в головном мозге и, в частности, в ОЛ человека, при старении в отсутствие нейродегенеративных заболеваний ограничены.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью работы было провести анализ распределения нейронального маркера β III-тубулина в обонятельных луковицах людей разного пола при старении.

МЕТОДЫ

Настоящее исследование выполнено на аутопсийном материале из коллекции лаборатории развития нервной системы научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского». Материал был собран в 2007–2008 гг. Все процедуры, связанные со сбором и использованием биологических образцов, осуществлялись в строгом соответствии с действовавшими на момент сбора материала требованиями российского законодательства и Хельсинкской декларации, а также одобрены этическим комитетом (протокол No 3А от 17.01.2006 г.). Возможность проведения исследований на материале коллекции была повторно одобрена локальным этическим комитетом Института морфологии человека (протокол № 33 (9) от 7 февраля 2022 г.).

Всего было исследовано 24 ОЛ, полученных от 10 мужчин и 14 женщин пожилого (60–74 года, $n = 11$) и старческого (75–89 лет, $n = 13$) возрастов, при жизни не страдавших от нейродегенеративных заболеваний (табл. 1).

Фрагменты нижней части переднего мозга, содержащие ОЛ, были зафиксированы методом погружения в 10 % нейтральный забуференный формалин (рН 7,0–7,4). Правые ОЛ отделяли, проводили дегидратацию в спиртах возрастающей концентрации и последующую отмывку в диоксане. Затем их целиком заливали

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ОБРАЗЦОВ

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF THE SAMPLES

Порядковый номер	Возраст, лет	Причина смерти	Пол, м/ж
1	60	постгеморрагическая анемия, кровотечение из вен пищевода, мелкоузловой цирроз печени	ж
2	60	острая сердечно-сосудистая недостаточность, острый трансмуральный инфаркт миокарда	ж
3	68	разрыв хронической аневризмы сердца	м
4	68	атеросклеротическая гангрена нижней конечности, острый инфаркт миокарда	м
5	69	ревматический стеноз митрального клапана с тромбоэмболическим синдромом	ж
6	69	сердечно-сосудистая недостаточность, мелкоочаговый диффузный кардиосклероз	м
7	70	рак прямой кишки с метастазами, раковая интоксикация	ж
8	70	отек головного мозга, ишемический инфаркт головного мозга	ж
9	70	рак желудка с метастазами, раковая интоксикация, ишемический инфаркт головного мозга	ж
10	71	рак прямой кишки, раковая интоксикация	м
11	73	печеночно-почечная недостаточность, мелкоузловой цирроз печени	ж
12	75	острая сердечно-сосудистая недостаточность, повторный инфаркт миокарда	м
13	75	внутрибрюшинное кровотечение из некротизированного узла печени, микро-макроузловой цирроз печени	м
14	75	гнойная интоксикация, абседирующая пневмония	ж
15	76	отек головного мозга, смешанный инфаркт головного мозга	ж
16	77	отек головного мозга, опухоль мозжечка с распадом	м
17	78	отек головного мозга, постинфарктная киста головного мозга	ж
18	78	отек головного мозга, геморрагический инфаркт головного мозга	ж
19	78	отек головного мозга, ишемический инфаркт головного мозга	ж
20	78	отек головного мозга, ишемический инфаркт головного мозга	м
21	79	лейкозная интоксикация, хронический лимфолейкоз	м
22	79	сердечнососудистая недостаточность, повторный инфаркт миокарда	ж
23	79	рецидивирующая тромбоэмболия легочной артерии, мелкоочаговый кардиосклероз	ж
24	81	отек головного мозга, правосторонняя нижнедолевая пневмония	м

в парафин и получали фронтальные серийные срезы толщиной 5 и 10 мкм. Срезы монтировали на предметные стекла. Для обзорных целей срезы из средней части луковицы окрашивали гистологическими методами: крезиловым фиолетовым по Ниссля, гематоксилином и эозином и по Маллори.

Иммуногистохимический анализ проводили с использованием первичных антител к нейронспецифическому βIII-тубулину (Abcam, Великобритания) в разведении 1:200. Окраска препаратов проводилась в соответствии с предварительно отработанным протоколом на тестовых срезах.

Для иммуногистохимического исследования срезы депарафинизировали, регидратировали, для демаскирования антигенов обрабатывали кипячением в цитратном буфере (pH 6,0; DiaGene, Россия) в течение 10 минут и инкубировали с первичными антителами,

разведенными в 0,01 М фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,3–7,5; Biolog, Санкт-Петербург, Россия) в течение двух часов при температуре 37°C. Визуализацию проводили с использованием системы детекции Histofine (Nichirei, Япония) согласно рекомендациям производителя.

В качестве негативного контроля во всех случаях использовали реакции с заменой первичных антител на PBS (0,01 М фосфатный буфер pH 7,3–7,5). Во всех контрольных срезах неспецифическое окрашивание отсутствовало.

В целом, при разработке протокола мы ориентировались на уже описанные ИГХ протоколы окраски ОЛ антителами к βIII-тубулину [17].

Препараты анализировали на полноразмерных цифровых изображениях после сканирования на модифицированном комплексе МЕКОС-Ц2 на базе

микроскопа Axiolmager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении объектива 20× и гистосканере KF-Pro-120 (KF-Bio, Китай). Морфометрический анализ выполняли в программе ImageJ 1.54r (NIH). Для морфометрического анализа распределения β III-тубулина измеряли площадь иммуногистохимической реакции относительно площади всего среза: за позитивную реакцию принимали все окрашенные пиксели в диапазоне от 100 до 256 (256 градаций яркости 8-битного изображения, где 0 – белый, 255 – черный), что позволяло вычесть фоновое окрашивание.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10 (Statsoft, Inc.) с применением непараметрических методов, что было обусловлено маленькой выборкой и различным числом наблюдений в группах (данные не были распределены нормальным образом). Для сравнения двух независимых групп использовали метод Манна – Уитни, при комплексном анализе половозрастных отличий применяли метод Краскела – Уоллиса ANOVA с последующей поправкой на множественные сравнения. Результаты представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3). Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$. Для оценки величины эффекта использовали рангово-бисериальный коэффициент корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ цитоархитектоники обонятельных лукович показал их типичное строение – наличие шести слоев (рис. 1А). Реакция на β III-тубулин выявлена в основном в слое вхождения волокон обонятельного нерва и в клубочковом слое (рис. 1Б, В), при этом специфическое окрашивание наблюдалось непосредственно в нервных волокнах и мелких клетках в клубочках. Только в одном из исследованных образцов слабая реакция была обнаружена в гранулярном слое.

Между образцами обнаружена большая изменчивость как в интенсивности иммуногистохимической реакции, так и в размерах и количестве клубочков. Множественное сравнение выявило значимые различия в реакции на β III-тубулин только между группами пожилых женщин и мужчин старческого возраста ($p = 0,01$). При этом обнаружена тенденция к уменьшению площади реакции на нейронспецифический тубулин как при старении, так и в зависимости от пола (рис. 1Г). Чтобы оценить вклад этих факторов по отдельности был проведен дополнительный анализ.

При старении была выявлена тенденция к снижению площади реакции. Вклад принадлежности к возрастной группе пациентов оказался на грани статистической значимости $p = 0,055$, и характеризовался средним эффектом ($r = 0,39$) (рис. 1Д).

При анализе половых различий было выявлено статистически значимое ($p = 0,006$) преобладание площади реакции на β III-тубулин на срезах ОЛ, полученных от женщин (рис. 1Е). Стоит заметить, что вклад эффекта

этого параметра, в отличие от предыдущего, был большим ($r = 0,56$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В целом ряде работ показано, что в пожилом и старческом возрасте происходит ухудшение обоняния. Возраст является самым значимым фактором, влияющим на снижение обоняния у здоровых взрослых людей, и оказывает гораздо большее влияние, чем курение [2]. В возрасте от 65 до 80 лет обоняние резко ухудшается, и около половины пациентов жалуется на его потерю. После 80 лет проблемы с обонянием отмечают 75 % пожилых людей. Со старением также связано уменьшение объема обонятельных лукович на 13–15 %; уменьшение обонятельных волокон на 1 % в год и уменьшение количества и диаметра клубочков примерно на 10 % в десятилетие [1, 18]. Помимо этого, с возрастом, в областях, связанных с обонянием, появляются изменения, характерные для БА (образуются нейрофибриллярные клубки и сенильные бляшки) [9]. Эти изменения также могут способствовать возрастной потере обоняния. Таким образом, мы считаем, что обнаруженная нами тенденция к снижению уровня β III-тубулина при старении соответствует данным литературы о дегенеративных изменениях в ОЛ с возрастом и маскируется в нашем исследовании небольшим объемом выборки.

При этом ОЛ — одна из немногих зон мозга взрослых млекопитающих, где постоянно образуются новые нейроны. β III-тубулин является важным индикатором нейрогенеза [12]. Согласно исследованию, проведенному на ОЛ взрослых людей в возрасте от 19 до 69 лет, реакция на β III-тубулин обнаруживается в дифференцирующихся клетках в двух основных слоях, где происходит образование новых нейронов (нейрогенез), показанное на животных моделях [17]. Это гранулярный и клубочковый слои. В клубочковом слое при помощи этого маркера в основном выявлялись периклубочковые интернейроны. Эти клетки часто также содержали глутаматдекарбоксилазу (ГАМК-ергические нейроны) или тирозингидроксилазу (дофаминергические нейроны). В гранулярном слое меченые нейроны были зернистыми клетками, которые также являются интернейронами и часто имеют ГАМК-ергический фенотип. В этом исследовании авторы рассматривали β III-тубулин как маркер ранней дифференцировки нейронов. Вместе с ним в клетках обнаруживались маркеры пролиферации (Ki-67), что подтверждало гипотезу о возможности нейрогенеза в ОЛ взрослых людей. В других слоях реакция на β III-тубулин отсутствовала. Эти слои не рассматриваются также как зоны взрослого нейрогенеза и на животных моделях.

В проведенном нами исследовании четкая реакция на β III-тубулин была выявлена в слое вхождения обонятельных волокон и в клубочках. Мы полагаем, что β III-тубулин + структуры были преимущественно аксонами нейронов обонятельного эпителия, которые,

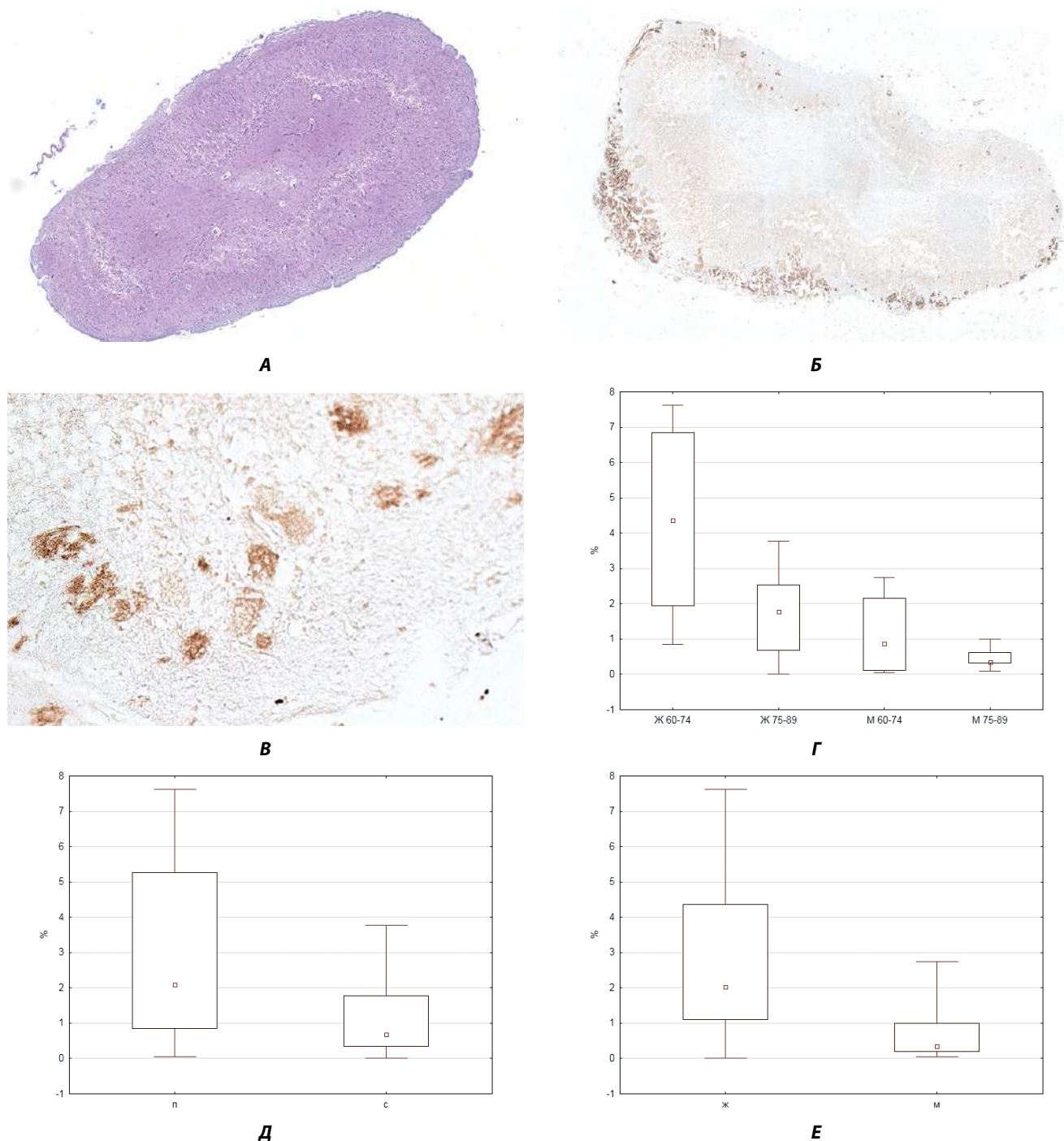


РИС. 1.

А, Б – обзорные микрофотографии обонятельных луковиц человека. Видна слоистая структура луковиц: А – окрашивание по Маллори (видна слоистая структура обонятельной луковицы), женщина, 78 лет; Б – иммуногистохимическая реакция на βIII-тубулин, женщина, 69 лет; В – увеличенный фрагмент скана, иммуногистохимическая реакция на βIII-тубулин в клубочках, женщина, 60 лет; Г, Д, Е – диаграммы, показывающие процентное соотношение площади позитивной иммуногистохимической реакции на βIII-тубулин к площади среза: Г – у женщин пожилого (Ж 60–74) и старческого (Ж 75–89) возрастов и мужчин пожилого (М 60–74) и старческого (М 75–89) возрастов; Д – у людей пожилого (п) и старческого (с) возраста без учета пола; Е – у женщин (ж) и мужчин (м) в возрасте после 60 лет.

FIG. 1.

А, Б – overview photomicrographs of the human olfactory bulbs. The layered structure of the bulbs is visible: А – Mallory stain, female, 78 years; Б – immunohistochemical reaction for βIII-tubulin, female, 69 years; В – enlarged scan fragment showing immunohistochemical reaction for βIII-tubulin in the glomeruli, female, 60 years; Г, Д, Е – diagrams showing the percentage ratio of the area with positive immunohistochemical reaction for βIII-tubulin relative to the section area: Г – in elderly females (F 60–74) and senile females (F 75–89), and elderly males (M 60–74) and senile males (M 75–89); Д – in elderly (e) and senile (s) individuals, regardless of sex; Е – in females (f) and males (m) aged over 60 years.

как известно, обладают уникальной способностью к обновлению в течение всей жизни [2, 19, 20]. Продолжительность жизни обонятельных рецепторных клеток составляет 30–60 дней. Поврежденные обонятельные рецепторные клетки заменяются новыми, дифференцирующимися из базальных стволовых клеток. Однако не все рецепторные клетки могут быть заменены в течение жизни, что приводит к ухудшению обоняния с возрастом [1, 21]. В гранулярном слое нами была выявлена положительная реакция на β III-тубулин только в одном образце. Это отличается от данных, полученных ранее Bédard A и Parent A [17]. Возможно, это связано с тем, что средний возраст в исследованной нами выборке был больше, чем в приведенном выше исследовании. Еще одним объяснением может служить разница в примененных антителах. С другой стороны, в целом ряде работ показано, что в отличие от других млекопитающих, нейрогенез непосредственно в ОЛ человека не доказан, несмотря на некоторые косвенные свидетельства его существования [2, 18].

В результате нашего исследования также впервые показано, что у женщин площадь реакции на β III-тубулин в ОЛ была статистически значимо выше, чем у мужчин (в среднем превышала в 2 раза). Ключевое исследование [18], касающееся этого вопроса, обнаружило фундаментальные различия в ОЛ мужчин и женщин. В ходе этого исследования проведен количественный анализ клеточного состава ОЛ женщин после завершения репродуктивного периода (в возрасте более 55 лет), который выявил, что общее количество клеток нервной ткани, как нейронов, так и глиальных клеток, у женщин выше, чем у мужчин. Показано, что у женщин в ОЛ почти в два раза больше нейронов. Поскольку нейроны — основные клетки, экспрессирующие β III-тубулин, ожидаемо, что и общая реакция на этот маркер будет выше у женщин, что было подтверждено в проведенной нами работе. Тем не менее, как уже было указано выше, мы считаем, что в первую очередь реакция на β III-тубулин была нами обнаружена не в нейронах самой ОЛ, а в отростках сенсорных нейронов обонятельного эпителия. К сожалению, точных данных о количественных половых различиях в строении обонятельного эпителия в доступных источниках литературы нам обнаружить не удалось, однако данные о различиях в восприятии ольфакторных сигналов между мужчинами и женщинами находят постоянное подтверждение [22].

По данным литературы, пик остроты обоняния у обоих полов приходится на четвертый десяток лет, после чего она заметно снижается. Исследования, посвященные старению обонятельной системы человека, показали, что женщины во всех возрастных группах лучше распознают запахи, чем мужчины. Поскольку превосходство женщин в способности различать запахи сохраняется и после менопаузы, его биологическая обусловленность должна зависеть не только от гормонального фона [18]. Таким образом, ОЛ может быть местом обонятельной специализации у женщин, которая объясняет описанную выше увеличенную

способность различать запахи. Однако неизвестно, является ли большее количество клеток в ОЛ женщин врожденным или приобретенным в постнатальном периоде. Более того, известно, что гипосмия является продромальным симптомом, а мужской пол — фактором риска, повышающим вероятность развития БП. ОЛ часто упоминается как место, где в первую очередь проявляется α -синуклеинопатия. В недавнем исследовании в ОЛ показано усиление нейродегенерации и микроглиоза у лиц мужского пола при болезни Паркинсона. Авторы этой работы предполагают, что ОЛ, с точки зрения коннектомики, являются фундаментальным «хабом» для поиска биомаркеров этого заболевания [23].

В современной литературе нарушение обоняния предлагают рассматривать как потенциальный инструмент когнитивного скрининга, а пациентам с длительной ольфакторной дисфункцией рекомендуется проходить соответствующую диагностику [24]. В целом, наши данные согласуются с результатами других авторов и подтверждают, что обонятельная функция зависит от пола [18, 25] и возраста [1, 2, 26], что требует обязательного учета этих факторов при проведении функционального тестирования. Однако необходимо отметить, что патогенез обонятельной дисфункции является мультифакторным: свой вклад помимо пола и возраста могут вносить генетические факторы, перенесенные заболевания (в том числе инфекционные), стиль жизни (включая питание, курение и т.д.), травматические повреждения и медицинские процедуры [27–29].

Поэтому одним из важнейших ограничений нашего исследования является принципиальная невозможность сбора полного анамнеза пациентов. Тем не менее, важно отметить, что сбор материала проходил до пандемии COVID-19, что, по крайней мере, убирает необходимость учитывать дополнительно и этот фактор, так как одним из ведущих признаков этого заболевания является длительное нарушение обонятельной функции. В связи с этим встает также вопрос о степени сохранности аутопсийного материала, однако показано, что белки цитоскелета сохраняют свою способность к иммуногистохимической реакции на протяжении более 55 лет [30]. Другим очевидным ограничением является относительно небольшая выборка, что является общей проблемой проведения морфологических исследований.

Тем не менее, несмотря на большую индивидуальную изменчивость, нам удалось получить новые данные о распределении β III-тубулина в ОЛ человека в зависимости от пола и возраста. При этом многие вопросы остаются без ответа. Среди них наиболее важным является, где проходит граница между изменениями обоняния, связанными со старением и полом, и изменениями, вызванными нейродегенеративными заболеваниями. Для прояснения этих вопросов необходимы дополнительные исследования, в том числе посвященные морфологическим особенностям ОЛ в норме и при развитии БА и БП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование распределения β III-тубулина подтвердило возрастную нейродегенерацию обонятельных лукович и выявило половую вариабельность их структуры. Это говорит о необходимости учета этих факторов в функциональной диагностике обоняния. Распределение β III-тубулина в обонятельной луковиче человека может являться индикатором морфологического субстрата для распознавания запахов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания FURG-2025-0031 с использованием благотворительного пожертвования ООО «Компания Хеликон».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dan X, Wechter N, Gray S, Mohanty JG, Croteau DL, Bohr VA. Olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev.* 2021; 70: 101416. doi: 10.1016/j.arr.2021.101416
2. Doty RL. Olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases: is there a common pathological substrate? *The Lancet Neurology.* 2017; 16(6): 478–488. doi: 10.1016/s1474-4422(17)30123-0
3. Морозова С.В., Савватеева Д.М. Обонятельные расстройства у пациентов с нейродегенеративными и психическими заболеваниями. *Русский медицинский журнал.* 2014; 9: 673. [Morozova SV, Savvateeva DM. Olfactory disorders in patients with neurodegenerative and mental diseases. *Russian Medical Journal.* 2014; 9: 673 (In Russ.)].
4. Mak E, Fought AJ, Wiste HJ, Przybelski SA, Reid RI, Schwarz CG, et al. Sex-Specific Associations of α -Synuclein Pathology with Tau Accumulation. *JAMA Netw Open.* 2026; 9(3): e260461. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2026.0461
5. Kharlamova AS, Godovalova OS, Otylga EG, Proshchina AE. Primary and secondary olfactory centres in human ontogeny. *Neurosci Res.* 2023; 190: 1–16. doi: 10.1016/j.neures.2022.12.005
6. Bhatnagar KP, Kennedy RC, Baron G, Greenberg RA. Number of mitral cells and the bulb volume in the aging human olfactory bulb: a quantitative morphological study. *Anat Rec.* 1987; 218(1): 73–87. doi: 10.1002/ar.1092180112
7. Meisami E, Mikhail L, Baim D, Bhatnagar KP. Human olfactory bulb: aging of glomeruli and mitral cells and a search for the accessory olfactory bulb. *Ann N Y Acad Sci.* 1998; 855: 708–715. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb10649.x
8. Sama-ul-Haq, Tahir M, Lone KP. Age and gender-related differences in mitral cells of olfactory bulb. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2008; 18(11): 669–673.
9. Kovács T. Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. *Ageing Res Rev.* 2004; 3(2): 215–232. doi: 10.1016/j.arr.2003.10.003
10. Son G, Jahanshahi A, Yoo SJ, Boonstra JT, Hopkins DA, Steinbusch HWM, et al. Olfactory neuropathology in Alzheimer's disease: a sign of ongoing neurodegeneration. *BMB Rep.* 2021; 54(6): 295–304. doi: 10.5483/BMBRep.2021.54.6.055
11. Shoff TA, Derbez-Morin M, Cai P, Julian RR. The microtubule nexus linking amyloid beta and tau: A simple and unifying theory for the underlying cause of Alzheimer's disease. *PNAS Nexus.* 2026; 5(3): pgag034. doi: 10.1093/pnasnexus/pgag034
12. Lee VM, Pixley SK. Age and differentiation-related differences in neuron-specific tubulin immunostaining of olfactory sensory neurons. *Brain Res Dev Brain Res.* 1994; 83(2): 209–215. doi: 10.1016/0165-3806(94)00139-1
13. Santiago-Mujika E, Luthi-Carter R, Giorgini F, Mukaetova-Ladinska EB. Tubulin Isotypes and Posttranslational Modifications in Vascular Dementia and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis Rep.* 2022; 6(1): 739–748. doi: 10.3233/ADR-220068
14. Lucas L, Tsoi PS, Quan MD, Choi KJ, Ferreon JC, Ferreon ACM. Tubulin transforms Tau and α -synuclein condensates from pathological to physiological. *Nat Commun.* 2026; 17(1): 3362. doi: 10.1038/s41467-026-69618-3
15. von Hungen K, Chin RC, Baxter CF. Brain tubulin microheterogeneity in the mouse during development and aging. *J Neurochem.* 1981; 37(2): 511–514. doi: 10.1111/j.1471-4159.1981.tb00485.x
16. Santiago-Mujika E, Luthi-Carter R, Giorgini F, Kalaria RN, Mukaetova-Ladinska EB. Tubulin and Tubulin Posttranslational Modifications in Alzheimer's disease and Vascular Dementia. *Front Aging Neurosci.* 2021; 13: 730107. doi: 10.3389/fnagi.2021.730107
17. Bédard A, Parent A. Evidence of newly generated neurons in the human olfactory bulb. *Brain Res Dev Brain Res.* 2004; 151(1–2): 159–168. doi: 10.1016/j.devbrainres.2004.03.021
18. Oliveira-Pinto AV, Santos RM, Coutinho RA, Oliveira LM, Santos GB, Alho AT, et al. Sexual dimorphism in the human olfactory bulb: females have more neurons and glial cells than males. *PLoS One.* 2014; 9(11): e111733. doi: 10.1371/journal.pone.0111733
19. Durante MA, Kurtenbach S, Sargi ZB, Harbour JW, Choi R, Kurtenbach S, et al. Single-cell analysis of olfactory neurogenesis and differentiation in adult humans. *Nat Neurosci.* 2020; 23(3): 323–326. doi: 10.1038/s41593-020-0587-9
20. Kunkhyen T, Brechbill TR, Berg SPR, Pothuri P, Rangel AN, Gupta A, et al. Cell type- and layer-specific plasticity of olfactory bulb interneurons following olfactory sensory neuron ablation. *Sci Rep.* 2024; 14(1): 17771. doi: 10.1038/s41598-024-68649-4
21. Fitzek M, Patel PK, Solomon PD, Lin B, Hummel T, Schwob JE, et al. Integrated age-related immunohistological changes occur in human olfactory epithelium and olfactory bulb. *J Comp Neurol.* 2022; 530(12): 2154–2175. doi: 10.1002/cne.25325

22. Sorokowski P, Karwowski M, Misiak M, Marczak MK, Dziekan M, Hummel T, et al. Sex Differences in Human Olfaction: A Meta-Analysis. *Front Psychol.* 2019; 10: 242. doi: 10.3389/fpsyg.2019.00242
23. Flores-Cuadrado A, Saiz-Sanchez D, Mohedano-Moriano A, Lamas-Cenfor E, Leon-Olmo V, Martinez-Marcos A, et al. Astroglial and sexually dimorphic neurodegeneration and microglial in the olfactory bulb in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.* 2021; 7(1): 11. doi: 10.1038/s41531-020-00154-7
24. Yeo BSY, Song HJMD, Tan BKJ, Suresh A, Ho OTW, Chan JH, et al. Olfactory Impairment and Incident Cognitive Decline: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2025; 15(12): 1347–1358. doi: 10.1002/alr.23635
25. Liu Q, Chen B, Wang Q, Xu D, Yang M, Lin G, et al. Sex differences in the relationship between olfactory and cognitive impairment among subjects with subjective cognitive decline and mild cognitive impairment. *Biol Sex Differ.* 2025; 16(1): 12. doi: 10.1186/s13293-025-00691-x
26. Kamath V, Senjem ML, Spychalla AJ, Chen H, Palta P, Mosley TH, et al. The Neuroanatomic Correlates of Olfactory Identification Impairment in Healthy Older Adults and in Persons with Mild Cognitive Impairment. *J Alzheimers Dis.* 2022; 89(1): 233–245. doi: 10.3233/JAD-220228
27. Fatuzzo I, Niccolini GF, Zoccali F, Cavalcanti L, Bellizzi MG, Riccardi G, et al. Neurons, Nose, and Neurodegenerative Diseases: Olfactory Function and Cognitive Impairment. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(3): 2117. doi: 10.3390/ijms24032117
28. Prem B, Liu DT, Boehme K, Maurer MT, Renner B, Mueller CA. Factors Associated with Persisting Olfactory Dysfunction After COVID-19. *Clin Otolaryngol.* 2025; 50(1): 53–61. doi: 10.1111/coa.14233
29. Knight JE, Yoneda T, Lewis NA, Muniz-Terrera G, Bennett DA, Piccinin AM. Transitions between Mild Cognitive Impairment, Dementia, and Mortality: The Importance of Olfaction. *J Gerontol a Biol Sci Med Sci.* 2023; 78(7): 1284–1291. doi: 10.1093/gerona/glad001
30. Grillo F, Bruzzone M, Pigozzi S, Prosapio S, Migliora P, Fiocca R, et al. Immunohistochemistry on old archival paraffin blocks: is there an expiry date? *J Clin Pathol.* 2017; 70(11): 988–993. doi: 10.1136/jclinpath-2017-204387

Сведения об авторах

Мальков Артем Александрович – лаборант-исследователь лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; студент 5 курса ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); e-mail: i@aamalkov.ru, <https://orcid.org/0009-0006-8047-7336>

Прошина Александра Евгеньевна – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: proshchina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0515-8275>

Кривова Юлия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: homulkina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9692-3616>

Харламова Анастасия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: grossulyar@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1163-4132>

Годовалова Ольга Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: asinello@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9285-7241>

Гулимова Виктория Игоревна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: gulimova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7997-8161>

Бучака Антон Сергеевич – исполняющий обязанности руководителя референс-центра инфекционной и вирусной онкопатологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: abpa062@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3580-1492>

Сонин Глеб Александрович – младший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: glebs0nin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6844-700X>

Грушецкая Евгения Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: 050101j@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-9196-4888>

Савельев Сергей Вячеславович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; e-mail: braincase@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6595-5305>

Information about the authors

Artyom A. Malkov – Laboratory Assistant, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; student of the 5th graduate year I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); e-mail i@aamalkov.ru, <https://orcid.org/0009-0006-8047-7336>

Alexandra E. Proshchina – Dr. Sci. (Biol.), assistant professor, leading researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: proshchina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0515-8275>

Yuliya S. Krivova – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: homulkina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9692-3616>

Anastasia S. Kharlamova – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: grossulyar@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1163-4132>

Olga S. Godovalova – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: asinello@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9285-7241>

Victoria I. Gulimova – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: gulimova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7997-8161>

Anton S. Buchaka – acting leader, Reference Center for Infectious and Viral Oncopathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: abpao62@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3580-1492>

Gleb A. Sonin – junior researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: glebs0nin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6844-700X>

Evgenia O. Grushetskaya – laboratory assistant, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: 050101j@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-9196-4888>

Sergey V. Saveliev – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research Centre of Surgery; e-mail: braincase@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6595-5305>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДОВ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ С УЧЁТОМ КОГНИТИВНОГО СТАТУСА

Агарков Н.М.^{1,2},
Павлов О.Г.³,
Яковлев А.П.⁴,
Иванов В.А.⁵,
Бахарева А.А.¹,
Федосеев И.М.¹

¹ ФГБОУ ВО «Юго-Западный
государственный университет»
(305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября,
д. 94, Россия)

² ФГАОУ ВО «Белгородский
государственный национальный
исследовательский университет»
(308015, г. Белгород, ул. Победы, д.85,
Россия)

³ ГБУЗ МО «Московский областной
НИИ акушерства и гинекологии имени
академика В.И. Краснопольского»
(101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а,
Россия).

⁴ ФГБОУ ВО «Орловский
государственный университет
им. И.С. Тургенева» (302026, г. Орел,
ул. Комсомольская, д. 95, Россия)

⁵ ФГБОУ ВО «Курский государственный
медицинский университет» (305041,
г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Агарков Николай Михайлович
e-mail: vitalaxen@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Для оптимизации диагностической и лечебной помощи пациентам важным является прогнозирование исходов черепно-мозговой травмы (ЧМТ) в зависимости от степени когнитивных нарушений, но последние редко используются в прогностических моделях.

Цель исследования. Разработка моделей прогнозирования исходов легкой и средней степени тяжести ЧМТ у пожилых пациентов с учетом когнитивного статуса.

Материал и методы. Обследовано 125 пациентов 60–74 лет на 8–9 и 20–21 сутки с легкой и средней степенью тяжести ЧМТ соответственно. Исходы ЧМТ классифицированы на 3 группы: 1 – способность пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия; 2 – настроение и межличностное взаимодействие; 3 – социальные контакты и работа. Когнитивные нарушения выявлялись по шкале Mini-Mental State Examination (MMSE). Для разработки прогностических моделей вышеуказанных исходов ЧМТ использована программа «Statistica 17.0» и регрессионный анализ.

Результаты. Установлены обратные слабые связи между легкой степенью тяжести ЧМТ и исходами ЧМТ. Однако ассоциация средней степени тяжести ЧМТ с исходами оказалась выше, чем для легкой ЧМТ, и особенно для участия в социальных контактах и работе ($r = -0,452$; $p < 0,01$), и для настроения и межличностного взаимодействия ($r = -0,406$; $p < 0,01$). С когнитивными нарушениями исходы ЧМТ во всех случаях имели прямую умеренную связь с коэффициентами корреляции от 0,339 до 0,372 ($p < 0,01$). Для прогнозирования способности пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия (y_4) с учетом балла когнитивных нарушений (x_4) создана скорректированная модель $y_4 = 7,389 - 1,724x_4$, для прогнозирования настроения и межличностного взаимодействия скорректированная модель $y_5 = 8,241 - 1,406x_5$, для прогнозирования участия пациентов в социальных контактах и работе скорректированная модель $y_6 = 7,895 - 1,469x_6$, где x_4 , x_5 и x_6 – балл когнитивных нарушений по шкале MMSE.

Заключение. Результаты показывают негативное влияние когнитивных нарушений на исходы ЧМТ, для прогнозирования которых разработаны прогностические модели.

Ключевые слова: пожилые, когнитивные нарушения, черепно-мозговая травма, исходы черепно-мозговой травмы, прогнозирование, прогностические модели, медицинская информатика

Статья поступила: 20.01.26
Статья принята: 24.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Агарков Н.М., Павлов О.Г., Яковлев А.П., Иванов В.А., Бахарева А.А., Федосеев И.М. Модели прогнозирования исходов черепно-мозговой травмы у пожилых людей с учётом когнитивного статуса. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 136-144. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.14

MODELS FOR PREDICTING TRAUMATIC BRAIN INJURY OUTCOMES IN THE OLDER PATIENTS, ACCOUNTING FOR COGNITIVE STATUS

Agarkov N.M.^{1,2},
Pavlov O.G.³,
Yakovlev A.P.⁴,
Ivanov V.A.⁵,
Bakhareva A.A.¹,
Fedoseyev I.M.¹

¹ Southwest State University (50 let Oktyabrya str., 94, Kursk 305040, Russian Federation)

² Belgorod State National Research University (Pobedy Str., 85, Belgorod 308015, Russian Federation)

³ Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology named after Academician V.I. Krasnopol'sky (Pokrovka, st. 22a, Moscow 101000, Russian Federation)

⁴ Oryol State University named after I.S. Turgenev (Komsomolskaya str., 95, Oryol 302026, Russian Federation)

⁵ Kursk State Medical University (Karl Marx Str., 3, Kursk 305041, Russian Federation)

Corresponding author:
Nikolai M. Agarkov
e-mail: vitalaxen@mail.ru

ABSTRACT

Introduction. Predicting the outcomes of traumatic brain injury (TBI) depending on the degree of cognitive impairment is important for optimizing diagnostic and therapeutic care, but cognitive impairments are rarely used in predictive models.

Aim. To develop models for predicting the outcomes of mild and moderate TBI in elderly patients, taking into account cognitive status.

Material and methods. A total of 125 patients aged 60–74 years with mild and moderate TBI were examined on days 8–9 and 20–21, respectively. TBI outcomes were classified into 3 groups: 1 – patients' ability to perform motor and sensory actions, 2 – mood and interpersonal interaction, 3 – social contacts and work. Cognitive impairments were detected using the Mini-Mental State Examination (MMSE). The Statistica 17.0 program and regression analysis were used to develop predictive models of the above-mentioned TBI outcomes.

Results. Weak inverse correlations between mild TBI severity and TBI outcomes were established. However, the association of moderate TBI severity with outcomes was higher than for mild TBI, especially for participation in social contacts and work ($r = -0.452$; $p < 0.01$) and for mood and interpersonal interaction ($r = -0.406$; $p < 0.01$). In all cases, the outcomes of TBI with cognitive impairments had a moderate positive correlation, with correlation coefficients from 0.339 to 0.372 ($p < 0.01$). To predict the ability of patients to perform motor and sensory actions (y_4), taking into account the score of cognitive impairment (x_4), an adjusted model $y_4 = 7,389 - 1,724x_4$ was created. To predict mood and interpersonal interaction, an adjusted model $y_5 = 8,241 - 1,406x_5$; to predict patient participation in social contacts and work, an adjusted model $y_6 = 7,895 - 1,469x_6$, where x_5 and x_6 are the scores of cognitive impairments on the MMSE scale.

Conclusion. The results show the negative impact of cognitive impairment on the outcomes of TBI, for the prediction of which prognostic models have been developed.

Keywords: older adults, cognitive impairment, traumatic brain injury, outcomes of traumatic brain injury, forecasting, prognostic models

Received: 20.01.26
Accepted: 24.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Agarkov N.M., Pavlov O.G., Yakovlev A.P., Ivanov V.A., Bakhareva A.A., Fedoseyev I.M. Models for predicting traumatic brain injury outcomes in the older patients, accounting for cognitive status. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 136-144. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.14

АКТУАЛЬНОСТЬ

Получение черепно-мозговой травмы (ЧМТ) взрослыми пациентами является довольно частой травмой и несет отдаленные последствия для адекватного функционирования головного мозга, причём на лёгкую ЧМТ приходится 85 % случаев. Большинство пациентов, перенёвших лёгкую ЧМТ, в течение первых недель после травмы жалуются на когнитивные (забывчивость и плохая концентрация внимания), эмоциональные (раздражительность и тревожность) и физические (головные боли и усталость) нарушения [1]. Хотя посттравматические жалобы обычно проходят в течение 3 месяцев после травмы, у части пациентов (20 %) они могут сохраняться значительно дольше [2]. Однако отдельные жалобы не являются специфичными и могут встречаться как у здоровых людей, так и в различных клинических группах [3]. Кроме того, ЧМТ средней степени тяжести редко анализируется исследователями, несмотря на то, что отдельные жалобы сохраняются в течение года, а когнитивные нарушения являются более выраженными [4]. Отбор пациентов, подверженных риску развития когнитивных нарушений после средней степени тяжести ЧМТ, имеет решающее значение для разработки оптимальной стратегии лечения и прогнозирования исходов [5, 6].

Жалобы, возникающие после ЧМТ, часто оцениваются с помощью опросников, в которых пациенты самостоятельно указывают относительную тяжесть текущих жалоб по сравнению с состоянием до ЧМТ. Таким образом, при заполнении опросников пациенты должны вспоминать о своём состоянии до ЧМТ, и их субъективное восприятие влияет на оценку жалоб [7]. Кроме того, у пожилых людей наблюдается более высокий уровень жалоб и когнитивных нарушений [8].

Установлено, что пожилой возраст является независимым фактором, предсказывающим ухудшение состояния после средней степени тяжести ЧМТ. Поскольку население планеты продолжает стареть, число пожилых людей, получающих лёгкую ЧМТ, будет расти. Гериатрические пациенты со средней степенью тяжести ЧМТ чаще страдают от сопутствующих заболеваний, чем их более молодые сверстники, и представляют собой уязвимую группу [8]. Таким образом, гериатрическая популяция является приоритетным направлением для исследований в области прогнозирования последствий ЧМТ. Тем не менее, до сих пор было проведено лишь несколько исследований, посвящённых прогнозированию исходов с лёгкой и средней степенью тяжести ЧМТ у пожилых людей [8].

Выявление прогностических маркеров неполного восстановления может помочь врачам в оказании оптимальной персонализированной медицинской помощи пациентам из группы риска. Функциональные нарушения, связанные с ЧМТ, можно оценить с помощью расширенной шкалы исходов Глазго, которая является наиболее часто используемым показателем исхода в исследованиях ЧМТ. Однако такие функциональные дефициты как когнитивные нарушения более полно

выявляет шкала Mini-Mental State Examination, которые часто возникают после средней степени тяжести ЧМТ и существенно ограничивают досуг и повседневную деятельность пациентов [9]. Однако когнитивные нарушения редко используются в прогнозировании исходов легкой и средней степени тяжести ЧМТ у пожилых пациентов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка моделей прогнозирования исходов легкой и средней степени тяжести ЧМТ у пожилых пациентов с учетом когнитивного статуса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 125 пациентов пожилого возраста с легкой и средней степенью тяжести ЧМТ с ушибами головного мозга и внутримозговыми гематомами с локализацией в затылочной области, обследованных в стационарных условиях на 8–9-е и 20–21-е сутки соответственно. Среди обследованных 125 пациентов: 60 пациентов имели лёгкую степень тяжести ЧМТ, а 65 пациентов – среднюю степень тяжести ЧМТ. Пациенты с лёгкой и средней степенью тяжести ЧМТ не имели значимых различий по возрасту: $63,48 \pm 2,36$ лет и $61,92 \pm 2,09$ лет соответственно ($p > 0,05$). Распространённость артериальной гипертензии среди пациентов с ЧМТ лёгкой степени тяжести составляла $43,3 \pm 2,47$ на 100 обследованных, а среди пациентов с ЧМТ средней степени тяжести – $38,5 \pm 2,08$ на 100 обследованных ($p > 0,05$), ишемической болезни сердца – $28,3 \pm 1,14$ и $29,2 \pm 1,31$ на 100 обследованных ($p > 0,05$), сахарного диабета 2-го типа – $13,3 \pm 0,92$ и $15,4 \pm 0,86$ на 100 обследованных ($p > 0,05$). Отсутствие достоверных различий в распространённости сопутствующих заболеваний среди пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести ЧМТ свидетельствует об однородности полиморбидного статуса обеих групп.

Диагностика ЧМТ проводилась в соответствии с критериями, изложенными в Клинических рекомендациях «Очаговая травма головного мозга» [10]. Выявление когнитивных нарушений осуществлялось по русифицированной шкале Mini-Mental State Examination с общепринятыми критериями их градации [11, 12].

В исследование не включались пациенты до 60 лет и старше 74 лет, с деменцией, перенесённым острым нарушением мозгового кровообращения в последние полгода, с переломами длинных трубчатых костей в последние полгода, с синдромом старческой астении, с соматической патологией в стадии декомпенсации, с хроническим алкоголизмом, психическими заболеваниями, онкопатологией III-IV стадии.

На этапе постановки диагноза ЧМТ легкой и средней степени тяжести проводился общий анализ крови, биохимический анализ крови с определением общего

белка, альбумина, мочевины, креатинина, аланин-аминотрансферазы и аспарат-аминотрансферазы, электролитов крови, общий анализ мочи, компьютерная томография головы.

Лечение пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести ЧМТ включало при показаниях респираторную поддержку, коррекцию гемодинамических нарушений и, прежде всего, уровень систолического артериального давления до 90 мм рт.ст. и более, коррекцию внутричерепной гипертензии, обезболивание и седацию с использованием барбитуратов. Среди хирургических методов выполнены удаление эпидуральных гематом свыше 30 см³ и субдуральных гематом свыше 40 см³ и толщиной 10 мм.

В качестве исходов ЧМТ рассматривались три критерия: способность пациентов, отражающая выполнение двигательных, сенсорных действий; адаптация пациентов включает настроение и межличностное взаимодействие; участие пациентов включает работу и социальные контакты. Также рассчитывался общий балл по указанным трем видам исходов ЧМТ.

Оценка вышеуказанных исходов ЧМТ осуществлялась по индексу адаптивности Mayo-Portland (MPAI-4), состоящего из 30 вопросов, направленных на выявление наиболее часто встречающихся функциональных нарушений и трудностей после получения ЧМТ, специально разработанного для измерения этих аспектов исходов после ЧМТ и, как было показано, являющемуся валидным и надёжным инструментом [13]. Оценка исходов по данному индексу варьирует от 0 до 120 баллов и их меньшее число указывает на лучший исход перенесенной ЧМТ. Оценка когнитивных способностей проводилась также через 4 недели и 6 месяцев после вышеуказанных сроков.

Исследование проводилось с соблюдением принципов Хельсинкской декларации и включение пациентов осуществлялось после получения письменного информированного согласия.

Исследование одобрено экспертной комиссией этического комитета и возможности открытого опубликования материалов ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», протокол № 712 от 25.12.2024 г.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения «Statistica 17.0» на персональном компьютере. Различия в исследованных показателях оценивались по Т-критерию Уайта и считалось достоверным при $p < 0,05$. Для выявления взаимосвязей между исследованными показателями применялся корреляционный анализ Пирсона со следующей оценкой корреляционной связи: 0,0–0,30 — слабая корреляционная связь, 0,31–0,70 — умеренная корреляционная связь, 0,71 и более — высокая корреляционная связь. При разработке прогностических моделей применялся многомерный регрессионный анализ с построением нескорректированных и скорректированных моделей. Эффективность созданных регрессионных моделей изучалась посредством ROC-анализа с использованием площади под кривой (AUC ROC).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Когнитивный статус пациентов с лёгкой степенью тяжести ЧМТ при первичном обследовании на 8–9-е сутки по шкале MMSE соответствовал субъективным когнитивным расстройствам ($28,2 \pm 0,3$ баллов), у пациентов со средней степенью тяжести ЧМТ на 20–21-е сутки соответствовал умеренным когнитивным расстройствам ($26,6 \pm 0,4$ баллов). В процессе восстановления в обеих группах наблюдалось улучшение когнитивных способностей. Через 4 недели после первичного обследования у пациентов с лёгкой степенью ЧМТ когнитивный статус улучшился незначительно до $28,4 \pm 0,4$ баллов относительно 8–9-х суток ($p > 0,05$), а через 6 месяцев – до $28,6 \pm 0,5$ баллов ($p > 0,05$). Среди пациентов со средней степенью тяжести ЧМТ через 4 недели после первичного обследования когнитивные способности достоверно улучшились до $28,1 \pm 0,5$ баллов ($p < 0,05$) относительно 20–21-х суток, а через 6 месяцев существенно не изменились ($28,4 \pm 0,4$ баллов, $p > 0,05$). Средний общий балл исходов у пациентов с лёгкой ЧМТ составил $27,2 \pm 2,1$ балла, а у пациентов с средней степенью тяжести ЧМТ – $36,4 \pm 2,3$ балла.

При анализе корреляционных связей исходов лёгкой и средней степени тяжести ЧМТ по использованным трем критериям и общему их баллу с возрастом, между степенью тяжести ЧМТ и когнитивными нарушениями при первичном обследовании установлены слабые и умеренные корреляционные связи (табл. 1). При этом между возрастом и рассматриваемыми исходами ЧМТ связи были обратными.

Возраст коррелировал обратной слабой связью с общим баллом, а также с участием пациентов в социальных контактах и работе с достоверной значимостью. Вместе с тем между возрастом и такими исходами как способность пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия, настроением и межличностным взаимодействием (адаптацией) выявлены обратные умеренные связи ($p < 0,05$).

Ассоциация легкой степени тяжести ЧМТ представлена во всех случаях обратной слабой статистически значимой связью с исходами ЧМТ. Однако средняя степень тяжести ЧМТ имела как с общим баллом исходов, так и с тремя выделенными критериями обратные умеренные связи. Иначе говоря, при повышении степени тяжести ЧМТ способность выполнения двигательных и сенсорных действий, настроение и межличностное взаимодействие и социальные контакты и работа снижаются и, следовательно, исходы ЧМТ ухудшаются.

С когнитивными нарушениями исходы ЧМТ имели прямые умеренные связи, что указывает на ухудшение исходов ЧМТ с повышением степени тяжести когнитивных нарушений. Со всеми тремя критериями исходов ЧМТ и с общим баллом корреляционные связи являлись статистически значимыми.

Построение нескорректированной регрессионной модели для прогнозирования рассматриваемых исходов ЧМТ в зависимости от степени когнитивных

нарушений позволило получить статистически значимые коэффициенты β и 95% доверительные интервалы (табл. 2), а также константы для разработки прогностической модели, иллюстрирующей способность пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия (y_1), имеет вид:

$$y_1 = 8,786 - 1,879x_1,$$

где x_1 – величина когнитивных нарушений по шкале MMSE.

AUC для данной модели составила 0,808 с чувствительностью 79,9 % и специфичностью 76,6 %.

Модель для прогнозирования настроения и межличностного взаимодействия пациентов (y_2) имеет вид:

$$y_2 = 6,254 - 1,365x_2,$$

где x_2 – величина когнитивных нарушений по шкале MMSE.

Эффективность этой модели по AUC составила 0,844 с чувствительностью 82,2 % и специфичностью 86,7 %.

Нескорректированная модель для прогнозирования участия пациентов в социальных контактах и работе (y_3) имеет вид:

$$y_3 = 9,364 - 1,518x_3,$$

где x_3 – величина когнитивных нарушений по шкале MMSE.

Для модели y_3 эффективность по AUC достигла 0,796 с чувствительностью 80,4 % и специфичностью 78,7 %.

Разработка скорректированных регрессионных моделей прогнозирования анализируемых исходов ЧМТ по полу и возрасту показала, что коэффициенты β сохранили свою статистическую значимость во всех случаях (табл. 3), но величина коэффициентов β незначительно ($p > 0,05$) уменьшилась для некоторых исходов, что не повлияло на достоверность синтезированных прогностических моделей. Прогнозирование способности пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия (y_4) описывается выражением:

$$y_4 = 7,389 - 1,724x_4,$$

где x_4 – величина когнитивных нарушений по шкале MMSE.

После корректировки AUC достигла 0,796 с чувствительностью 80,4 % и специфичностью 78,4 %.

Для прогнозирования настроения и межличностного взаимодействия пациентов после ЧМТ (y_5), в зависимости от балла когнитивных нарушений по шкале MMSE (x_5), модель имеет вид:

$$y_5 = 8,241 - 1,406x_5.$$

где x_5 – величина когнитивных нарушений по шкале MMSE.

AUC для данной прогностической модели составила 0,813 с чувствительностью 83,7 % и специфичностью 79,0 %.

Прогнозирование участия пациентов в работе и социальных контактах (y_6) описывается уравнением:

ТАБЛИЦА 1

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ МЕЖДУ ИСХОДАМИ ЛЁГКОЙ И СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЧМТ И ВОЗРАСТОМ, СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ЧМТ И КОГНИТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ

TABLE 1

CORRELATIONS BETWEEN MILD AND MODERATE TBI OUTCOMES AND AGE, TBI SEVERITY AND COGNITIVE IMPAIRMENT

Показатель	Общий балл исходов	Способность выполнения двигательных и сенсорных действий	Настроение и межличностное взаимодействие	Социальные контакты и работа
Возраст	-0,282*	-0,365*	-0,338*	-0,265*
Легкая ЧМТ	-0,287*	-0,274*	-0,256*	-0,268*
Средняя ЧМТ	-0,398**	-0,369*	-0,406**	-0,452**
Когнитивные нарушения	0,357*	0,348*	0,372**	0,339*

Примечание: * – $p < 0,05$ между показателями, ** – $p < 0,01$ между показателями.

ТАБЛИЦА 2

НЕСКОРРЕКТИРОВАННЫЕ РЕГРЕССИОННЫЕ МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДОВ ЧМТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ

TABLE 2

UNADJUSTED REGRESSION MODELS FOR PREDICTING TBI OUTCOMES DEPENDING ON COGNITIVE IMPAIRMENTS

Показатель исхода ЧМТ	Константа	Коэффициент β	95% доверительный интервал	p
Способность пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия	8,786	-1,879	-1,614:-2,105	0,001
Настроение и межличностное взаимодействие	6,254	-1,365	-1,122:-1,671	0,002
Участие пациентов в работе и социальные контакты	9,364	-1,518	-1,325:-1,802	0,001

$$y_6 = 7,895 - 1,469x_6,$$

где x_6 – величина когнитивных нарушений по шкале MMSE.

AUC для данной модели составила 0,789 с чувствительностью 79,8 % и специфичностью 81,1 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее предложенные модели для прогнозирования исходов ЧМТ основывались на клинической оценке, клинических шкалах и нейрорадиологии. Для улучшения прогнозирования исхода были разработаны более сложные статистические модели, в том числе модель Международной миссии по прогнозированию и анализу клинических исследований в области ЧМТ (IMPACT). Однако такие модели обычно не адаптируют для клинического применения, возможно, потому что они слишком сложны для интеграции в клинический процесс [13]. Это открывает огромные возможности для улучшения прогнозирования результатов, если будут разработаны более применимые параклинические методы.

На прогнозирование исходов ЧМТ, помимо влияния возраста и образования, влияет когнитивная дисфункция, выявленная по Монреальской шкале оценки когнитивных нарушений (MoCA) [14]. Это исследование подтверждает наши результаты и предыдущие эмпирические данные о том, что с возрастом общие когнитивные показатели снижаются. Также обнаружено, что уровень образования является важным фактором, влияющим на результаты теста MoCA, и эти результаты согласуются с данными, полученными в различных этнических группах [15]. Это коррелирует с теорией когнитивного резерва при ЧМТ, которая предполагает, что более высокий уровень образования до получения травмы значительно улучшает прогноз после неё, но прогностические модели авторы не разрабатывали.

Выполненный ROC-анализ показывает, что пороговый балл MoCA, равный 22, позволяет достоверно отличить людей с ЧМТ в анамнезе и когнитивными нарушениями от людей с ЧМТ в анамнезе без когнитивных нарушений (AUC = 0,82; чувствительность 76 %, специфичность 71 %). Кроме того, нижний пороговый балл аналогичен показателям многих других

международных исследований по валидации MoCA. Сообщалось о пороговых значениях < 21 и < 20 для дифференциации между лёгкими когнитивными нарушениями и лёгкой деменцией. В другом исследовании оптимальные пороговые значения определялись как 13/14 для неграмотных людей, 19/20 для людей с образованием от 1 до 6 лет и 24/25 для людей с образованием от 7 лет и более. Следует отметить, что пороговый балл 21/22 используется для прогнозирования лёгких нейрокогнитивных расстройств [16].

Однако отмечается, что, поскольку участники с ЧМТ были обследованы как минимум через девять месяцев после травмы, а не в момент её получения, то выявление когнитивных нарушений в подострой и хронической фазах ЧМТ имеет особое значение в контексте прогнозирования и оценки реабилитации пострадавших. Пациенты и их семьи часто обращаются за оценкой когнитивных функций спустя много лет после ЧМТ, когда замечают, что симптомы ЧМТ оказывают значительное влияние на повседневную жизнь. Наконец, поскольку шкала MoCA была разработана для выявления умеренных когнитивных нарушений и деменции, которые зависят от эпизодической памяти и ориентации в пространстве, отсутствие показателей по этим параметрам является ограничением. Необходимы дополнительные исследования свойств шкал памяти и зрительно-пространственного восприятия, чтобы повысить обобщаемость результатов для других клинических групп, а также оценить надёжность повторного тестирования для клинической практики. Поскольку возраст и уровень образования неизменно оказывались значимыми факторами, влияющими на результаты MoCA, даже после корректировки результатов с учётом уровня образования, следующим важным шагом должен быть сбор данных на основе более крупной выборки, разделённой по возрасту и уровню образования, чтобы определить конкретные пороговые значения для различных демографических групп [14].

С помощью шкалы MMSE у пострадавших с лёгкой и средней тяжестью ЧМТ в период наблюдения от 3 недель до 6 месяцев удалось выявить, что 46,3 % пациентов имели нормальные когнитивные функции, в то время как 28,4 % – лёгкие когнитивные нарушения, 17,9 % – умеренные когнитивные нарушения и 7,5 % – тяжёлые когнитивные нарушения [17]. Кроме

ТАБЛИЦА 3

СКОРРЕКТИРОВАННЫЕ РЕГРЕССИОННЫЕ МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДОВ ЧМТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ

TABLE 3

ADJUSTED REGRESSION MODELS FOR PREDICTING TBI OUTCOMES DEPENDING ON COGNITIVE IMPAIRMENTS

Показатель исхода ЧМТ	Константа	Коэффициент β	95% доверительный интервал	p
Способность пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия	7,389	-1,724	-1,529;-1,908	0,0018
Настроение и межличностное взаимодействие	8,241	-1,406	-1,317;-1,725	0,0024
Участие пациентов в работе и социальные контакты	7,895	-1,469	-1,225;-1,704	0,0039

того, авторами подчеркивается хорошая оценочная способность шкалы MMSE, поскольку с помощью неё выявлены нарушения когнитивных функций у тех пациентов, у которых тест рисования часов не выявил таких нарушений и эта разница в возможностях выявления рассматриваемых нарушений оказалась статистически значимой. При одновременном использовании шкалы MMSE и MoCA у пациентов с легкой степенью тяжести ЧМТ не выявлено достоверных различий в уровне когнитивных нарушений [18]. Средний балл когнитивных нарушений среди пациентов до начала лечения электроакупunkturой по шкале MMSE составлял $17,25 \pm 2,58$ баллов и $16,02 \pm 2,79$ баллов по шкале MoCA ($p > 0,618$), что указывает на одинаковую способность этих двух шкал в выявлении когнитивных нарушений после ЧМТ. Обе шкалы показали одинаковые результаты в оценке когнитивных способностей и после лечения – уровень когнитивных нарушений по шкале MoCA составлял $22,47 \pm 2,64$ балла, а по MMSE – $22,99 \pm 2,15$ баллов ($p > 0,05$), что свидетельствует о равноценной (одинаковой) способности этих шкал выявлять когнитивные нарушения среди пациентов с лёгкой степенью тяжести ЧМТ.

В более раннем исследовании [19], использовавшем MMSE и MoCA, у пациентов с ЧМТ обнаружены более низкие суммарные баллы по шкале MoCA – $14,84 \pm 6,70$ баллов, чем по MMSE – $18,63 \pm 8,93$ баллов. Результаты тестов MoCA и MMSE показали, что у пациентов с ЧМТ показатели ориентации в пространстве и памяти значительно ниже, чем у пациентов с инсультом. Наряду с этим сообщается, что китайская версия шкалы MoCA является более чувствительной при выявлении когнитивных нарушений, чем китайская версия шкалы MMSE из-за того, что в шкале MMSE, по мнению авторов, 24 из 30 баллов начисляются за воспроизведение, речь и ориентацию в пространстве, а за зрительно-конструктивную функцию всего 1 балл из 30 баллов. Для сравнения шкала MoCA имеет более широкий охват и хорошо сбалансирована по субтестам.

В другом исследовании также использовалась MoCA для выявления когнитивных нарушений у пациентов с ЧМТ, которая продемонстрировала высокую надёжность и валидность при оценке когнитивных функций после ЧМТ [14]. MoCA оценивает различные когнитивные функции, включая внимание, счёт, память, речь и исполнительные функции, что позволяет получить более достоверные результаты. Как и другие исследования, это исследование показало, что в Китае ЧМТ чаще всего происходит у мужчин в возрасте 18–65 лет, а основной причиной являются дорожно-транспортные происшествия. Такие пациенты часто выражают сильное желание вернуться к работе, но когнитивные нарушения существенно затрудняют их возвращение к работе и повседневной деятельности. Таким образом, раннее выявление и устранение факторов риска когнитивных нарушений после ЧМТ может снизить их частоту и облегчить нагрузку на общество [16].

Надежные доказательства связи между ЧМТ со снижением когнитивных функций представлены

в систематическом обзоре [20], включавшем 32 исследования, в которых учувствовало более семи миллионов человек. Было показано, что ЧМТ на две трети повышает риск развития деменции от всех причин. Авторами приведены доказательства того, что эти субъективные когнитивные симптомы, связанные с ЧМТ, выходят за рамки памяти и включают язык, зрительно-пространственную функцию и исполнительную функцию.

Возникающие в позднем возрасте устойчивые изменения в поведении (например, неадаптивное поведение) также могут свидетельствовать о начинающемся снижении когнитивных функций и деменции. Однако исследования связи ЧМТ с неадаптивным поведением появились совсем недавно. В Едином наборе данных Национального координационного центра по борьбе с ЧМТ различной степени тяжести выявлена связь с более высокой вероятностью неадаптивного поведения и более высоким риском снижения мотивации и психоэмоционального состояния у пожилых людей без когнитивных нарушений на исходном уровне [20].

Как нескорректированные, так и скорректированные модели свидетельствуют об отрицательном влиянии когнитивных нарушений на исходы ЧМТ, поскольку когнитивный статус во многом определяет выполнение различных действий, деятельность человека в повседневной и социальной жизни [21–23]. И как нами установлено снижение когнитивного статуса пациентов после ЧМТ сопровождается снижением выполнения двигательных и сенсорных действий, участия в работе и социальных контактах, их адаптации в связи с изменившимся состоянием здоровья, в том числе ментального, после травматизации.

Когнитивные нарушения возникают у пациентов даже с легкой ЧМТ, которые сообщают об ограничении активности и снижении удовлетворённости жизнью, и эти негативные последствия усугубляются по мере увеличения тяжести ЧМТ. Как и предыдущие исследования, наши текущие результаты указывают на некоторую корреляцию между тяжестью ЧМТ и выраженностью когнитивных нарушений. Однако ранжирование по степени тяжести ЧМТ не всегда позволяет предсказать наличие симптомов и качество жизни [6]. Оценка тяжести ЧМТ, её последствий и вариантов лечения может быть гораздо более сложной. На основе группового сравнения лёгкой, умеренной и тяжёлой ЧМТ (определяемой по продолжительности потери сознания) было установлено, что даже лёгкая ЧМТ сопровождалась более выраженными симптомами по сравнению с группой без ЧМТ. На основе этой классификации тяжести ЧМТ не было выявлено различий в выраженности симптомов в разных группах ЧМТ. Исследование тяжести ЧМТ с более высоким разрешением с использованием взвешенной оценки ответов участников на модифицированный цифровой опросник OSU TBI-ID выявило значительную связь между большей тяжестью ЧМТ и худшим исходом [6].

Исследования показывают, что существует начальный период восстановления после ЧМТ, хотя

восстановление происходит наиболее быстро в первые шесть месяцев после травмы, большинство пациентов с ЧМТ лёгкой или средней степени тяжести сообщают о постепенном повышении самостоятельности в течение пяти лет после травмы [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способность пожилых пациентов выполнять двигательные и сенсорные действия, участвовать в работе и социальных контактах, поддерживать уровень настроения и межличностного взаимодействия после перенесенной ЧМТ, согласно выявленным корреляционным связям, снижается с повышением возраста, степени тяжести ЧМТ и с ухудшением когнитивного статуса. Разработанные модели позволяют прогнозировать рассматриваемые исходы ЧМТ в зависимости от когнитивных нарушений. Согласно созданным прогностическим моделям, на исходы перенесенной ЧМТ негативно влияют когнитивные нарушения, поскольку входящие в них коэффициенты регрессии β имеют отрицательные значения. Разработанные модели могут применяться в клинической практике для прогнозирования исходов ЧМТ в зависимости от когнитивных нарушений, что позволит оптимизировать диагностические и лечебные мероприятия у таких пациентов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bittencourt M, Balart-Sanchez SA, Maurits NM, et al. Self-Reported Complaints as Prognostic Markers for Outcome after Mild Traumatic Brain Injury in Elderly: A Machine Learning Approach. *Front Neurol*. 2021; 12: 751539. doi: 10.3389/fneur.2021.751539
2. Dwyer B, Katz DI. Postconcussion syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2018; 158: 163–178. doi: 10.1016/b978-0-444-63954-7.00017-3
3. Voormolen DC, Cnossen MC, Polinder S, et al. Prevalence of post-concussion-like symptoms in the general population in Italy, The Netherlands and the United Kingdom. *Brain Inj*. 2019; 33(8): 1078–1086. doi: 10.1080/02699052.2019.1607557
4. Yuan X, Xu Q, Du F, et al. Development and validation of a model to predict cognitive impairment in traumatic brain injury patients: a prospective observational study. *EClinicalMedicine*. 2025; 80: 103023. doi: 10.1016/j.eclinm.2024.103023
5. Slavoaca D, Birlle C, Stan A, et al. Prediction of Neurocognitive Outcome after Moderate-Severe Traumatic Brain Injury Using Serum Neuron-Specific Enolase and S100 biomarkers. *J Med Life*. 2020; 13(3): 306–313. doi: 10.25122/jml-2020-0147
6. Nelson LD, Temkin NR, Barber J, et al. Functional Recovery, Symptoms, and Quality of Life 1 to 5 Years After Traumatic Brain Injury. *JAMA Netw Open*. 2023; 6(3): e233660. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.3660
7. Voormolen DC, Cnossen MC, Spikman J, et al. Rating of pre-injury symptoms over time in patients with mild traumatic brain injury: the good-old-days bias revisited. *Brain Inj*. 2020; 34(8): 1001–1009. doi: 10.1080/02699052.2020.1761563
8. Gardner RC, Dams-O'Connor K, Morrissey MR, et al. Geriatric Traumatic Brain Injury: Epidemiology, Outcomes, Knowledge Gaps, and Future Directions. *J Neurotrauma*. 2018; 35(7): 889–906. doi: 10.1089/neu.2017.5371
9. Rabinowitz AR, Hart T, Whyte J, et al. Neuropsychological recovery trajectories in moderate to severe traumatic brain injury: influence of patient characteristics and diffuse axonal injury. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 2018; 24(3): 237–246. doi: 10.1017/S1355617717000996
10. Потапов А.А., Крылов В.В., Петриков С.С., и др. Клинические рекомендации «Очаговая травма головного мозга». М.: Ассоциация нейрохирургов России; 2024. [Potapov AA, Krylov VV, Petrikov SS, et al. *Clinical guidelines "Focal traumatic brain injury"*. Moscow: Association of Neurosurgeons of Russia; 2024. (In Russ.)].
11. Агарков Н.М., Копылов А.Е., Османов Р.Э., и др. Дефицит зрения — новый маркер когнитивных нарушений. *Офтальмология*. 2024; 21(2): 326–331. [Agarkov NM, Kopylov AE, Osmanov RE, et al. Visual deficit is a new marker of cognitive impairment. *Ophthalmology*. 2024; 21(2): 326–331. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2024-2-326-331
12. Копылов А.Е., Агарков Н.М., Попова Н.В., и др. Жизнестойкость пациентов с саркопеническим ожирением и возрастной патологией органа зрения. *Российский офтальмологический журнал*. 2025; 18(2): 50–55. [Kopylov AE, Agarkov NM, Popova NV, et al. Resilience of patients with sarcopenic obesity and age-related ocular pathology. *Russian Ophthalmological Journal*. 2025; 18(2): 50–55. (In Russ.)]. doi: 10.21516/2072-0076-2025-18-2-50-55
13. Kean J, Malec JF, Altman IM, et al. Rasch measurement analysis of the Mayo-Portland Adaptability Inventory (MPAI-4) in a community-based rehabilitation sample. *J Neurotrauma*. 2011; 28(5): 745–753. doi: 10.1089/neu.2010.1573
14. Quang H, Nguyen AL, Do C, et al. Examining the Vietnamese Montreal cognitive assessment in healthy and moderate-to-severe traumatic brain injury populations. *Clin Neuropsychol*. 2023; 37(5): 1062–1077. doi: 10.1080/13854046.2023.2170281
15. Aiello EN, Gramegna C, Esposito A, et al. The Montreal Cognitive Assessment (MoCA): updated norms and psychometric insights into adaptive testing from healthy individuals in Northern Italy. *Aging Clin Exp Res*. 2022; 34(2): 375–382. doi: 10.1007/s40520-021-01943-7
16. Gao G, Wu X, Feng J, et al. Clinical characteristics and outcomes in patients with traumatic brain injury

in China: a prospective, multicentre, longitudinal, observational study. *Lancet Neurol.* 2020; 19(8): 670–677. doi: 10.1016/s1474-4422(20)30182-4

17. Singh A, Kumar R, Singh NP, et al. Evaluation of Cognitive Functions in Traumatic Brain Injury Patients Using Mini Mental State Examination and Clock Drawing Test. *Asian J Neurosurg.* 2021; 16(1): 99–105. doi: 10.4103/ajns.AJNS_331_20

18. Jia H, Chen Y, Wang Y, et al. The neuroprotective effect of electro-acupuncture on cognitive recovery for patients with mild traumatic brain injury: A randomized controlled clinical trial. *Medicine (Baltimore).* 2023; 102(6): e32885. doi: 10.1097/MD.00000000000032885

19. Zhang H, Zhang XN, Zhang HL, et al. Differences in cognitive profiles between traumatic brain injury and stroke: A comparison of the Montreal Cognitive Assessment and Mini-Mental State Examination. *Chin J Traumatol.* 2016; 19(5): 271–274. doi: 10.1016/j.cjtee.2015.03.007

20. Guan DX, Peters ME, Pike GB, et al. Cognitive, behavioral, and functional outcomes of suspected mild

traumatic brain injury in community-dwelling older persons without mild cognitive impairment or dementia. *J Acad Consult Liaison Psychiatry.* 2025; 66(2): 118–129. doi: 10.1016/j.jaclp.2024.12.004

21. Del Pozzo J, Spielman L, Yew B, et al. Detecting and Predicting Cognitive Decline in Individuals with Traumatic Brain Injury: A Longitudinal Telephone-Based Study. *J Neurotrauma.* 2024; 41(15–16): 1937–1947. doi: 10.1089/neu.2023.0589

22. Dang H, Su W, Tang Z, et al. Prediction of motor function in patients with traumatic brain injury using genetic algorithms modified back propagation neural network: A data-based study. *Front Neurosci.* 2023; 16: 1031712. doi: 10.3389/fnins.2022.1031712

23. Mavroudis I, Ciobica A, Bejenariu A, et al. Cognitive impairment following mild traumatic brain injury (mTBI): a review. *Medicina (Kaunas).* 2024; 60(3): 380. doi: 10.3390/medicina60030380

Сведения об авторах

Агарков Николай Михайлович – доктор медицинских наук, профессор кафедры биомедицинской инженерии ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет»; профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней и клинических информационных технологий ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»; e-mail: vitalaxen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>

Павлов Олег Георгиевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий медико-генетическим отделением ГБУЗ МО «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии имени академика В.И. Кrasнопольского»; e-mail: secretariat@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3023-337X>

Яковлев Александр Павлович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева»; e-mail: dep_immunology_skd@oreluniver.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5356-6284>

Иванов Виктор Афанасьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»; e-mail: kurskmed@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7254-1146>

Бахарева Арина Александровна – студент кафедры биомедицинской инженерии ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет»; e-mail: evgeniaforfec@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1789-1482>

Федосеев Илья Максимович – студент кафедры биомедицинской инженерии ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет»; e-mail: ilya_fedoseev_2020@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6420-0050>

Information about the authors

Nikolay M. Agarkov – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Department of biomedical engineering, Southwest State University; professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Clinical Information Technologies, Belgorod State National Research University; e-mail: vitalaxen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4821-3692>

Oleg G. Pavlov – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor, Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology named after Academician V.I. Krasnopolsky; e-mail: secretariat@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3023-337X>

Alexander P. Yakovlev – Dr. Sc. (Med.), professor, professor of the Department of immunology and specialized clinical disciplines, Oryol State University named after I.S. Turgenev; e-mail: dep_immunology_skd@oreluniver.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5356-6284>

Viktor A. Ivanov – Dr. Sc. (Med.), professor of the Department of Human Anatomy, Kursk State Medical University; e-mail: kurskmed@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7254-1146>

Arina A. Bakhareva – student of the Department of Biomedical Engineering, Southwest State University; e-mail: evgeniaforfec@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1789-1482>

Ilya M. Fedoseev – student of the Department of Biomedical Engineering, Southwest State University; e-mail: ilya_fedoseev_2020@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6420-0050>

Вклад авторов

Агарков Н.М. – научное редактирование;

Яковлев А.П. – сбор данных, написание текста;

Павлов О.Г. – анализ данных;

Иванов В.А. – оформление и структурирование статьи;

Бахарева А.А., Федосеев И.М. – поиск литературы.

НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ У ЖЕНЩИН С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ

**Катаманова Е.В.,
Сливницына Н.В.,
Васильева Л.С.,
Русанова Д.В.,
Протасова Е.Н.,
Шевченко О.И.,
Лахман О.Л.**

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт
медико-экологических исследований»
(665827, 12-а мкр-н, д.3, г. Ангарск,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
**Катаманова Елена
Владимировна**
e-mail: katamanova_e_v@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Постковидный синдром (ПКС) сопровождается неврологическими проявлениями. Важную роль играют пути проникновения вируса, патогенетические механизмы, запускающие COVID-19 в организме инфицированного.

Цель исследования. Дать клинико-нейрофизиологическую характеристику неврологических проявлений постковидного синдрома.

Методы. Обследовано 225 женщин с ПКС. Проведено клиническое, нейрофизиологическое (электроэнцефалография, электронейромиография), нейропсихологическое обследование.

Результаты. Основным клиническим синдромом была астения (100 % случаев), регистрировались когнитивные и эмоционально-волевые расстройства (70,8 % и 36,2 % соответственно). Гипосмия (55 %), искаженное восприятие запахов (паросмия) регистрировались в 20 % случаев, гиперосмия и anosmia в 5 % случаев, у 15 % обследованных отсутствовало нарушение обоняния. У пациенток с ПКС диагностировалась дистальная полиневропатия в 11,1 % случаев, подтвержденная электронейромиографией. По данным электроэнцефалограммы (ЭЭГ), выявлено изменение когерентности в α -диапазоне. Наблюдалось увеличение межполушарных связей в височных областях, α -когерентность в лобных зонах снижалась по сравнению с нормальными показателями. Нейропсихологическое тестирование показало снижение познавательных функций, в виде изменения нейропсихологических показателей, отражающих нарушения кратковременной (слухоречевой) и долговременной памяти, реципрокной координации.

Заключение. Основными клиническими проявлениями ПКС у женщин являются астения различной степени выраженности, когнитивные и эмоционально-волевые нарушения с тревожно-депрессивным компонентом, расстройство сенсорных функций – обоняния и вкуса, полиневропатия конечностей. Установлено нарушение показателей, отражающих состояние кратковременной (слухоречевой) и долговременной памяти, реципрокной координации.

Ключевые слова: неврологические проявления, электронейромиография, электроэнцефалография, полиневропатия конечностей, постковидный синдром, когнитивные нарушения, эмоционально-волевые нарушения, астения, обонятельные расстройства, тревога, депрессия

Статья поступила: 08.10.2025
Статья принята: 22.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Катаманова Е.В., Сливницына Н.В., Васильева Л.С., Русанова Д.В., Протасова Е.Н., Шевченко О.И., Лахман О.Л. Неврологические проявления у женщин с постковидным синдромом. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 145-156. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.15

NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS IN WOMEN WITH POST-COVID SYNDROME

**Katamanova E.V.,
Slivnitsyna N.V.,
Vasilieva L.S.,
Rusanova D.V.,
Protasova E.N.,
Shevchenko O.I.,
Lakhman O.L.**

East-Siberian Institute of Medical and
Ecological Research (12a mikrorayon 3,
Angarsk 665827, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena V. Katamanova
e-mail: katamanova_e_v@mail.ru

ABSTRACT

Post-COVID syndrome (PCS) is accompanied by neurological manifestations. The routes of virus penetration and the pathogenetic mechanisms triggered by COVID-19 in the infected body play an important role.

Aim. *To provide a clinical and neurophysiological description of the neurological manifestations of post-COVID syndrome.*

Methods. *A total of 225 women with PCS were examined. Clinical, neurophysiological (electroencephalography, electroneuromyography), and neuropsychological examinations were performed.*

Results. *The main clinical syndrome was asthenia (100 % of cases); cognitive and emotional-volitional disorders were recorded (70.8 % and 36.2 %, respectively). Hyposmia was observed (55 %), distorted perception of odors (parosmia) was recorded in 20 % of cases, hyperosmia and anosmia – in 5 %, and 15 % of the examined patients had no impairment of smell. In patients with PCS, distal polyneuropathy was diagnosed in 11.1 % of cases, confirmed by electroneuromyography. According to the electroencephalogram (EEG), a change in coherence in the alpha-band was revealed. An increase in interhemispheric connections in the temporal regions was observed, and coherence in the frontal areas decreased compared to normal values. Neuropsychological testing showed a decrease in cognitive functions, manifested in changes in neuropsychological indicators reflecting impairments in short-term (auditory-verbal) and long-term memory, and reciprocal coordination.*

Conclusion. *The main clinical manifestations of PCS in women are asthenia of varying severity, cognitive and emotional-volitional disorders with an anxiety-depressive component, disorders of sensory functions (smell and taste), and polyneuropathy of the extremities. The study revealed impaired indicators reflecting the state of short-term (auditory-verbal) and long-term memory, as well as reciprocal coordination.*

Keywords: *neurological manifestations, polyneuropathy of the extremities, electroneuromyography, electroencephalography, post-Covid syndrome, cognitive impairment, emotional-volitional disorders, asthenia, olfactory disorders, anxiety, depression*

Received: 08.10.2025
Accepted: 22.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Katamanova E.V., Slivnitsyna N.V., Vasilieva L.S., Rusanova D.V., Protasova E.N., Shevchenko O.I., Lakhman O.L. Neurological manifestations in women with post-COVID syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 145-156. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.15

ОБОСНОВАНИЕ

Пандемия коронавирусной инфекции стала одной из причин роста неврологической заболеваемости. Согласно данным Федеральной службы государственной статистики, заболеваемость населения Российской Федерации по классу Болезни нервной системы в 2020 году составила 7544,6 тыс. зарегистрированных заболеваний, из них впервые выявленных – 1836,5 тыс. [1], а в 2022 году – 8126,2 тыс. зарегистрированных заболеваний, из них впервые выявленных – 2057,0 тыс. [2].

В разнообразии неврологических проявлений COVID-19 важную роль играют пути проникновения вируса в нервную систему, а также патогенетические механизмы, которые запускаются COVID-19 в организме инфицированного. Выделяются 4 пути проникновения вируса в нервную систему: через обонятельный тракт; ретроградный аксональный транспорт вирусных частиц в ЦНС (транссинаптический путь); миграция инфицированных лейкоцитов через ГЭБ (гематоэнцефалический барьер) – лейкоцитарный путь, либо через эндотелий сосудов (гематогенный путь) [3]. В основе проникновения вируса в организм лежит его тропность к рецепторам ангиотензин-превращающего фермента-2 (АПФ-2). Экспрессия АПФ-2 осуществляется в большинстве органов и тканей, в том числе в нейронах, глиальных клетках и эндотелиоцитах. Учитывая перечисленные органы-мишени, можно разделить неврологические проявления коронавирусной инфекции на 3 группы: поражения ЦНС, изменения периферической нервной системы (ПНС), поражения скелетной мускулатуры [4].

Неврологические проявления могут быть обусловлены как прямым повреждением нервной и мышечной ткани, так и опосредованными аутоиммунными эффектами [5]. В основе повреждения ЦНС лежат механизмы нейровоспаления, признаки которого часто обнаруживаются в стволе головного мозга, что ведет к угнетению дыхательного центра и, усиливая нейротоксическую гипоксию, приводит к дополнительному гипоксическому повреждению головного мозга [6, 7]. Поражение периферических отделов нервной системы и мышц может быть вызвано прямым вторжением COVID-19, а также системным иммунным ответом [8, 9]. Аутоиммунные реакции против белков нервных волокон обусловлены определенной молекулярной мимикрией между белками COVID-19 и белками периферических нервов [10]. Нарушение обоняния (аносмия, гипосмия, дизосмия, парасмия) в сочетании с нарушением вкусового ощущения (агевзия, гипогевзия, дисгевзия) расценивают как один из самых частых, а также один из ранних признаков коронавирусной инфекции, которые, по данным ВОЗ, встречаются у 86–88 % пациентов. Признак возникает при любой тяжести COVID-19, но при легкой форме он может быть единственным проявлением существования вируса в организме. Возможными механизмами развития anosмии при COVID-19 являются: синдром обонятельной расщелины, местная воспалительная реакция в эпителии носовой полости, ранний

апоптоз обонятельных клеток, структурные изменения обонятельных ресничек и нарушения передачи запаха, повреждение микроглии клеток, влияние на обонятельные луковицы, повреждения обонятельного эпителия, повреждения обонятельных нейронов и стволых клеток. В качестве наиболее вероятной причины anosмии выделяют повреждение рецепторных клеток обонятельного нейроэпителия [11].

Таким образом, сохраняется актуальность изучения многообразных проявлений постковидного синдрома (ПКС), так как сформированные нарушения затрудняют восстановление здоровья пациентов и ухудшают качество жизни, провоцируя широкий спектр симптомов, сохраняющийся долгое время после перенесенной инфекции [12]. Учитывая, что диагностика ПКС субъективна и основана на жалобах больных, необходима своевременная и качественная диагностика отсроченных неврологических осложнений, часто требующих дальнейшего тщательного наблюдения, разработка индивидуальных программ реабилитации в зависимости от уровня поражения и характера реабилитационного потенциала пациентов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дать клиничко-нейрофизиологическую характеристику неврологических проявлений постковидного синдрома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В условиях стационара в клинике ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», было обследовано 225 пациенток (основная группа, средний возраст $60,3 \pm 7,8$ лет), переболевших COVID-19 в разный промежуток времени и с разной степенью выраженности постковидного синдрома (ПКС). Гендерная привязка к выбору женщин в основную исследовательскую группу была обусловлена двумя факторами, во-первых, по данным ряда авторов, ухудшение состояния здоровья в виде постковидного синдрома чаще отмечают женщины (44–70 %), чем мужчины (32–59 %) [13, 14], кроме того, считается, что женский пол является фактором риска постковидного синдрома [15]; во-вторых, в стационар клиники за медицинской помощью преимущественно обращались женщины. Критериями включения в группу являлись: возраст женщин от 45 до 65 лет, наличие подтвержденной перенесенной COVID-19-ассоциированной инфекции, наличие постковидного синдрома в виде астении, полиневропатии конечностей, когнитивных и эмоционально-волевых нарушений, отсутствие хронических сопутствующих заболеваний в стадии декомпенсации.

Диагноз ПКС устанавливался на основе симптомокомплекса (астения, когнитивные, эмоционально-волевые нарушения, в некоторых случаях полиневропатия) возникающего во время или после заболевания,

вызванного новой коронавирусной инфекцией и продолжающегося более 12 недель, не являющегося следствием альтернативного диагноза. Поскольку лёгкая степень ПКС характеризуется развитием потенциально обратимых состояний, в основную группу были включены лица с умеренной степенью ПКС, при котором диагностировались основные симптомы умеренной степени и выраженной – с выраженными и стойкими проявлениями симптомокомплекса [16].

Измерение степени выраженности астенического состояния определяли с помощью методики ШАС [17], разработанной Л.Д. Малковой, и адаптированной Т.Г. Чертовой, где легкая степень соответствовала 51–75 баллам, умеренная – 76–100, выраженная – 101–120 баллам.

Для исследования были сформированы группа сравнения – 30 женщин (средний возраст $58,1 \pm 6,4$ лет), в анамнезе которых не было обращаемости и жалоб характерных для COVID-19-ассоциированной инфекции.

Для первичной оценки состояния здоровья пациентов применялся опросник, разработанный междисциплинарным экспертным советом, направленный на выявление симптомов, характерных для постковидного периода, в рамках углубленной диспансеризации [18]. Для облегчения процесса заполнения анкеты и охвата всех возможных патологических проявлений использовался подход, основанный на оценке наличия или отсутствия признаков по принципу «да» или «нет».

Частота неврологических вариантов постковидного синдрома на настоящий момент остаётся неизвестной, но наблюдается тенденция к развитию неврологических осложнений после перенесённой инфекции [19, 20]. Для подтверждения нарушений в состоянии периферических нервов проводилась стимуляционная электронейромиография (ЭНМГ; электронейромиограф фирмы «Нейрософт» – «Нейро-ЭМГ-Микро» (г. Иваново). Изучались показатели сенсорного компонента (амплитуда потенциала действия, скорость проведения импульса (СПИ)) и моторного компонента (амплитуда М-ответа, резидуальная латентность, проксимально-дистальный коэффициент, СПИ), полученные при тестировании срединного, локтевого и большеберцового нервов при стандартном наложении поверхностных пластинчатых электродов. Исследование сенсорного компонента проводилось с использованием антидромной методики.

Компьютерная электроэнцефалография (ЭЭГ) проводилась с использованием многофункционального комплекса «Нейрон-Спектр-5» в соответствии со стандартной методикой, степень выраженности изменений биоэлектрической активности классифицировалась по Sohn [21]. Для анализа применялись методы, позволяющие выявить значимые признаки. Учитывались основные нормальные и патологические ритмы, их частота, индекс, представленность и особенности изменений. В процессе анализа обращалось внимание на наличие эпилептиформной активности, что является важным показателем при оценке состояния мозга.

Нейропсихологическое обследование включало использование комплекса тестов из схемы А.Р. Лурии для количественной оценки состояния когнитивных функций. Применялись методики, направленные на изучение интеллекта, памяти, праксиса, гнозиса и речи. Методики позволили комплексно подойти к определению состояния когнитивных функций, выявить возможные нарушения и определить степень их выраженности. Оценка результатов выполнения каждого задания условно ранжирована по 4-х балльной системе: 0 баллов – справляется с заданием теста (нет ошибок); 1 балл – справляется с большей частью заданий (1 ошибка при выполнении задания); 2 балла – испытывает затруднения с заданием, проявляющиеся в поисках, увеличении латентных периодов (2 ошибки при выполнении задания); 3 балла – практически не справляется с заданием (3 и более ошибки при выполнении задания). В связи с неравномерным количеством тестов, направленных на выявление расстройств различных функций, и с целью определения иерархии этих расстройств использовали специальные относительные показатели. Относительная выраженность (ОВ) нейропсихологической симптоматики в целом рассчитывалась как результат деления суммарной оценки в баллах на 20 (общее количество предъявленных тестов). В качестве обобщенных показателей применяли показатели диффузности и выраженности мозговой дефицитарности. Оценка выраженности нарушений по каждому тесту производилась по 4-балльной шкале [22].

Также для скрининга когнитивных нарушений использовали Монреальскую когнитивную шкалу (MoCA, от англ. Montreal Cognitive Assessment) [23].

По результатам корректурной пробы Бурдона оценивался уровень умственной работоспособности, ее продуктивность и эффективность, а также объем, концентрация внимания и способность к его переключению [24]. Исследование уровня, целенаправленности мышления, умения понимать и оперировать переносным смыслом текста, определение дифференцированности и целенаправленности суждений и уровня развития речевых процессов проводилось с помощью методики «Толкование пословиц» [25]. Для выявления симптомов депрессии и тревожности с целью их дальнейшей коррекции использовалась шкала HADS [26].

Психиатрический осмотр проводился только с добровольного согласия пациентов (на основании Закона РФ «О психиатрической помощи и гарантиях прав граждан при её оказании»), в соответствии с существующими стандартами, с учетом их индивидуального применения к каждому пациенту. Оценивались все «сферы» психической деятельности. Диагнозы выставлялись в соответствии с диагностическими указаниями и критериями МКБ-11, гармонизированными с DSM-5 [27].

Информация обрабатывалась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office 2003 (в ОС «Windows XP»), STATISTICA, версии 6.0 и 6.1 Stat_Soft® Inc. (правообладатель лицензии ФГБНУ ВСИМЭИ). Результаты исследований отображены в виде медианы (Me),

верхнего и нижнего квартилей (LQ-UQ), интенсивных (на 100 обследованных) и экстенсивных (%) показателей. Статистическую значимость различий показателей, выраженных в процентах, вычисляли по методу углового преобразования Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для сравнения выборок использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Сравнение количественных признаков в двух связанных выборках осуществляли с применением Wilcoxon Matched Pairs Test.

Все процедуры выполнены в соответствии с этическими стандартами. Каждый участник получил информацию о целях, методах и потенциальных рисках, дал согласие на участие. Согласие было одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ ВСИМЭИ (Заключение ЛЭК № 1 от 21.02.2023 г.). Таким образом, права и благополучие участников были защищены, здоровью не был причинён вред.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По степени выраженности ПКС пациентки распределились следующим образом: умеренно выраженный диагностирован у 80,7 % женщин; выраженный – у 19,3 %. Перенесенная пневмония была диагностирована в 24,7 % случаев.

Основным клиническим синдромом у обследованных была астения, диагностированная в 100 % случаев. По степени тяжести она подразделялась на легкий астенический синдром (1,7 % случаев), астению средней тяжести (в 77,7 % случаев), тяжелый астенический синдром (20,6 % случаев). Когнитивные и эмоционально-волевые расстройства (70,8 % и 36,2 % соответственно).

В таблице 1 представлены основные неврологические и психопатологические синдромы, диагностированные у обследованных лиц.

Из обонятельных нарушений при обследовании наиболее часто встречалась гипосмия (55 %), искаженное восприятие запахов (паросмия) регистрировалась в 20 % случаев, гиперосмия и anosmia в 5 % случаев, лишь у 15 % обследованных отсутствовало нарушение обоняния. Изолированное нарушение вкуса без обонятельной дисфункции при COVID-19 встречается крайне редко (5–15 %).

Гипогевзия регистрировалась в 37 % случаев совместно с расстройствами обоняния. У пациенток диагностировалась дистальная полиневропатия конечностей – в 11,1 % случаев (табл. 1).

Исследование электронейромиографии (ЭНМГ) у пациенток с ПКС выявило статистически значимое уменьшение скорости проведения импульса (СПИ) по моторным аксонам периферических нервов на верхних и нижних конечностях по сравнению с контрольной группой (табл. 2). В дистальном отделе срединного и локтевого нервов было обнаружено субпороговое снижение СПИ, а показатели по большеберцовому нерву оказались менее 40 м/с – ниже нормы.

В группе обследованных установлено снижение СПИ по сенсорному волокну срединного нерва на уровне субпороговых значений, снижение показателей ниже нормы (менее 50 м/с) отмечается по локтевому нерву и малоберцовому нервам (табл. 3).

При анализе ЭЭГ в группе обследованных в 100 % [95% ДИ 71,7–100] случаев выявлялись умеренно выраженные общемозговые изменения электроактивности. Характер умеренных изменений в работе мозга проявлялся через нерегулярность α -ритма, увеличение активности в диапазоне медленных волн (Δ -ритм) и наличия признаков, указывающих на вовлечённость стволовых отделов мозга, статистически значимо чаще регистрируемых в основной группе (табл. 4).

У пациенток с ПКС обнаружено снижение мощности основного нормального α -ритма ($p = 0,01$). Увеличилась частота встречаемости патологических колебаний, преимущественно в Δ -диапазоне ($p = 0,05$). Зафиксированы изменения в интегральных характеристиках ЭЭГ, уменьшилось соотношение $\alpha/\beta 1$ -ритмов ($p = 0,02$).

ТАБЛИЦА 1
ОСНОВНЫЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ И ПСИХОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ, (%)

TABLE 1
MAIN NEUROLOGICAL AND PSYCHOPATHOLOGICAL SYNDROMES (%)

Основные психопатологические синдромы	Количество пациентов, n=225
Генерализованное тревожное расстройство	1,7
Тревожно-фобическое расстройство	1,3
Тревожно-депрессивное расстройство	1,7
Тревожные расстройства	1,3
Депрессивные расстройства	5,3
Ипохондрическое расстройство	1,3
Панические атаки	3,5
Неврастения	1,7
Диссомния	9,3
Когнитивные нарушения	
Легкие	49,3
Умеренные	13,3
Выраженные	2,6
Эмоционально-волевые нарушения	
Легкие	13,7
Умеренные	15,1
Выраженные	21,0
Полиневропатия конечностей	
	11,1

При качественном анализе ЭЭГ преобладала активность α - и β -диапазона. Низкоамплитудный тип ЭЭГ превалировал у 45,3 % [95% ДИ 20,2–72,8] пациенток. У 52,4 % [95% ДИ 25,8–79,2] обследованных регистрировались признаки дисфункции подкорковых структур. Дисфункция срединных структур верхнестебельного уровня выявлялась в 30,6 % [95% ДИ 10,4–61,1] случаев.

Когерентный анализ показал изменения в α -диапазоне: межполушарная когерентность в височных отведениях увеличилась, а когерентные связи в лобных отведениях ослабли (рис. 1).

У пациенток с ПКС наблюдалось снижение средних показателей когерентности в лобных долях мозга, в симметричных височных областях этот показатель повышался.

ТАБЛИЦА 2

ПОКАЗАТЕЛИ МОТОРНОГО КОМПОНЕНТА
ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ, Me (Q1–Q3)

TABLE 2

INDICATORS OF THE MOTOR COMPONENT
OF PERIPHERAL NERVES, Me (Q1–Q3)

Показатель, ед.изм.	Срединный нерв		
	Группа Covid-19, n=225	Группа сравнения, n=30	p
М-ответ, мВ	7,51 (6,61–8,64)	10,85 (5,50–12,50)	0,06
СПИп, м/с	65,15 (60,00–72,76)	73,30 (65,50–76,90)	0,0001
СПИл, м/с	56,55 (50,50–63,55)	64,05 (55,60–71,40)	0,0007
СПИд, м/с	50,50 (45,60–55,25)	57,72 (52,00–61,80)	0,0001
П/Д коэффициент	1,33 (1,20–1,45)	1,13 (1,10–1,24)	0,0002
РЛ, мс	2,81 (1,95–3,12)	1,8 (1,60–2,70)	0,7
Локтевой нерв			
М-ответ, мВ	7,76 (6,85–8,86)	9,92 (7,98–12,00)	0,0001
СПИп, м/с	60,50 (50,50–67,00)	61,76 (55,80–70,50)	0,2
СПИл, м/с	54,10 (48,10–61,00)	60,12 (55,80–60,00)	0,0002
СПИд, м/с	51,82 (48,32–54,70)	57,85 (52,80–60,0)	0,0001
П/Д коэффициент	1,33 (1,24–1,50)	1,12 (1,01–1,21)	0,0002
РЛ, мс	1,76 (1,43–2,04)	1,83 (1,43–2,23)	0,8
Большеберцовый нерв			
М-ответ, мВ	6,6 (5,45–8,35)	8,87 (6,80–10,80)	0,0001
СПИд, м/с	34,43 (32,70–42,72)	44,60 (42,50–48,50)	0,0002
РЛ, мс	2,04 (1,66–2,44)	2,10 (1,53–2,49)	0,7

Примечания: СПИп – СПИ в проксимальном отделе нервного ствола; СПИл – СПИ в области локтевого сгиба; СПИд – СПИ в дистальном отделе нервного ствола; П/Д коэффициент – проксимально-дистальный коэффициент (соотношение СПИп к СПИд); РЛ – резидуальная латентность.

ТАБЛИЦА 3

ПОКАЗАТЕЛИ СЕНСОРНОГО КОМПОНЕНТА
ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ, Me (Q1–Q3)

TABLE 3

PARAMETERS OF THE SENSORY COMPONENT
OF PERIPHERAL NERVES, Me (Q1–Q3)

Показатель, ед.изм.	Группа с ПКС, n=225	Группа сравнения, n=30	p
	Срединный нерв		
Сенсорный ответ (мкВ)	7,54 (6,32–12,76)	8,28 (4,43–10,12)	0,0002
СПИД (м/с)	50,20 (41,15–54,20)	59,00 (54,30–62,50)	0,0001
	Локтевой нерв		
Сенсорный ответ (мкВ)	6,20 (5,84–8,12)	6,58 (5,45–7,21)	0,0002
СПИД (м/с)	47,40 (45,50–55,00)	57,10 (56,80–60,00)	0,0002
	n. Suralis		
Сенсорный ответ (мкВ)	7,33 (5,6–9,1)	6,91 (5,39–7,37)	0,9
СПИД (м/с)	47,80 (44,25–56,90)	58,90 (55,60–61,60)	0,0002

Примечания: СПИд – СПИ в дистальном отделе нервного ствола.

Когнитивные и эмоционально-волевые нарушения находили подтверждение не только на основе клинических исследований, но и в результате нейропсихологического тестирования. Пациентки сообщали о проблемах с когнитивными функциями: у них ухудшилась память, снизилась концентрация внимания, увеличилась утомляемость и уменьшилась работоспособность без каких-либо видимых причин. Наблюдалось снижение мотивации, в стрессовые моменты они испытывали трудности с формулировкой мыслей.

Нейропсихологическое исследование выявило изменения показателей, отражающих затруднения в выполнении заданий и характеризующих нарушения слухоречевой кратковременной и долговременной памяти (тест «10 слов»), межполушарных двигательных координаций (табл. 5). Согласно показателям шкалы МоСА, при ПКС наблюдается легко выраженное когнитивное снижение (при норме 26–30 баллов) по сравнению с группой сравнения (25,0 (24,0–26,0) и 28,0 (27,0–29,0) баллов соответственно).

Полученные количественные данные по методике «Корректирующая проба» и наблюдение показали, что неустойчивость внимания у пациенток имеют индивидуальные формы проявления. Так у 11,5[6,0–16,9] %

обследованных отмечалось максимальное напряжение и достаточная работоспособность по сравнению с респондентами группы сравнения. У 74 % респондентов группы сравнения выявлен достаточный объем внимания (869,0 (757,00–1201,00) и у 62 % обследованных отмечалось менее 5 ошибок в отмеченных / пропущенных буквах, что может указывать на наличие устойчивости внимания и достаточной работоспособности респондентов. При этом у более половины пациенток, переболевших COVID-19 (87 %), при выполнении задания выявлен малый объем внимания (735,0 (498,00–1085,00) знаков), отмечались жалобы на усталость, большую нагрузку на зрение, трудности при переходе от одной строки к другой, что может указывать на наличие истощаемости, трудности переключения, распределения и колебания внимания, низкую работоспособность. У 42 % обследованных выявлено большое количество ошибочно отмеченных и пропущенных букв (7,00 (2,00 10,00, абс.), что характеризует низкий уровень концентрации внимания (табл. 6).

Исследование уровня целенаправленности мышления, умения понимать и оперировать переносным смыслом текста, дифференцированности и целенаправленности суждений с помощью методики

ТАБЛИЦА 4

ИЗМЕНЕНИЯ ПО ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЕ
У ПАЦИENTOK C ПКС И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ

TABLE 4

CHANGES IN THE ELECTROENCEPHALOGRAM
IN FEMALE PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME
AND THE CONTROL GROUP

Диффузные изменения		Низкоамплитудная ЭЭГ	Дисфункция верхнестебельных структур	Дисфункция подкорковых структур
Абс.	%			
225 женщин с ПКС	100	45,3	30,6	52,4
30 женщин контрольной группы	100	13,3	6,6	16,6
<i>p</i>		0,003	0,0001	0,004

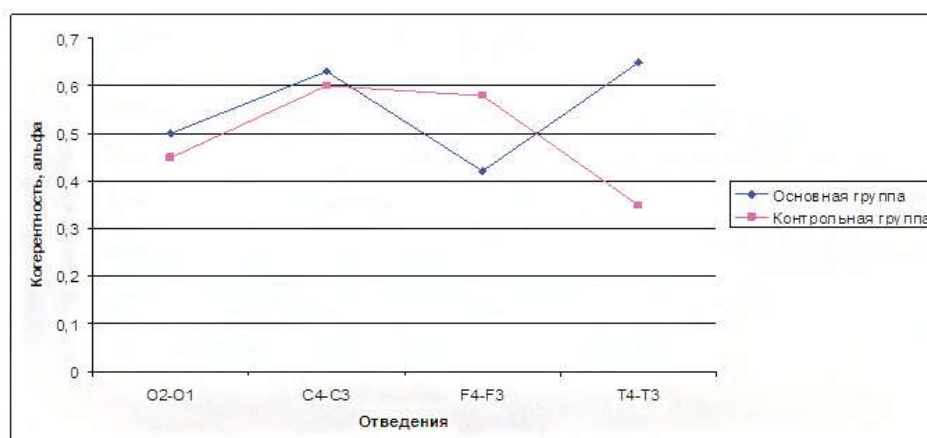


РИС. 1.

Изменение межполушарных отношений в основной и контрольной группах

FIG. 1.

Changes in interhemispheric relationships in the main and control groups

«Толкование пословиц», а также наблюдение, включая фиксацию ответов на уточняющие вопросы, показало, что у 30 % обследованных в суждениях доминировали непосредственные представления о предметах и явлениях, оперирование общими признаками замечалось установлением сугубо конкретных связей между предметами, а единичные, ошибочные суждения не всегда подвергались коррекции, в виде несогласия с экспериментатором, отстаивая свою точку зрения. Отмечалась недостаточная способность испытуемых к абстрагированию, возможности образования новых понятий, что может указывать на преобладание конкретно-действенного типа мышления, при этом, у таких пациентов может страдать целенаправленность мыслительной деятельности и частично критичность мышления. У остальных (70 %) таких особенностей мышления не выявлено.

Полученные результаты особенностей когнитивных функций (памяти, внимания и мышления) показали отклонения от нормы и могут дополнительно влиять на состояние эмоциональной сферы [28, 29], сопровождаемое прежде всего чувством тревоги [30], как одно из распространенных неспецифических феноменов,

входящих в структуру как психопатологических, так и соматических расстройств [31]. Большинство исследователей сообщают о высоком уровне тревоги, депрессии у перенесших COVID-19 пациентов [28].

С помощью шкалы HADS определен повышенный уровень субклинической тревоги, как реакция организма на стресс у 20,1 [14,4–28,4] % обследованных, у респондентов контрольной группы – у 10,0 [7,4–14,5] %, уровень клинической тревоги – у 10,2 [4,5–14,8] % обследованных, у группы сравнения уровень клинической тревоги не был выявлен ни у кого из респондентов. Уровень клинической тревоги в дальнейшем может привести к развитию состояния депрессии, так как она развивается как результат вытеснения тревоги, возникающей в ответ на несоответствие требований социальной среды индивидуально-психологическим характеристикам личности [30]. Наличие субклинической и клинически выраженной депрессии установлено у 11,2 [5,0–16,2] % и 7,3 [2,8–11,9] % соответственно, обследованных, в группе сравнения у 6,7 % респондентов определен только уровень субклинической депрессии. Полученные результаты могут свидетельствовать о наличии у пациенток, переболевших COVID-19,

ТАБЛИЦА 5
СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ
НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
У ПАЦИЕНТОК С ПКС, Ме (Q1–Q3)

Нейропсихологические показатели, баллы	Группа с ПКС, n=225	Группа сравнения, n=30	p
Показатель теста «10 слов» (слухоречевая кратковременная память)	2,5 (0–3,0)	0,0 (0,0–1,0)	0,001
Показатель теста «10 слов» (долговременная память)	2,5 (2,0–3,0)	2,0 (1,0–2,0)	0,041
Показатель пробы Озерецкого (реципрокной координация)	1,5 (0–2,0)	0,3 (0,0–1,0)	0,003

TABLE 5
STATISTICALLY SIGNIFICANT
NEUROPSYCHOLOGICAL INDICATORS IN FEMALE
PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME, Me (Q1–Q3)

ТАБЛИЦА 6
ВЫРАЖЕННОСТЬ НАРУШЕНИЙ И ПОКАЗАТЕЛИ
АТТЕНЦИОННОЙ СФЕРЫ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ,
ВКЛЮЧАЮЩИХ УРОВЕНЬ НАРУШЕНИЙ (%), ОБЪЕМ
(ЗНАКИ) И КОНЦЕНТРАЦИЮ ВНИМАНИЯ (АБС.)

Показатель		Группа с ПКС (n=225) Группа сравнения (n=30)
Объем внимания, знаки	Me(Q1–Q3)	735,0 [498,00–1085,00] 869,0 [757,00–1201,00]*
Кол-во ошибок, абс.	Me(Q1–Q3)	7,00 [2,00–10,00] 5,00 [1,00–6,00]*
Внимание	% [ДИ]	норма 11,1 [6,1–16,5] 66,6 [52,7–76,5]*
		умеренное снижение 67,1 [59,6–75,5] 30,0 [22,5–36,2]*
		нарушения 21,8 [12,5–27,7] 3,4 [1,2–4,8]*

Примечания: над чертой – данные группы с ПКС; под чертой – контрольной группы, * – различия статистически значимы, $p \leq 0,05$.

TABLE 6
SEVERITY OF DISORDERS AND INDICATORS OF THE
ATTENTION DOMAIN, INCLUDING THE LEVEL
OF DISORDERS (%), VOLUME (SYMBOLS), AND
CONCENTRATION OF ATTENTION (ABS.)

таких отрицательных эмоций как беспокойство, озабоченность, пессимизм, скептицизм, неуверенность в своих возможностях, наличие дисгармонии пациентов со средой, влияющих на качество жизни и связанных со здоровьем (табл. 7).

Эмоционально-личностная сфера деятельности — сложная по структуре составляющая психической деятельности человека, выполняющая ряд важных функций, в том числе регулирующую, придающую пристрастность и осмысленность нашим действиям, которые зависят от наличия ресурсов для удовлетворения потребностей, вследствие чего возникают или положительные или отрицательные эмоции. Отрицательные негативные эмоции, такие как тревога, страх, гнев, сомнения, раздражительность и др. могут в значительной степени влиять на состояние здоровья и вызывать угнетение болезненного состояния в виде астенизации. По данным ШАС, легкая астения зарегистрирована у 28,2 % пациенток с ПКС, а в группе сравнения — у 16,7 %, тогда как умеренные проявления выявлены у 10,7 %, а у респондентов группы сравнения — у 3,3 %.

Диагностика астенического состояния по методике ШАС показала у 28,2 [20,5–36,0] % обследованных слабую астению. У 10,7 [5,4–16,0] % определена умеренная астения, свидетельствующая о наличии болезненного состояния, проявляющаяся повышенной утомляемостью и истощаемостью. Клиническая картина женщин с ПКС включает умеренные колебания настроения, ослабление самоконтроля, повышенную раздражительность и моторную беспокойность. Дополнительно отмечаются нарушения сна и сниженная выносливость при длительном умственном и физическом напряжении.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наши исследования выявили, что постковидный синдром у женщин часто сопровождается поражением центральной нервной системы, в виде легких когнитивных нарушений и эмоционально-волевых расстройств, а также астено-депрессивных и тревожно-депрессивных симптомов.

Эмоционально-личностная сфера обеспечивает важные функции, в том числе регулирующую. Благодаря этой сфере наши действия становятся пристрастными и осмысленными и зависят от наличия ресурсов, удовлетворяющих потребности, что и формирует положительные или отрицательные эмоции. Отрицательные эмоции, такие как тревога, страх, гнев, сомнения и раздражительность, могут серьезно сказаться на здоровье человека и приводить к астенизации — состоянию, при котором организм истощается, что, в свою очередь, снижает качество жизни [28].

Полученные результаты также свидетельствуют о наличии таких долгосрочных осложнений как повышенная тревожность, состояние депрессии, ухудшение памяти и снижение объема внимания, нарушение концентрации внимания, нарушения сна, постоянное чувство недомогания и слабости, хроническая усталость и сниженная работоспособность. Данные итоги согласуются с результатами Thorsten Rudroff с соавт. (2020) [32] и дополняют их установленным нами фактом, что у женщин с ПКС происходит снижение физической и умственной работоспособности, возникающее в результате изменений центральных, психологических и периферических факторов.

Исходя из того, что постковидная нейропатия является осложнением коронавирусной инфекции, актуальным было проведение ЭНМГ обследования пациентов, перенесших COVID-19, предъявляющих жалобы нейропатического характера. Наше исследование показало, что выявляемые с помощью метода ЭНМГ изменения затрагивают как чувствительные, так и двигательные нервные волокна. Установленные нарушения регистрируются зачастую и на верхних и на нижних конечностях. Чаще встречаются сочетанные сенсомоторные повреждения. Несмотря на то, что у 11,1 % пациенток с ПКС установлен диагноз полиневропатия конечностей, дистальный тип, преимущественно с сенсорными нарушениями, снижение СПИ по аксонам периферических нервов отмечалось более чем в 80 % случаев. Жалобы на боли нейропатического характера предъявляли 72 % обследованных, туннельные невропатии у обследованных не встречались. Возможно, полученные результаты подтверждают тот факт, что периферические

ТАБЛИЦА 7
ПОКАЗАТЕЛИ HADS, n=225

Показатель		Группа с ПКС (n=225) Группа сравнения (n=30)	
Субклиническая тревога	% [ДИ]	Есть	20,1 [14,4–28,4] 6,6 [2,1–7,4]*
Субклиническая депрессия	% [ДИ]	Есть	11,2 [5,0–16,2] 3,3 [0–4,5]*
Клиническая тревога	% [ДИ]	Есть	10,2 [4,5–14,8] 3,3 [0–4,5]*
Клиническая депрессия	% [ДИ]	Есть	7,3 [2,8–11,9] 0*

Примечания: над чертой – данные группы с ПКС; под чертой – контрольной группы. * – различия статистически значимы, $p \leq 0,05$.

TABLE 7
HADS SCORES, n=225

нервы могут являться точкой приложения патогенетического воздействия вируса COVID-19, что согласуется с данными литературы [16, 28, 31].

Целесообразно динамическое ЭНМГ-наблюдение за развитием патологического процесса в периферических нервах, проявляющегося в виде снижения СПИ и коррекции (при необходимости) программы лечения и реабилитации. Все перечисленное позволит разработать индивидуальное комплексное лечение с учетом степени поражения периферических нервов у пациентов с ПКС.

Расстройства обоняния и вкуса стойкие (от 3 месяцев и более) также были частыми проявлениями у пациенток с ПКС, по данным нашего обследования, расстройство обоняния встречалось у 85% обследованных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основными клиническими проявлениями постковидного синдрома у женщин являются астения различной степени выраженности, когнитивные и эмоционально-волевые нарушения с тревожно-депрессивным компонентом, расстройство сенсорных функций – обоняния и вкуса, снижение скорости проведения импульса по периферическим нервам.

У пациенток с постковидным синдромом диагностированы изменения в когнитивной сфере, проявляющиеся нарушением показателей, характеризующих кратковременную (слухоречевую) и долговременную память, реципрокную координацию, внимание.

Финансирование

Финансирование осуществлялось в рамках выполнения Государственного задания по поисковым научным исследованиям.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Здравоохранение в России. 2021: Стат. сб.* М.: Росстат, 2021: – 171 с. [*Healthcare in Russia. 2021: Statistical Bulletin.* М.: Rosstat, 2021: – 171 p].
2. *Здравоохранение в России. 2023: Стат. сб.* М.: Росстат, 2023: – 179 с. [*Healthcare in Russia. 2023: Statistical Bulletin.* М.: Rosstat, 2023: – 179 p].
3. Leven Y, Bösel J. Neurological manifestations of COVID-19 – an approach to categories of pathology. *Neurol Res. Pract.* 2021; 3(1): 39. doi: 10.1186/s42466-021-00138-9
4. Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Бойко А.Н., и др. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и поражение нервной системы: механизмы неврологических расстройств, клинические проявления, организация неврологической помощи. *Журнал неврологии и психиатрии* им. С.С. Корсакова. 2020; 120(6): 716. [Gusev EI, Martynov MYu, Boyko AN, et al. New Coronavirus Infection (COVID-19) and Nervous System Damage: Mechanisms of Neurological Disorders, Clinical Manifestations, and Organization of Neurological Care. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2020; 120(6): 7–16. (In Russ.). doi: 10.17116/jnevro20201200617

5. Ellul MA, Benjamin L, Singh B, Lant S, Michael BD, Easton A, et al. Neurological associations of COVID-19. *Lancet Neurology.* 2020; 19(9): 767–783. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30221-0
6. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Sperhake JP, Schröder AS, Edler C, et al. Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. *Lancet Neurology.* 2020; 19(11): 919–929. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30308-2
7. Panciani PP, Saraceno G, Zanin L, Renisi G, Signorini L, Battaglia L, et al. SARS-CoV-2: “three-steps” infection model and CSF diagnostic implication. *Brain, Behavior, and Immunity.* 2020; 87: 128–129. doi: 10.1016/j.bbi.2020.05.002
8. Andalib S, Biller J, Di Napoli M, Moghimi N, McCullough LD, Rubinos C.A, et al. Peripheral nervous system manifestations associated with COVID-19. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 2021; 21(3): 9. doi: 10.1007/s11910-021-01102-5
9. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The role of cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. *Autoimmunity Reviews.* 2020; 19(6): 102537. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102537
10. Тепеева А.Р. Неврологические проявления COVID-19. *Научное обозрение. Медицинские науки.* 2021; 3: 69–73. [Tepseeva AR. Neurological manifestations of COVID-19. *Scientific Review. Medical Sciences.* 2021; 3: 69–73. (In Russ.).]
11. Najafloo R, et al. Mechanism of Anosmia Caused by Symptoms of COVID-19 and Emerging Treatments. *ACS Chem Neurosci.* 2021; 12(20): 3795–3805. doi: 10.1021/acscchemneuro.1c00477
12. Деева М.В., Балежина Е.В., Ахметьянов М.А. Постковидные неврологические нарушения: современное состояние проблемы. *Национальный вестник медицинских ассоциаций.* 2025; 2(1): 41–46. [Deeva MV, Balezina EV, Akhmetyanov MA. Post-COVID Neurological Disorders: Current State of the Problem. *National Bulletin of Medical Associations.* 2025; 2(1): 41–46. (In Russ.).]
13. Гуляев П.В., Реснянская С.В., Старовская И.В. Выявление постковидного синдрома у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики.* 2022; (2): 107. [Gulyaev PV, Resnyanskaya SV, Ostrovskaya IV. Detection of Post-Coronavirus syndrome in patients who have had a new Coronavirus infection. *Current problems of health care and medical statistics.* 2022; (2): 107. (In Russ.). doi: 10.24412/2312-2935-2022-2-107-128
14. Николаев Н.А., Драпкина О.М., Ливзан М.А. Исследование «МАРКИЗ»: скрининг постковидного син-

дрома с использованием анкеты выявления симптомов и факторов риска неинфекционных заболеваний. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022; 21(12): 3484. [Nikolaev NA, Drapkina OM, Livzan MA, et al. MARKIZ study: screening for post-COVID-19 syndrome using a questionnaire to identify symptoms and risk factors for noncommunicable diseases. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022; 21(12): 3484. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1728-8800-2022-3484

15. Yong ShJ. Long COVID or post-COVID19 syndrome: Putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infectious diseases*. 2021; 53(10): 737–754. doi: 10.1080/23744235.2021.1924397

16. COVID-19: опыт российской медицины: в 4 томах / гл. ред. В.И. Стародубов. – М.: Изд-во ООО «ГРУППА РЕМЕДИУМ», 2025; 1: Общие данные о COVID-19 / под ред. В.Г. Акимкина, С.И. Колесникова. – 484 с. [COVID-19: the experience of Russian medicine: in 4 volumes / ed.-in-chief V.I. Starodubov. – M.: Publishing house of ООО "GRUPPA REMEDIUM", 2025 – Vol. 1: General data on COVID-19 / edited by V.G. Akimkin, S.I. Kolesnikov. – 484 p. (In Russ.)].

17. Ахмеджанова Э.Р. Психологические тесты. – Москва: Изд-во ТОО «Фирма «Светотон», 1995; 318: 15. [Akhmedzhanova ER. *Psychological Tests*. – Moscow: Svetoton Firm LLC Publishing House, 1995; 318: 15. (In Russ.)].

18. Чучалин А.Г., Аметов А.С., Арутюнов Г.П. и др. Вопросник для первичной самооценки здоровья пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию: Рекомендации Междисциплинарного совета экспертов по проведению скрининга симптомов постковидного периода при углубленной диспансеризации. *Пульмонология*. 2021; 31(5): 599–612. [Chuchalin AG, Ametov AS, Arutyunov GP, et al. Questionnaire for the primary self-assessment of the health of patients who have had a new coronavirus infection: Recommendations of the Interdisciplinary Council of Experts on conducting screening of symptoms of the post-COVID period during advanced medical examination. *Pulmonology*. 2021; 31(5): 599–612. (In Russ.)]. doi: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-599-612

19. Танащян М.М., Кузнецова П.И., Раскуражев А.А. Неврологические аспекты COVID-19. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2020; 14(2): 62–69. [Tanashyan MM, Kuznetsova PI, Raskurazhev AA. Neurological Aspects of COVID-19. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2020; 14(2): 62–69. (In Russ.)]. doi: 10.25692/ACEN.2020.2.8

20. Щепанкевич Л.А., Архипов И.Е., Полянская В.В., Веретельников И.А., Танеева Е.В., Рерих К.В. Постковидное поражение нервной системы (собственный опыт). *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023; 17(1): 82–86. [Shchepankevich LA, Arkhipov IE, Polyanskaya VV, Veretelnikov IA, Taneyeva EV, Roerich KV. Post-COVID Damage of Nervous System: Personal Experience. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023; 17(1): 82–86. (In Russ.)]. doi: 10.54101/ACEN.2023.1.10

21. Гнездицкий В.В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография. М.: МЕДпресс-информ. 2004; 624 с. [Gnezditsky VV. *The inverse problem of EEG*

and clinical electroencephalography. M.; MEDpress-inform, 2004; 624 p. (In Russ.)].

22. Хомская Е.Д. Нейропсихология: 4-е издание. Питер: Санкт-Петербург, 2007; 496 с. [Khomskaya ED. *Neuropsychology: 4th Edition*. Peter: St. Petersburg, 2007; 496 p. (In Russ.)].

23. Комиссарова Н.В. и др. Оценка когнитивных функций по шкале МоСА у пациентов эндокринологического и кардиологического профилей. *Вестник медицинского института «Реавиз». Реабилитация, Врач и Здоровье*. 2021; 2(50): 106–112. [Komissarova NV, et al. Assessment of cognitive functions using the MoCA scale in patients with endocrinological and cardiological profiles. *Bulletin of the Reaviz Medical Institute. Rehabilitation, Doctor and Health*. 2021; 2(50): 106–112. (In Russ.)]. doi: 10.20340/vmi-rvz.2021.2.CLIN.10

24. Менделевич В.Д. Клиническая и медицинская психология: практическое руководство. – М.: Медпресс, 1999; 592 с. [Mendelevich VD. *Clinical and Medical Psychology: A Practical Guide*. – Moscow: Medpress, 1999; 592 p. (In Russ.)].

25. Бизюк А.П. Компендиум методов нейропсихологического исследования. Методическое пособие. – Санкт-Петербург: Речь. 2005; 400 с. [Bisyuk AP. *Compendium of Methods of Neuropsychological Research*. Methodological Guide - St. Petersburg: Rech. 2005; 400 p. (In Russ.)].

26. Zigmond AS, Snaith RP. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1983; 67(6): 361–370. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x

27. МКБ-11. Глава 06. Психические и поведенческие расстройства и нарушения нейропсихического развития. Статистическая классификация. – М.: «КДУ», «Университетская книга» / под ред. Костюк Г.П. – 2021; 432 с. [ICD-11. Chapter 06. Mental and behavioural disorders and neurodevelopmental disorders. Statistical classification. – Moscow: KDU, Universitetskaya Kniga / Ed. by G.P. Kostyuk. – 2021; 432 p.]. doi: 10.31453/kdu.ru.91304.0143

28. Ellul MA, Benjamin L, Singh B, Lant S, Michael BD, Easton A, et al. Neurological associations of COVID-19. *Lancet Neurology*. 2020; 19(9): 767–783. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30221-0

29. Lambert NJ, Survivor Corps. COVID-19 «Long Hauler» Symptoms Survey Report. *Indiana University School of Medicine*. 2020. URL: <https://dig.abclocal.go.com/wls/documents/2020/072720-wls-covid-symptom-study-doc.pdf> [accessed July 12, 2021].

30. Beaud V, Crottaz-Herbette S, Dunet V, et al. Pattern of cognitive deficits in severe COVID-19. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021; 92 (5): 567–568. doi: 10.1136/jnnp-2020-325173

31. Fernandez-de-las-Peñas C, Palacios-Ceña D, Gomez-Mayordomo V, et al. Long-term post-COVID symptoms and associated risk factors in previously hospitalized patients: a multicenter study. *J Infect*. 2021; 83(2): 237–279. doi: 10.1016/j.jinf.2021.04.036

32. Rudroff Th, Fietsam AC, Deters JR, Bryant AD, Kamholz J. Post-COVID-19 Fatigue: Potential Contributing Factors. *Brain Sci*. 2020; 10: 1012. doi: 10.3390/brainsci10121012

Сведения об авторах

Катаманова Елена Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, главный врач клиники ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: katamanova_e_v@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9072-2781>

Сливницына Наталья Валерьевна – кандидат медицинских наук, заведующая неврологическим отделением клиники ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: knvspi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8984-2452>

Васильева Лариса Сергеевна – заведующая отделением физической и реабилитационной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: lorik.shalamova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5643-441X>

Русанова Дина Владимировна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профессиональной и экологически обусловленной патологии ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: dina.rusanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1355-3723>

Протасова Елена Николаевна – кандидат медицинских наук, заведующий отделением функциональной диагностики ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: kor.052@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9247-4072>

Шевченко Оксана Ивановна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профессиональной и экологически обусловленной патологии ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: oich68@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4842-6791>

Лакман Олег Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, директор ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; e-mail: lakhman_o_l@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0013-8013>

Information about the authors

Elena V. Katamanova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Physician of the Clinic of the East Siberian Institute of Medical and Ecological Research; e-mail: katamanova_e_v@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9072-2781>

Natalya V. Slivnitsyna – Cand. Sc. (Med.), head of the Neurological Department of the Clinic of the East Siberian Institute of Medical and Ecological Research; e-mail: knvspi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8984-2452>

Larisa S. Vasilyeva – head of the Department of Physical and Rehabilitation Medicine, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research, e-mail: lorik.shalamova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5643-441X>

Dina V. Rusanova – Dr. Sc. (Biol.), Senior Researcher of the Laboratory of Professional and Environmentally Caused Pathology, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research; e-mail: dina.rusanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1355-3723>

Elena N. Protasova – Cand. Sc. (Med.), head of the Laboratory of Functional Diagnostics, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research; e-mail: kor.052@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9247-4072>

Oksana I. Shevchenko – Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the laboratory of professional and environmentally conditioned pathology, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research; e-mail: oich68@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4842-6791>

Oleg L. Lakhman – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor of the RAS, Director of the East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research; e-mail: lakhman_o_l@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0013-8013>

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

РЕФРАКЦИОННЫЕ ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ КАРТЫ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ОПТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ГЛАЗА С ИОЛ СЛОЖНОГО ДИЗАЙНА

Розанова О.И.^{1,2},
Цыбжитова Б.А.¹

¹ Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ
«МНТК «Микрохирургия глаза»
им. акад. С.Н. Федорова» Министерства
здравоохранения Российской
Федерации (664033, г. Иркутск,
ул. Лермонтова, д. 337, Россия)

² ИГМАПО – филиал ФГБОУ ДПО
«Российская медицинская академия
непрерывного профессионального
образования» Министерства
здравоохранения Российской
Федерации (664049, г. Иркутск,
м-н Юбилейный, д. 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Розанова Ольга Ивановна

e-mail: nauka.mntk.irkutsk@mail.ru,
olgrozanova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Объективная оценка послеоперационной рефракции глаза у пациентов с имплантированными интраокулярными линзами (ИОЛ), имеющими зоны аддидации или модифицированный профиль волнового фронта, обычными методами затруднена.

Цель исследования. Проанализировать диагностическую информативность метода объективного рефракционного топографического картирования глаза у пациентов с ИОЛ сложного оптического дизайна.

Материал и методы. Были обследованы 198 пациентов (средний возраст $66,4 \pm 7,8$ лет) с различными типами ИОЛ: монофокальными, мультифокальными, с расширенным диапазоном фокуса. Критерии включения в исследование: отсутствие грубой патологии роговицы, стекловидного тела, сетчатки и зрительного нерва, длительность послеоперационного периода наблюдения 6 месяцев и более. Критерии исключения: острота зрения без коррекции вдаль 0,7 и ниже, фиброз и складки задней капсулы хрусталика. После оценки на соответствие критериям протокола и случайного выбора одного глаза у каждого участника для анализа было отобрано 192 глаза. Латеральность (правый или левый глаз) определялась методом простой рандомизации. Всем больным проведено всестороннее офтальмологическое обследование, включавшее объективный осмотр, визометрию, тонометрию, вычисление глубины фокуса (ГФ) по кривой дефокусировки (диапазон диоптрий, при котором острота зрения сохраняется не ниже 0,5), aberromетрию волнового фронта (Peramis, SCHWIND eye-tech-solutions GmbH, Германия) с построением рефракционных топографических карт (РТК) и вычислением индекса рефракционной неоднородности (ИРН).

Результаты. Построение РТК показало распределение рефракционных показателей по всей площади сканирования, наличие отдельных зон аддидации на глазах с мультифокальными ИОЛ и ИОЛ с расширенным диапазоном фокуса. Установлены достоверные различия в значениях ИРН между группами ($H(7) = 46,24$, $p = 0,0001$) и различный уровень его согласованности с ГФ.

Заключение. Метод пирамидально сенсорной aberromетрии с рефракционным топографическим картированием является высокоинформативным направлением в объективной оценке оптической системы глаза у пациентов с ИОЛ сложного дизайна, и может стать основой для развития персонализированной хирургии катаракты.

Ключевые слова: хирургия катаракты, интраокулярные линзы для коррекции пресбиопии, мультифокальные линзы, линзы с расширенной глубиной фокуса, aberromетрия глаза, качество оптической системы глаза

Статья поступила: 19.02.2026

Статья принята: 09.09.2026

Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Розанова О.И., Цыбжитова Б.А. Рефракционные топографические карты в оценке качества оптической системы глаза с ИОЛ сложного дизайна. Acta biomedica scientifica. 2026; 11(4): 157-165. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.16

REFRACTIVE TOPOGRAPHIC MAPS IN ASSESSING THE QUALITY OF THE OCULAR OPTICAL SYSTEM WITH COMPLEX-DESIGN IOLs

**Rozanova O.I.^{1,2},
Tsybzhitova B.A.¹**

¹ Irkutsk Branch of S. Fyodorov "Eye Microsurgery" Federal State Institution (Lermontov str., 337, Irkutsk 664033, Russian Federation)

² Irkutsk state medical academy of postgraduate education – branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation (Yubileinii dstr., 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author:

Olga I. Rozanova

e-mail: nauka.mntk.irkutsk@mail.ru,
olgrozanova@gmail.com

ABSTRACT

Objective assessment of postoperative eye refraction in patients with implanted intra-ocular lenses (IOLs) featuring addition zones or a modified wavefront profile is challenging using conventional methods.

Aim. To analyze the diagnostic value of the method of objective refractive topographic mapping of the eye in patients with IOLs of complex optical design.

Material and Methods. A total of 198 patients (mean age 66.4 ± 7.8 years) with various types of IOLs – monofocal, multifocal, and extended depth of focus lenses were initially screened. Inclusion criteria: the absence of pathology of the cornea, vitreous, retina, or optic nerve; a postoperative follow-up period of six months or more. Exclusion criteria: uncorrected distance visual acuity of 0.7 or worse, opacity or folds of the posterior lens capsule. After applying inclusion and exclusion criteria and performing random eye selection (right or left) for eligible participants, 192 eyes were included in the final analysis. One eye per subject was chosen at random to avoid inter-eye correlation. All patients underwent a comprehensive ophthalmological examination, including objective assessment, visometry, tonometry, depth of focus (DoF) calculation based on the defocus curve (the diopter range within which visual acuity remains no lower than 0.5), wavefront aberrometry (Peramis, SCHWIND eye-tech-solutions GmbH, Germany) with refractive topographic map (RTM) construction and calculation of the refractive inhomogeneity index.

Results. The construction of RTMs revealed the distribution of refractive indicators across the entire scanning area and the presence of distinct addition zones in eyes with multifocal IOLs and extended depth of focus IOLs. Significant differences were found in the refractive inhomogeneity index values between groups ($H(7) = 46.24$, $p = 0.0001$) and varying levels of its consistency with DoF.

Conclusion. The method of pyramidal sensor-based aberrometry with refractive topographic mapping represents a highly informative approach for the objective assessment of the eye's optical system in patients with complex-design IOLs and could serve as a foundation for the development of personalized cataract surgery.

Keywords: cataract surgery, presbyopia-correcting intraocular lenses, multifocal lenses, extended depth of focus lenses, ocular aberrometry, quality of the ocular optical system

Received: 19.02.2026
Accepted: 09.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Rozanova O.I., Tsybzhitova B.A. Refractive topographic maps in assessing the quality of the ocular optical system with complex-design IOLs. *Acta biomeica scientifica*. 2026; 11(4): 157-165. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.16

ВВЕДЕНИЕ

Интраокулярные линзы (ИОЛ) играют решающую роль в восстановлении зрения миллионов людей при выполнении хирургического вмешательства по поводу катаракты, в ходе которого естественный хрусталик меняется на искусственный. В настоящее время хирургия хрусталика является методом реконструкции оптической системы глаза, с одновременным решением вопросов коррекции аметропии, роговичного астигматизма, утраченной аккомодации. Оптический дизайн ИОЛ — это постоянно развивающаяся область, в которой используются передовые оптические методы для оптимизации использования света и улучшения зрительного восприятия. Современные виды ИОЛ сложного оптического дизайна, так называемые ИОЛ премиум класса, могут формировать несколько фокусов (вдаль, на среднем расстоянии, вблизи), либо создавать изображение с пролонгированным фокусом. Наблюдается постоянное усложнение оптического дизайна: мультифокальные ИОЛ перешли от бифокальных к трифокальным конструкциям, от рефракционных к дифракционным, технология расширенного диапазона фокуса (или EDOF от англ. «enlarged depth of focus») решается за счет особого рефракционного профиля и недифракционной модификации волнового фронта, либо за счет дифракции [1, 2].

В настоящее время перед офтальмохирургом стоит задача не только выбора типа ИОЛ в зависимости от зрительных потребностей пациента и имеющихся анатомических параметров переднего отрезка глаза, но и точного расчета оптической силы ИОЛ с учетом всех специфических параметров её оптического дизайна для достижения целевого послеоперационного рефракционного результата. Расчетный и реальный клинический результаты полученной рефракции могут различаться в зависимости от анатомических параметров глаза, эффективной позиции ИОЛ, ее оптической силы, дизайна, материала, производителя, техники имплантации и множества других факторов [3–6]. Независимо от модели ИОЛ всегда есть доля пациентов, неудовлетворенных полученным зрением, что связано с проблемами нейроадаптации пациента к зрению с выбранным типом ИОЛ или с рефракционным результатом [7–10].

Объективная оценка послеоперационной рефракции глаза у пациентов с ИОЛ, имеющими зоны адаптации или модифицированный профиль волнового фронта, обычными методами затруднена. У пациентов с мультифокальными ИОЛ и ИОЛ с расширенным диапазоном фокуса результаты авторефрактометрии и инфракрасной aberрометрии показывают сдвиг в минусовую сторону в сферозквиваленте около 1,0–1,5 дптр [11], что может вести к неправильной интерпретации вплоть до назначения неадекватной очковой коррекции [12]. Послеоперационная рефракционная ошибка при имплантации мультифокальных ИОЛ и ИОЛ с расширенным диапазоном фокуса может приводить к неудовлетворенности полученным зрением. Так, при

анализе послеоперационной рефракции 17 000 глаз с мультифокальными ИОЛ, было выявлено, что эметропия была достигнута только в 55 % случаев из 100 % рассчитанных на эметропию [13]. Учитывая, что в расчет оптической силы ИОЛ берется целевая рефракция для дали, объективная диагностика достигнутой послеоперационной рефракции избирательно в зоне для дали на глазах с имплантированной ИОЛ с дальне-доминантной комбинированной конструкцией может стать основой для более точного прогнозирования результата хирургии катаракты и достижения более высоких зрительных функций. Информация о полученных послеоперационных ошибках рефракции у пациентов, которым была имплантирована конкретная ИОЛ, может повлиять на рефракционный результат будущих пациентов и склонить врача к использованию этой информации для корректировки константы формулы или использования других формул расчета ИОЛ [3].

С учетом данных фактов, актуальность разработки и внедрения в клиническую практику объективного метода оценки рефракции глаза у пациентов, которым были имплантированы ИОЛ сложного дизайна не вызывает сомнений. Ранее было показано, что построение рефракционных топографических карт (РТК) при выполнении пирамидально сенсорной aberрометрии дает возможность оценивать рефракционные ошибки избирательно на уровне интраокулярных структур, что является методом кастомизированной диагностики пациентов с артефакцией [14]. РТК могут стать инструментом для детализации всех рефракционных погрешностей у пациентов с имплантированными ИОЛ сложного оптического дизайна.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализировать диагностическую информативность метода объективного рефракционного топографического картирования глаза у пациентов с ИОЛ сложного оптического дизайна.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Были обследованы 198 пациентов (средний возраст $66,4 \pm 7,8$ лет), прооперированных в Иркутском филиале ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по поводу катаракты методом факэмульсификации с имплантацией различных моделей ИОЛ: Tecnis Eyhance ICB00, Johnson & Johnson; Acrysof IQ PanOptix TFNT, Alcon; M-flex 630 F, Rayner; Lentis LS-313 MF-15, Teleon Surgical BV; TECNIS Symphony ZXR00, Johnson & Johnson; Acrysof IQ Vivify DFT015, Alcon; LuxSmart, Baush&Lomb; Tecnis ZCB00, Johnson & Johnson. **Критерии включения в исследование:** отсутствие грубой патологии роговицы, стекловидного тела, сетчатки и зрительного нерва, длительность послеоперационного периода наблюдения 6 месяцев и более. **Критерии исключения:** острота

зрения без коррекции вдаль 0,7 и ниже, фиброз и складки задней капсулы хрусталика. После оценки на соответствие критериям протокола и случайного выбора одного глаза у каждого участника для анализа было отобрано 192 глаза. Латеральность (правый или левый глаз) определялась методом простой рандомизации.

Исследование соответствовало принципам Хельсинкской декларации, одобрено Локальным этическим комитетом (протокол № 13 от 23.12.2022 г.), информированное добровольное согласие получено от всех обследуемых. Всем больным проведено всестороннее офтальмологическое обследование, включающее объективный осмотр, визометрию, тонометрию, вычисление глубины фокуса (ГФ) по кривой дефокусировки (диапазон диоптрий, при котором острота зрения сохраняется не ниже 0,5), абберометрию волнового фронта с построением рефракционных топографических карт (РТК) (рис. 1.) и вычислением индекса рефракционной неоднородности (ИРН). На рисунке 1 представлен протокол топ-абберометрии на приборе Peramis (SCHWIND eye-tech-solutions GmbH, Германия). Обследование проводилось без расширения зрачка и после однократной инстилляцией комбинированного препарата Фенилэфрина 5 % и Тропирамида 0,8 % (Мидримакс, Sentiss, Индия). Величина ИРН соответствовала диапазону между минимальным и максимальным значением рефракции в центральной оптической зоне диаметром 3,0 мм, установленной с помощью активного передвижения джойстика и шкалы диоптрийности. Для каждого глаза сделаны независимые заключения исследователей, среднее значение диапазона разброса данных принято за ИРН.

Дизайн работы представлял собой последовательное сравнительное исследование серии случаев. Статистический анализ проведён с применением компьютерной программы Statistica 10.0. Для оценки нормальности данных использовался критерий Шапиро – Уилка. Количественные переменные с нормальным

распределением представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$), данные с отклонением от нормального распределения представлены как медиана и межквартильный размах ($Me, Q1-Q3$), где $Q1$ – первый квартиль (25-й процентиль), $Q3$ – третий квартиль (75-й процентиль). Межгрупповое сравнение проведено с применением критерия Краскелла – Уоллиса. Выполнен корреляционный анализ по Спирмену. Уровень статистической значимости установлен на $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов во всех группах установлены высокие показатели остроты зрения вдаль как без коррекции (НКОЗ), так и с коррекцией (МКОЗ). Статистический анализ с использованием критерия Краскелла – Уоллиса не выявил достоверных различий в данных показателях. Это свидетельствует о том, что у всех пациентов, вне зависимости от типа имплантированной ИОЛ, достигнут высокий потенциал разрешающей способности глаза вдаль.

Параметр ГФ продемонстрировал выраженные различия между группами ($H(7) = 55,13, p = 0,0001$). Как и ожидалось, наибольшая ГФ была зафиксирована у пациентов с трифокальными дифракционными ИОЛ (табл. 1), что соответствует их оптическому принципу формирования нескольких дискретных фокусов. Медианное значение ГФ у пациентов с ИОЛ Acrysof IQ PanOptix TFNT составило 3,5 дптр. Несколько меньшие значения ГФ (3,0 дптр) установлены у пациентов с бифокальными рефракционными ИОЛ. Группы пациентов с увеличенным диапазоном фокуса занимают промежуточное положение по уровню ГФ (2,5–3,0 дптр), отличаясь от показателей у пациентов с мультифокальными дифракционными и с монофокальными ИОЛ. Монофокальные ИОЛ с добавочной технологией

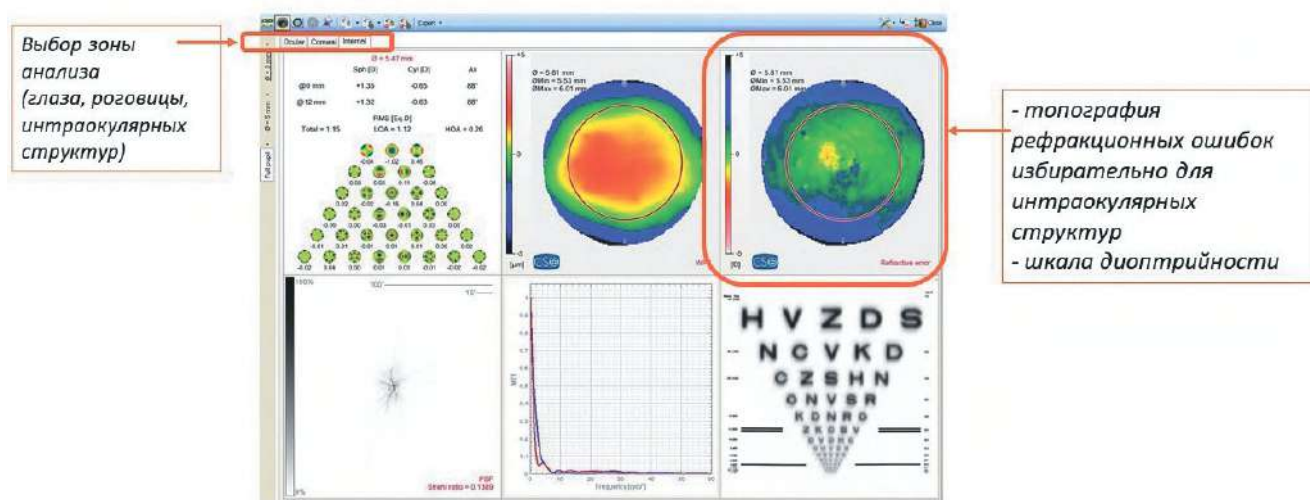


РИС. 1.
Протокол топ-абберометрии глаза с построением РТК

FIG. 1.
Ocular top aberrometry protocol with RTM construction

демонстрируют статистически и клинически значимый прирост ГФ по сравнению со стандартными монофокальными ИОЛ.

Далее был проведен анализ РТК с сопоставлением полученных изображений и оптического дизайна ИОЛ, вычислением рефракционной неоднородности при каждом типе ИОЛ. Установлено, что положение ИОЛ было правильным, центрированным по отношению к зрачку во всех случаях. В зависимости от типа ИОЛ диапазон разброса рефракционных ошибок в проекции зрачка значительно различался (рис. 2). Установлены достоверные различия ИРН между группами ($H(7) = 46,24, p = 0,0001$) и различный уровень его согласованности с ГФ.

Цветное картирование рефракционных ошибок показало их распределение по всей площади

сканирования, наличие отдельных зон с отклонением в рефракции. Были получены РТК, в полной мере отражающие зоны аддидации на глазах с мультифокальными ИОЛ и ИОЛ с расширенным диапазоном фокуса (рис. 3).

При монофокальной ИОЛ (рис. 3А) практически вся центральная зона является зеленой и соответствует согласно шкале диоптрийности эметропической рефракции. Медианное значение ИРН составило 2,42 дптр, межквартильный диапазон: $Q1 = 2,11$ дптр; $Q3 = 2,86$ дптр. При проведении корреляционного анализа по Спирмену согласованной взаимосвязи между ИРН и ГФ не установлено. При монофокальной ИОЛ с оптическим дизайном "Distance plus", за счет которого обеспечивается градиентное изменение оптической силы, в паттерне РТК присутствуют отдельные участки

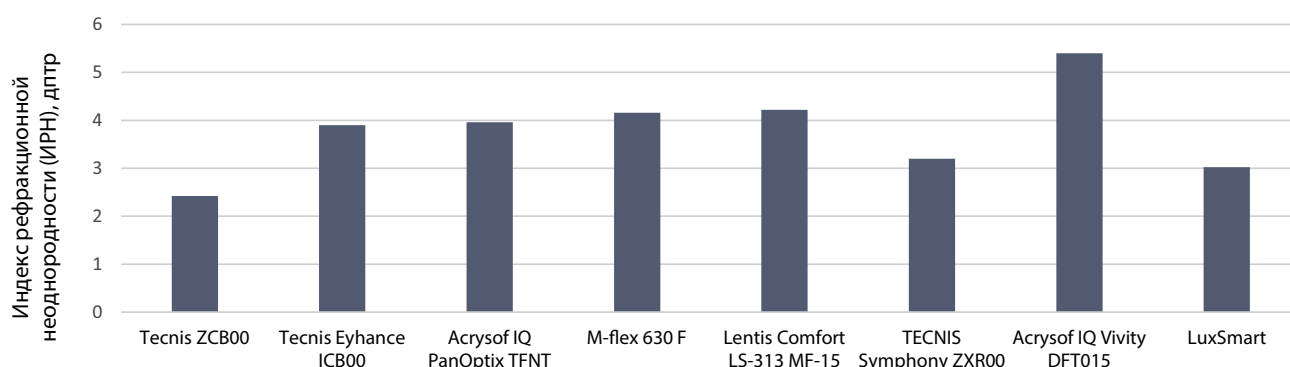


РИС. 2. Медианые значения показателя ИРН у пациентов с различными типами ИОЛ

FIG. 2. Median values of the refractive index inhomogeneity indicator in patients with different types of IOLs

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, ВКЛЮЧЕННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS INCLUDED IN THE STUDY

Тип ИОЛ	Кол-во глаз	Оптический дизайн ИОЛ	НКОЗ вдаль	ГФ, дптр
Tecnis ZCB00	30	Монофокальная	1,0 [0,9; 1,1]	1,15 [1,00;1,25]
Tecnis Eyhance ICB00	20	Монофокальная, модифицированный профиль передней поверхности "Distance plus"	1,0 [0,9; 1,1]	2,50 [2,00;2,50]
Acrysof IQ PanOptix TFNT	30	Трифокальная дифракционная	1,0 [0,9; 1,1]	3,50 [3,25;3,75]
M-flex 630 F	8	Бифокальная рефракционная, концентрический дизайн	0,8 [0,7; 0,8]	3,00 [2,75;3,25]
Lentis Comfort LS-313 MF-15	26	С увеличенным диапазоном фокуса, ротационно асимметричный дизайн	0,8 [0,4; 1,0]	2,50 [2,25;2,75]
TECNIS Symphony ZXR00	30	С увеличенным диапазоном фокуса, дифракционная, концентрический дизайн	1,0 [0,9; 1,2]	3,0 [2,80;3,50]
Acrysof IQ Vivity DFT015	18	С увеличенным диапазоном фокуса, X-WAVE дизайн	1,0 [0,9; 1,1]	3,0 [2,30;3,30]
LuxSmart	30	С увеличенным диапазоном фокуса, комбинация CA 4 и 6 порядков	0,9 [0,8; 1,0]	2,50 [2,25;2,75]
Критерий Краскелла – Уоллиса			$H(7)=0,56$ $p=0,904$	$H(7)=55,13$ $p=0,0001$

Примечание: CA – сферические аберрации.

миопической рефракции красного цвета в центральной оптической зоне (рис. 3Б), формируя разброс рефракционных ошибок от -7,4 дптр до 1,7 дптр. ИРН составил: Ме 3,91 дптр, Q1 3,34 дптр, Q3 4,63 дптр. Установлена прочная корреляционная взаимосвязь между ИРН и ГФ ($r = 0,673, p < 0,05$).

Рефракционная топография глаза была проанализирована на двух типах мультифокальных ИОЛ – рефракционных и дифракционных. Так, топография зон аддидации на глазах с рефракционными мультифокальными ИОЛ (*M-flex 630 F*) представлена в виде чередующихся концентрических оптических зон сильной рефракции. Паттерн РТК имеет четко разграниченные зоны красно-желтого цвета с миопической рефракцией от -1,0 до -3,5 дптр, формирующие изображение на близком расстоянии, и зеленовато-желтые участки с рефракционным индексом от 0 до 0,75 дптр,

формирующие изображение вдаль (рис. 3В). Значения ИРН были 4,16 дптр, Q1 3,20 дптр; Q3 5,08 дптр. Корреляционный анализ между ИРН и ГФ выявил достоверную зависимость ($r = 0,879, p < 0,05$). У пациентов с имплантированными дифракционными мультифокальными ИОЛ *Acrysof IQ PanOptix TFNT* РТК глаза отличаются четкой дифференциацией красных кольцевидных зон миопической аддидации, соответствующих расположению дифракционной решетки, и желто-зеленых зон эмметропии и слабой миопии, создающих оптический фокус вдаль (рис. 3Г). Разброс рефракционных ошибок в оптической зоне диаметром 3 мм составил от -4,1 дптр до 0,6 дптр. ИРН составил: Ме 3,96 дптр, Q1 3,21 дптр, Q3 4,85 дптр. Корреляционная взаимосвязь между ИРН и ГФ была недостоверной ($r = -0,462, p > 0,05$).

ИОЛ с расширенным диапазоном фокуса имеют разнообразный дизайн. Асимметричный оптический

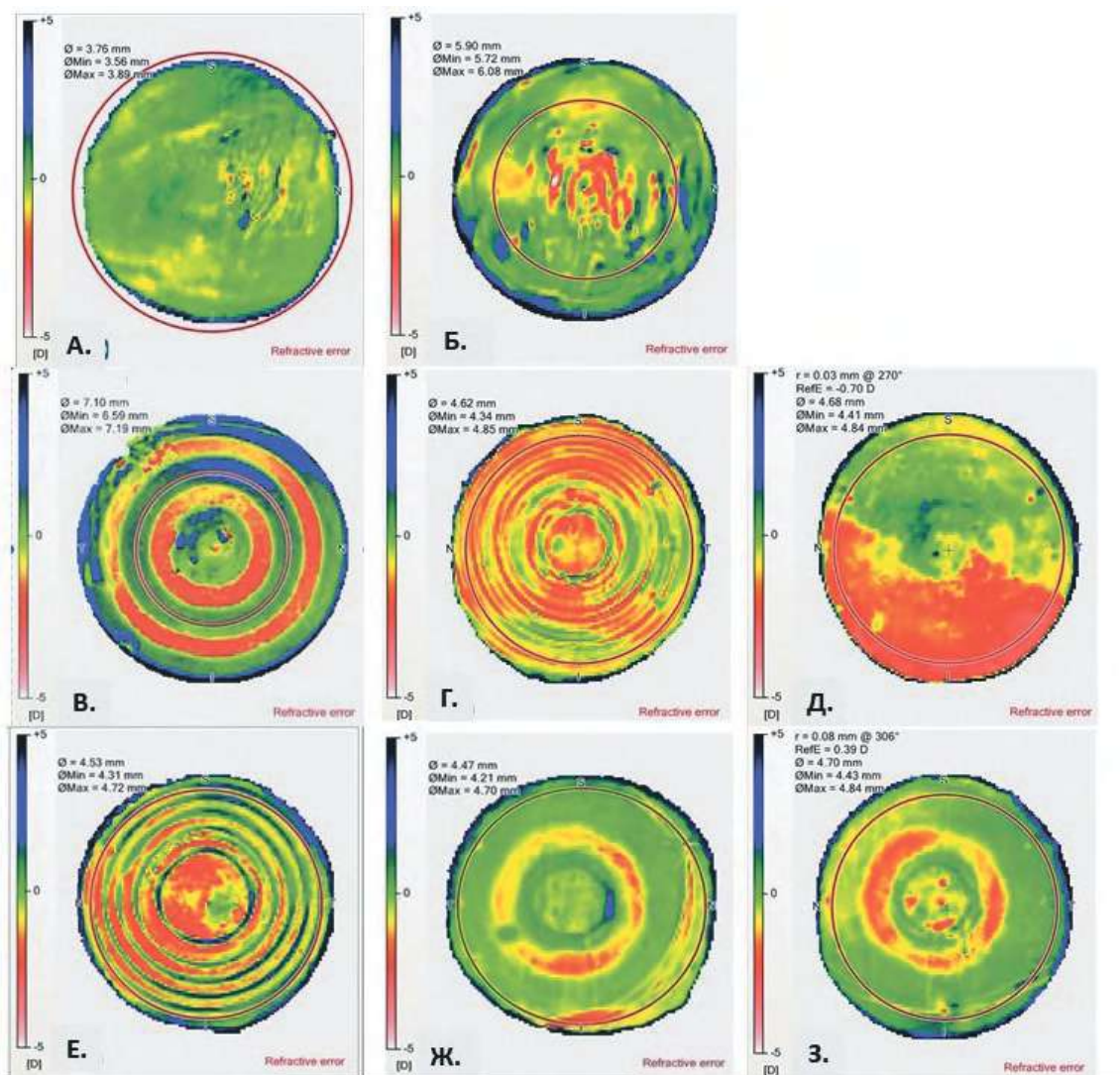


РИС. 3.

РТК глаза с различными видами ИОЛ (условия медикаментозного мидриаза): А. – Tecnis ZCB00; Б. – Tecnis Eyhance ICB00; В. – *M-flex 630 F*; Г. – *Acrysof IQ PanOptix TFNT*; Д. – *Lentis Comfort LS-313 MF-15*; Е. – *TECNIS Symphony ZXR00*; Ж. – *Acrysof IQ Vivivity DFT015*; 3. – *LuxSmart*

FIG. 3.

RTM of the eye with different IOL types (medicated mydriasis conditions): А. – Tecnis ZCB00; Б. – Tecnis Eyhance ICB00; В. – *M-flex 630 F*; Г. – *Acrysof IQ PanOptix TFNT*; Д. – *Lentis Comfort LS-313 MF-15*; Е. – *TECNIS Symphony ZXR00*; Ж. – *Acrysof IQ Vivivity DFT015*; 3. – *LuxSmart*

дизайн РТК характерен для глаз с ИОЛ *Lentis Comfort LS-313 MF-15*. При анализе распределения рефракционных ошибок выделяется верхняя зона с захватом центральной оптической зоны, где значения рефракционного индекса находятся в пределах от 0,5 до -0,25 дптр. На карте эта зона окрашена в зеленоватые оттенки (рис. 3Д). В нижней зоне, формирующий фокус для близи, показатели рефракции находились в пределах от 5,17 до 3,82 дптр. Значения ИРН составили: Ме 4,22 дптр, Q1 3,77 дптр; Q3 5,21 дптр. При проведении корреляционного анализа между ИРН и ГФ установлена достоверная взаимосвязь ($r = 0,641$, $p < 0,05$). Топография рефракционных ошибок на глазах с *TECNIS Symphony ZXR00* имеет характер, отражающий дифракционный тип оптической части ИОЛ – видны четкие концентрические зоны аддидации (рис. 3Е). Значения ИРН составили: Ме 3,20 дптр, Q1 2,61 дптр; Q3 3,90 дптр. Корреляционная взаимосвязь между ИРН и ГФ была недостоверной ($r = 0,241$, $p > 0,05$). РТК глаз с имплантированными ИОЛ *Acrysof IQ Vivity DFT015* и *LuxSmart* имеют близкие черты за счет сочетания концентрической слабо миопической зоны в проекции зрачка и центральной зоны с дискретными миопическими участками. Однако оптический дизайн формирования зон и значения рефракционных индексов различаются (рис. 3Ж, 3З). Значения ИРН для глаз с *Acrysof IQ Vivity DFT015* составили: Ме 5,40 дптр, Q1 4,20 дптр; Q3 5,90 дптр. Корреляционная взаимосвязь между ИРН и ГФ была недостоверной ($r = -0,258$, $p > 0,05$). Значения ИРН для глаз с *LuxSmart* составили: Ме 3,02 дптр, Q1 2,29 дптр; Q3 3,88 дптр. Корреляционная взаимосвязь между ИРН и ГФ также была недостоверной ($r = -0,213$, $p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Понимание принципов оптических конструкций новых ИОЛ крайне важно в оценке потенциального качества зрения псевдофакичного пациента. Оценка качества оптической системы при внедрении инновационных ИОЛ чаще всего проводится *in vitro* [15, 16], клинические результаты имплантации новых ИОЛ чаще всего опираются на исследование субъективных психофункциональных зрительных характеристик [17–21]. В данном исследовании представлен объективный метод регистрации характера распределения рефракционных ошибок в глазу после имплантации ИОЛ сложного оптического дизайна *in vivo*, что является явным преимуществом данной технологии.

Доказано, что аберрометрия с пирамидальным сенсором с построением РТК глаза имеет высокую чувствительность к рефракционным сдвигам, позволяя количественно оценивать оптическую неоднородность артификального глаза. При этом топографическое отображение рефракционных ошибок выполняется вне зависимости от типа ИОЛ сложного дизайна – как при рефракционном типе формирования дополнительных фокусов, так и при наличии дифракционной решетки,

что существенно отличает данный метод от применяемых ранее [22–26].

Впервые проведен объективный топографический анализ рефракционной неоднородности глаза, выступающей важным индикатором качества оптической системы. Максимальные значения ИРН установлены у пациентов после имплантации мультифокальных ИОЛ, минимальные – монофокальных ИОЛ. На глазах с EDOF ИОЛ выявлен средний диапазон рефракционной неоднородности. Вычисленный показатель рефракционной неоднородности (ИРН) имеет достоверную взаимосвязь с ГФ у пациентов с монофокальной ИОЛ с оптическим дизайном “Distance plus”, рефракционной бифокальной ИОЛ *M-flex 630 F*, рефракционной асимметричной ИОЛ *Lentis Comfort LS-313 MF-15*. Данные результаты подтверждают, что имплантация инновационной монофокальной ИОЛ *Tecnis Eyhance ICB00* обеспечивает прогрессивный рефракционный профиль в центральной оптической зоне и увеличение глубины фокуса в пределах 2,5 дптр. Отсутствие значимых корреляций между ИРН и ГФ у пациентов с дифракционными ИОЛ и рефракционными EDOF ИОЛ можно объяснить сложностью и особенностями сконструированной оптической системы глаза, не поддающихся простым взаимосвязям.

Современная офтальмохирургия характеризуется технологическими разработками новых ИОЛ и активным внедрением их в клиническую практику. Однако диагностика зрительных нарушений у пациентов с имплантированными ИОЛ сложного дизайна является недостаточно развитым разделом офтальмологии. Возможность визуализации расположения зон с различным рефракционным индексом в псевдофакичном глазу позволяет наглядно демонстрировать послеоперационный оптический результат, определять правильность выбора типа ИОЛ и соответствие предоперационных расчетов оптической силы ИОЛ. Накопление клинической и расчетной базы для каждого типа ИОЛ сложного дизайна позволит в будущем разработать критерии кастомизированного выбора и расчета ИОЛ.

Ограничениями данного исследования являются малый объем и неоднородность групп, обусловленные редкой имплантацией некоторых моделей ИОЛ. Для обеспечения независимости данных использован дизайн «один глаз на одного участника»; рандомизация стороны (правый глаз/левый глаз) позволила исключить селективное смещение и завышение статистической мощности.

Несмотря на предварительный характер данных рефракционного топографического картирования у пациентов с ИОЛ сложного дизайна, полученные результаты имеют отчетливые перспективы применения в клинической практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод пирамидально сенсорной аберрометрии с рефракционным топографическим картированием

является высокоинформативным направлением в объективной оценке оптической системы глаза у пациентов с ИОЛ сложного дизайна, и может стать основой для развития персонализированной хирургии катаракты.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kohnen T, Berdahl JP, Hong X, Bala C. The Novel Optical Design and Clinical Classification of a Wavefront-Shaping Presbyopia-Correcting Intraocular Lens. *Clin Ophthalmol*. 2023; 17: 2449–2457. doi: 10.2147/OPHTH.S400083
2. Морозова Т.А. Интраокулярные линзы с расширенной глубиной фокуса – новая технология коррекции пресбиопии: обзор. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2024; 79(4): 318–326. [Morozova TA. Extended Depth-of-Focus is a New Intraocular Lens Technology in the Treatment of Presbyopia: Review. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2024; 79(4): 318–326. (In Russ.)]. doi: 10.15690/vramn17915
3. Hoffer KJ, Savini G. Update on intraocular lens power calculation study protocols. *Ophthalmology*. 2021; 128(11): e115–e120. doi: 10.1016/j.optha.2020.07.005
4. Ильина Н.В. Аберрации и другие факторы, определяющие функциональный результат фактоэмульсификации катаракты. *Практическая медицина*. 2012; 4(59): 260–262. [Ilyina NV. Aberrations and other factors that determine the functional result of phacoemulsification of cataract. *Practical medicine*. 2012; 4(59): 260–262. (In Russ.)].
5. *Офтальмология: национальное руководство* / под ред. С.Э. Аветисова, Е.А. Егорова, Л.К. Мошетовой, В.В. Нероева, Х.П. Тахчиди. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2024. [Ophthalmology: national guide / ed. SE Avetisova, EA Egorova, LK Moshetova, VV Neroeva, KhP Takhchidi. – 3rd ed., revised. and additional – Moscow: GEOTAR-Media, 2024. (In Russ.)].
6. Coassin M, Di Zazzo A, Antonini M, Gaudenzi D, Gallo Afflitto G, Kohnen T. Extended depth-of-focus intraocular lenses: power calculation and outcomes. *J Cataract Refract Surg*. 2020; 46(11): 1554–1560. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000000293
7. Рамазанова Л.Ш., Напылова О.А., Шамратов Р.З. О возможных механизмах влияния оптических интраокулярных имплантов на характеристики нейросенсорной реабилитации и адаптации у пациентов с артификацией. Обзор литературы. *Офтальмология*. 2021; 18(1): 30–35. [Ramazanova LSh, Napylova OA, Shamratov RZ. About the Possible Mechanisms of the Influence of Optical Intraocular Implants on the Characteristics of Neurosensory Rehabilitation and Adaptation in Patients with Pseudophakia. Literature Review. *Ophthalmology*. 2021; 18(1): 30–35. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2021-1-30-35
8. Zhang L, Lin D, Wang Y, Chen W, Xiao W, Xiang Y, et al. Comparison of Visual Neuroadaptations After Multifocal and Monofocal Intraocular Lens Implantation. *Front Neurosci*. 2021; 15: 648863. doi: 10.3389/fnins.2021.648863
9. Wanten JC, Bauer NJC, Berendschot Tos TJM, van den Biggelaar FJHM, Nuijts Rudy MMA. Dissatisfaction after implantation of EDOF intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg*. 2025; 51(5): 399–405. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000001615
10. Rudelevicius P, Lekaviciene R, Auffarth GU, et al. Relation between patient personality and patients' dissatisfaction after multifocal intraocular lens implantation: Clinical study based on the five factor inventory personality evaluation. *Eye (Lond)* 2020; 34(4): 717–7245. doi: 10.1038/s41433-019-0585-x
11. Takii M. Objective evaluation of the refractive properties of a diffractive multifocal IOL using a visible light-based autorefractometer prototype. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2025; 66(8): 51.
12. Borkenstein AF, Borkenstein E. Autorefraction Pitfalls in Extended Depth-of-Focus Pseudophakia: A Case Report. *Cureus*. 2025; 17(7): e87409. doi: 10.7759/cureus.87409
13. Behndig A, Montan P, Stenevi U, Kugelberg M, Zetterström C, Lundström M. Aiming for emmetropia after cataract surgery: Swedish National Cataract Register study. *J Cataract Refract Surg*. 2012; 38(7): 1181–1186. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.02.035
14. Розанова О.И., Кузьмин С.В., Мищенко О.П., и др. Пирамидальная сенсорная аберрометрия волнового фронта как метод визуализации интраокулярных рефракционных ошибок при артификации. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2024; 1: 56–63. [Rozanova OI, Kuzmin SV, Mishchenko OP, et al. Pyramidal sensory wavefront aberrometry as a method for visualizing intraocular refractive errors in articulation. *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2024; 1: 56–63. (In Russ.)] doi: 10.19163/1994-9480-2024-21-1-56-63
15. Schmid R, Borkenstein AF. Enhanced Depth of Focus Intraocular Lenses: Through Focus Evaluation of Wavefront-Shaping versus Diffractive Optics. *Biomed Hub*. 2023; 8(1): 25–30. doi: 10.1159/000529234
16. Borkenstein AF, Borkenstein EM, Luedtke H, Schmid R. Optical Bench Analysis of 2 Depth of Focus Intraocular Lenses. *Biomed Hub*. 2021; 6(3): 77–85. doi: 10.1159/000519139
17. Темиров Н.Н., Темиров Н.Э. Зрительные функции и клиническая рефракция пациентов после имплантации различных типов мультифокальных интраокулярных линз. *Офтальмология*. 2015; 12(2): 37–42. [Temirov NN, Temirov NE. Visual acuity and clinical refraction following implantation of various multifocal intraocular lenses. *Ophthalmology in Russia*. 2015; 12(2): 37–42. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2015-2-37-42
18. de Silva SR, Evans JR, Kirthi V, Ziaei M, Leyland M. Multifocal versus monofocal intraocular lenses after cataract extraction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; 12(12): CD003169. doi: 10.1002/14651858.CD003169.pub4

19. Першин К.Б., Пашинова Н.Ф., Цыганков А.Ю., Мийович О.П. Сравнительный анализ результатов имплантации би- и трифокальных ИОЛ для коррекции пресбиопии. *Катарактальная и рефракционная хирургия*. 2016; 16 (2): 23-29. [Pershin KB, Pashinova NF, Tsygankov AYU, Miyovich OP. The outcomes of the implantation of bifocal and trifocal IOLs for presbyopia. *Cataract and refractive surgery*. 2016; 16 (2): 23-29. (In Russ.)].
20. Оренбуркина О.И., Абсаямов М.Ш., Бикбулатова А.А., Бурханов Ю.К. Результаты фемтофакоэмульсификации катаракты с имплантацией линз нового поколения. *Практическая медицина*. 2017; 9(110): 58–62. [Orenburkina OI, Absalyamov MSh, Bikbulatova AA, Burkhanov YUK. Results of femto-assisted phacoemulsification of cataracts with implantation of lenses of new generation. *Practical medicine*. 2017; 9(110): 58–62. (In Russ.)].
21. Першин К.Б., Пашинова Н.Ф., Цыганков А.Ю., Антонов Е.А., Косова И.В., Корнеева Е.А. Результаты имплантации интраокулярных линз с расширенной глубиной резкости. *Вестник офтальмологии*. 2024; 140(2): 40–46. [Pershin KB, Pashinova NF, Tsygankov AYU, Antonov EA, Kosova IV, Korneeva EA. Outcomes of extended depth of focus intraocular lenses implantation. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2024; 140(2): 40–46. (In Russ.)]. doi: 10.17116/oftalma202414002140
22. Molebny VV, Panagopoulou SI, Molebny SV, Wakil YS, Pallikaris IG. Principles of ray tracing aberrometry. *J Refract Surg*. 2000; 16(5): S572–S575. doi: 10.3928/1081-597X-20000901-17
23. Mrochen M, Kaemmerer M, Mierdel P, Krinke HE, Seiler T. Principles of Tscherning aberrometry. *J Refract Surg*. 2000; 16(5): S570–S571. <https://doi.org/10.3928/1081-597X-20000901-16>
24. Rozema JJ, VanDyck DE, Tassignon MJ. Clinical comparison of 6 aberrometers. Part 1: technical specifications. *J Cataract Refract Surg*. 2005; 31(6): 1114–1127. doi: 10.1016/j.jcrs.2004.11.051
25. Rozema JJ, VanDyck DE, Tassignon MJ. Clinical comparison of 6 aberrometers. Part 2: statistical comparison in a test group. *J Cataract Refract Surg*. 2006; 32(1): 33–44. doi: 10.1016/j.jcrs.2004.11.052
26. Campbell CE. Wavefront measurements of diffractive and refractive multifocal intraocular lenses in an artificial eye. *J Refract Surg*. 2008; 24(3): 308–311. doi: 10.3928/1081597X-20080301-15

Сведения об авторах

Розанова Ольга Ивановна – доктор медицинских наук, врач-офтальмолог, заведующая научно-образовательным отделом Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России; ассистент кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; e-mail: olgrozanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3139-2409>

Цыбжитова Бальжинима Анандаевна – врач-офтальмолог 1-го офтальмологического отделения Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России; e-mail: tsba.91@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-8068-6035>

Information about the authors

Olga I. Rozanova – Dr. Sc. (Med.), ophthalmologist, head of the Scientific and Educational Department of Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; assistant of the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – branch of the Russian Medical Academy of Continuing Education professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: olgrozanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3139-2409>

Balzhinima A. Tsybzhitova – ophthalmologist at the 1st Ophthalmological Department of Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; e-mail: tsba.91@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-8068-6035>

ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ И НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

Логачева О.А.,
Филина Н.Ю.,
Болотова Н.В.,
Чередникова К.А.,
Пылаев Т.Е.,
Николаева Н.В.

ФГБОУ ВО «Саратовский
государственный медицинский
университет им. В.И. Разумовского»
Минздрава России (410012, г. Саратов,
ул. Большая Казачья, 112, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Логачева Ольга Андреевна
e-mail:
olya.logacheva2015@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Ожирение у подростков представляет собой глобальную медико-социальную проблему, ассоциированную с прогрессирующим ростом заболеваемости. Роль структурных изменений микробного сообщества толстой кишки в патогенезе экзогенно-конституционального ожирения у подростков остаётся недостаточно изученной, а данные о характерных таксономических нарушениях противоречивы.

Цель. Изучить особенности качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки у подростков с ожирением и нормальной массой тела.

Материалы и методы. Проведено одномоментное сравнительное исследование. Основная группа – 20 подростков 12–17 лет с ожирением ($SDS\ IMT \geq +2,0$), контрольная группа – 20 подростков с нормальной массой тела. Методом ПЦР в реальном времени исследовали таксономический состав микробиоты с использованием тест-системы «Колонофлор-16». Статистический анализ проводили с использованием критериев Манна – Уитни и Фишера.

Результаты. При сравнении с контрольной группой изменения таксономического состава микробиоты у подростков с ожирением характеризовались статистически значимым снижением общей бактериальной массы и численности ключевых симбионтов – *Bifidobacterium* spp. Снижение уровня *Lactobacillus* spp. отмечалось в обеих исследуемых группах без статистически значимых межгрупповых различий. Выявлен дефицит бутират-продуцентов и ключевых участников ферментации клетчатки: *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Akkermansia muciniphila*, а также тенденция к снижению *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus* spp., *Prevotella* spp. и *Blautia* spp. Одновременно зафиксировано увеличение численности *Bacteroides* spp., условно-патогенных микроорганизмов (*Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp.) и соотношения *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii*. В основной группе подростков были выявлены *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* spp. и грибы рода *Candida*.

Заключение. У подростков с ожирением выявлен специфический провоспалительный профиль микробиоты, характеризующийся обеднением симбионтов, дефицитом бутират-продуцентов и избыточным ростом условно-патогенных таксонов. Полученные данные определяют потенциальные мишени для персонализированной микробиомной коррекции в комплексной терапии ожирения.

Ключевые слова: ожирение, дети, подростки, микробиота толстой кишки

Статья поступила: 02.03.2026
Статья принята: 24.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Логачева О.А., Филина Н.Ю., Болотова Н.В., Чередникова К.А., Пылаев Т.Е., Николаева Н.В. Сравнительная оценка состава микробиоты толстой кишки у подростков с ожирением и нормальной массой тела. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 166–176. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.17

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE COLONIC MICROBIOTA COMPOSITION IN ADOLESCENTS WITH OBESITY AND NORMAL BODY WEIGHT

**Logacheva O.A.,
Filina N.Yu.,
Bolotova N.V.,
Cherednikova K.A.,
Pylaev T.E.,
Nikolaeva N.V.**

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation (Bolshaya Kazachya Str., 112, Saratov 410012, Russian Federation)

Corresponding author:

Olga A. Logacheva

e-mail:

olya.logacheva2015@yandex.ru

ABSTRACT

Introduction. Obesity in adolescents is a global medical and social problem associated with a progressive increase in incidence. The role of structural changes in the colonic microbial community in the pathogenesis of exogenous-constitutional obesity in adolescents remains insufficiently studied, and data on characteristic taxonomic alterations are contradictory.

Aim. To study the characteristics of the qualitative and quantitative composition of the colonic microbiota in adolescents with obesity and normal body weight.

Materials and methods. A cross-sectional comparative study was conducted. The main group consisted of 20 adolescents aged 12–17 years with obesity (BMI SDS $\geq +2.0$), and the control group consisted of 20 adolescents with normal body weight. The taxonomic composition of the microbiota was examined by real-time PCR using the “Colo-noflor-16” test system. Statistical analysis was performed using the Mann – Whitney and Fisher tests.

Results. Compared to the control group, changes in the taxonomic composition of the microbiota in adolescents with obesity were characterized by a significant decrease in total bacterial mass and the abundance of key symbionts, including *Bifidobacterium* spp. A decrease in the level of *Lactobacillus* spp. was observed in both study groups without statistically significant intergroup differences. A deficiency of butyrate producers and key participants in fiber fermentation was identified, including *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, and *Akkermansia muciniphila*, as well as a trend toward a decrease in *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus* spp., *Prevotella* spp., and *Blautia* spp. Concurrently, an increase was recorded in the abundance of *Bacteroides* spp., opportunistic pathogens (*Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp.), and the *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii* ratio. In the main group of adolescents, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* spp., and fungi of the genus *Candida* were detected.

Conclusion. Adolescents with obesity exhibit a specific pro-inflammatory profile of the colonic microbiota, characterized by depletion of symbionts, deficiency of butyrate producers, and overgrowth of opportunistic taxa. The obtained data identify potential targets for personalized microbiome correction in the comprehensive therapy of obesity.

Keywords: pediatric obesity, child, adolescent, colonic microbiota

Received: 02.03.2026

Accepted: 24.09.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Logacheva O.A., Filina N.Yu., Bolotova N.V., Cherednikova K.A., Pylaev T.E., Nikolaeva N.V. Comparative assessment of the colonic microbiota composition in adolescents with obesity and normal body weight. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 166–176. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.17

ВВЕДЕНИЕ

Ожирение у детей и подростков является одной из наиболее актуальных и масштабных проблем современного здравоохранения, приобретающей характер пандемии. Согласно последним данным, ожирением страдают 800 млн. человек в мире, из них 340 миллионов детей и подростков в возрасте от 5 до 19 лет. Особую медико-социальную проблему представляет тенденция к омоложению заболевания, что подтверждается диагностированным ожирением у 39 миллионов детей до 5 лет [1].

В педиатрической популяции ожирение ассоциировано с метаболическими нарушениями: инсулинорезистентностью, сахарным диабетом 2 типа, дислипидемией, артериальной гипертензией, метаболической болезнью печени и др. [2, 3].

Наиболее распространенной формой в детской популяции является экзогенно-конституциональное ожирение, обусловленное сочетанием генетической предрасположенности, алиментарного дисбаланса и гиподинамии [2, 3].

В последние годы внимание исследователей сосредоточено на роли кишечной микробиоты в патогенезе развития ожирения у детей. Кишечная микробиота представляет собой сложное и динамическое микробное сообщество человека, включающее бактерии, вирусы, грибы и бактериофаги, играющее ключевую роль в поддержании метаболического здоровья. Бактерии в кишечнике человека выполняют ключевые функции в регуляции обмена веществ, поддержании энергетического баланса, усвоении питательных веществ, синтезе витаминов и незаменимых аминокислот, а также в поддержании барьерной функции кишечного эпителия и модуляции иммунного ответа [4].

Состав кишечной микробиоты имеет половозрастные особенности. Эти различия описываются концепцией энтеротипов, выделяемых по доминирующим бактериям: *Bacteroides* (B-тип), *Prevotella* (P-тип) или *Ruminococcus*. Формирование энтеротипа связано с характером питания: *Prevotella* преобладает при диете, богатой клетчаткой, тогда как *Bacteroides* («западный» тип) ассоциирован с рационом, богатым жирами и простыми углеводами, при дефиците пищевых волокон. Энтеротип с доминированием *Ruminococcus* часто характеризует микробиоту, специализирующуюся на ферментации устойчивых крахмалов и муцинов. Таким образом, энтеротип характеризует не только состав микробного сообщества, но и его роль в развитии ожирения и связанных метаболических нарушений, а дисбиоз при ожирении может быть интерпретирован как формирование специфического энтеротипа [5].

Современные клинические и экспериментальные исследования демонстрируют, что у лиц с ожирением наблюдается снижение разнообразия кишечной микробиоты, уменьшение численности симбиотических микроорганизмов (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium prausnitzii*) и увеличение доли условно-патогенных бактерий, что рассматривается как ключевой

патогенетический фактор развития ожирения [6–8]. Однако в детской популяции наблюдаемые изменения отличаются значительной вариабельностью и противоречивостью [9, 10], в связи с чем, таксономические маркеры дисбиоза у подростков с ожирением продолжают оставаться предметом научной дискуссии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки у подростков с ожирением и нормальной массой тела.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное, одноцентровое, сравнительное исследование, включавшее клиничко-лабораторное обследование 40 подростков в возрасте от 12 до 17 лет. Исследование проведено на базе кафедры пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диабетологии ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского» Минздрава России в период с 2023 по 2024 гг. Клиническая база исследования – детское эндокринологическое отделение Университетской клинической больницы № 1 им. С.П. Миротворцева.

Все пациенты были разделены на две группы: основную ($n = 20$) и контрольную ($n = 20$). Основную группу составили подростки обоего пола с ожирением различной степени. Критерии включения в основную группу: экзогенно-конституциональный тип ожирения с показателем SDS индекса массы тела (ИМТ) $\geq +2,0$, возраст от 12 до 17 лет. Критерии исключения: наличие тяжёлых сопутствующих заболеваний, включая патологию желудочно-кишечного тракта, приём антибактериальных препаратов в течение 3 месяцев до начала исследования.

Критерии включения подростков в контрольную группу: нормальная масса тела (SDS ИМТ в пределах нормативных значений), соответствие по возрасту и полу, отсутствие клинически значимой гастроэнтерологической и соматической патологии.

В ходе обследования всем пациентам были определены показатели физического развития и таксономический состав микробиоты толстой кишки.

Антропометрические показатели оценивали с использованием программного обеспечения «Auxology» (Munich Auxology Project). Расчёт и интерпретацию показателей проводили с учётом референсных значений Kromeyer–Hauschild, et al. (2001). [11] У всех обследуемых определяли стандартные ауксологические показатели: SDS роста (относительно хронологического возраста и пола), индекс массы тела и соответствующий SDS ИМТ.

Таксономический состав микробиоты толстой кишки, включая качественный и количественный анализ представителей облигатной и условно-патогенной

микробиоты, исследовали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием тест-системы «Колонофлор-16 (премиум)» (ООО «Компания Алкор-БИО») и ПЦР-РВ амплификатора LightCycler 96 (Roche). Исследование проведено согласно рекомендациям производителя на базе Научно-производственного и образовательного центра молекулярно-генетических и клеточных технологий СГМУ им. В.И. Разумовского.

Письменное информированное согласие на участие в исследовании было получено от всех пациентов (15 лет и старше) либо от их законных представителей (младше 15 лет).

Исследование одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России по контролю над исследовательскими работами с участием человека (протокол № 7 от 01.02.2022 г.).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием Microsoft Excel 2016 и приложения XLSTAT 2022. Предварительный расчет размера выборки не производился. Оценку характера распределения количественных признаков осуществляли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Распределение большинства показателей отличалось от нормального (гауссова), данные представляли в виде медианы (Me) и межквартильного интервала [Q1; Q3] (25-й и 75-й перцентили). Дальнейший анализ проводили непараметрическими методами. Для сравнения двух независимых групп по количественным показателям применяли критерий Манна – Уитни, а для анализа качественных признаков — точный критерий Фишера. Корреляционный анализ показателей проведен с использованием коэффициента Спирмена (r). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке клинических данных группы были однородны и сопоставимы по полу, возрасту и росту. Статистически значимых межгрупповых различий

по данным показателям не выявлено ($p > 0,05$). Медиана SDS роста у пациентов с ожирением составила 0,9 [0,014; 1,8], у подростков в группе контроля – 0,8 [-0,1; 1,7] (табл. 1).

В основной группе ожирение I степени выявлено у 25 % ($n = 5$), ожирение II степени – у 35 % ($n = 7$), ожирение III степени – у 40 % ($n = 8$) пациентов. В контрольной группе пациентов показатели ИМТ соответствовали нормальным значениям (Me SDS ИМТ 0,39 [-0,6; 0,7], ($p = 0,027$).

При изучении таксономического состава микробиоты толстой кишки выявлены существенные различия между показателями пациентов с ожирением и контрольной группой.

У всех пациентов с ожирением в составе микробиоты толстой кишки отмечено статистически значимое снижение общей бактериальной массы по сравнению с контрольной группой ($p = 0,001$), что свидетельствует о нарушении стабильности микробного сообщества (табл. 2).

При анализе представителей облигатных симбионтов из рода *Lactobacillus* (филум Bacillota) статистически значимых межгрупповых различий выявлено не было ($p > 0,05$) (табл. 2). Однако у 80 % ($n = 16$) пациентов основной группы зафиксировано отсутствие *Lactobacillus* spp., у 10 % ($n = 2$) подростков отмечалось снижение численности данного таксона. Соответственно, только у 10 % ($n = 2$) пациентов с ожирением уровень *Lactobacillus* spp. соответствовал референсным значениям. У 70 % ($n = 4$) подростков контрольной группы наблюдалось количественное снижение численности данного таксона (рис. 1).

Анализ представителей филума Bacillota, входящих в филометаболическое ядро микробиоты толстой кишки и ответственных за продукцию бутирата, выявил статистически значимое снижение численности *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,01$) и *Eubacterium rectale* ($p = 0,034$) в основной группе по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Отмечена тенденция к снижению численности других ключевых бутират-продуцентов бактерий родов *Ruminococcus* spp и *Roseburia* spp., но без статистически значимых

ТАБЛИЦА 1
АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ И В КОНТРОЛЬНОЙ
ГРУППЕ, МЕ [Q1; Q3]

Параметр, Ме [Q1; Q3]	Основная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	p
Возраст пациентов	14 [13; 16]	14 [12; 15]	0,625
Пол:			
женский, n (%)	12 (60%)	9 (45%)	0,527
мужской, n (%)	8 (40%)	11 (55%)	
SDS роста	0,9 [0,014; 1,8]	0,8 [-0,1; 1,7]	0,355
Вес (кг)	89 [81,3; 100]	53 [40,2; 58,2]	0,001
ИМТ (кг/м ²)	31,5 [28,2; 34,8]	19,7 [17,6; 20,9]	0,001
SDS ИМТ	2,86 [2,5; 3,3]	0,39 [-0,6; 0,7]	0,001

TABLE 1
ANTHROPOMETRIC INDICATORS OF ADOLESCENTS
WITH OBESITY AND IN THE CONTROL GROUP,
ME [Q1; Q3]

различий между группами ($p > 0,05$). Численность *Ruminococcus* spp. у 40 % ($n = 8$) пациентов основной группы и у 30 % ($n = 6$) контрольной группы находились на нижней границе референсных значений. Таксон *Roseburia inulinivorans* отсутствовал у 10 % ($n = 2$)

пациентов основной группы, при этом в контрольной группе определялся у всех подростков (рис. 1).

Следует отметить, что во всей когорте подростков отмечался выраженный дефицит бактерий рода *Blautia*. Обращает на себя внимание отсутствие таксона *Blautia*

ТАБЛИЦА 2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ И С НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

TABLE 2

COMPARATIVE ANALYSIS OF TAXONOMIC PARAMETERS OF THE COLONIC MICROBIOTA IN ADOLESCENTS WITH OBESITY AND NORMAL BODY WEIGHT

Параметр (таксон/показатель)	Основная группа $n=20$, Me [Q1;Q3]	Контрольная группа $n=20$, Me [Q1;Q3]	p
Общая бактериальная масса	1,47E+10 [4,80E+09; 2,82E+10]	4,41E+11 [2,62E+11; 1,17E+12]	0,001
<i>Lactobacillus</i> spp.	1,78E+07 [5,63E+06; 1,25E+8]	1,03E+07 [3,26E+06; 1,71E+07]	0,106
<i>Bifidobacterium</i> spp.	1,38E+09 [1,54E+08; 4,43E+09]	1,96E+10 [7,85E+09; 6,00E+08]	0,001
<i>Escherichia coli</i>	2,88E+08 [4,81E+07; 1,46E+09]	5,59E+08 [1,98E+08; 1,26E+10]	0,001
<i>Bacteroides</i> spp.	3,38E+11 [7,68E+10; 1,05E+12]	1,15E+10 [3,92E+09; 1,70E+10]	0,001
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	4,15E+10 [1,61E+10; 1,58E+11]	4,79E+11 [2,08E+11; 9,04E+11]	0,01
Соотношение <i>Bacteroides</i>	2,75 [1,38; 6,6]	0,06 [0,03-0,11]	0,001
<i>Clostridium difficile</i>	1,25E+07 [1,25E+07; 1,25E+07]	0	
<i>Candida</i> spp.	8,34E+05 [8,34E+05; 8,34E+05]	0	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,24E+05 [8,83E+04; 1,56E+05]	0	
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	2,02E+09 [4,88E+08; 3,00E+09]	1,66E+09 [6,89E+08; 1,69E+10]	0,284
<i>Akkermansia muciniphila</i>	5,78E+09 [3,95E+09; 8,82E+10]	5,45E+10 [3,44E+10; 6,99E+11]	0,043
<i>Enterococcus</i> spp.	1,85E+15 [9,26E+14; 1,15E+16]	6,57E+11 [3,91E+10; 1,90E+12]	0,023
<i>Escherichia coli</i> enteropathogenic	0	0	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	
<i>Clostridium perfringens</i>	2,93E+05 [1,89E+05; 6,15E+05]	0	
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	0	0	
<i>Citrobacter</i> spp.	0	0	
<i>Enterobacter</i> spp.	6,44E+05 [2,24E+05; 5,48E+08]	2,67E+04 [6,22E+03; 1,72E+05]	0,001
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	0	0	
<i>Parvimonas micra</i>	0	0	
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	
<i>Shigella</i> spp.	0	0	
<i>Blautia</i> spp.	4,14E+05 [2,22E+05; 2,22E+06]	0	
<i>Acinetobacter</i> spp.	2,83E+06 [1,34E+06; 7,67E+06]	0	
<i>Streptococcus</i> spp.	2,53E+06 [8,51E+05; 4,65E+06]	9,51E+05 [4,34E+05; 2,47E+06]	0,039
<i>Eubacterium rectale</i>	5,96E+07 [1,19E+07; 2,18E+08]	7,18E+08 [6,26E+08; 2,53E+10]	0,034
<i>Roseburia inulinivorans</i>	1,48E+08 [8,33E+06; 1,25E+09]	4,72E+08 [3,64E+07; 5,32E+09]	0,281
<i>Prevotella</i> spp.	2,44E+07 [7,48E+06; 3,47E+08]	8,83E+07 [1,70E+07; 1,00E+09]	0,906
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	2,20E+08 [2,37E+06; 9,60E+08]	0	
<i>Methanospaera stadmanae</i>	0	0	
<i>Ruminococcus</i> spp.	1,73E+07 [1,16E+06; 1,17E+08]	8,10E+06 [1,19E+06; 3,81E+07]	0,810

у 75 % ($n = 15$) пациентов основной группы, в контрольной группе – у 100 % ($n = 20$) (рис. 1).

При анализе филума Bacteroidota зафиксировано статистически значимое увеличение численности *Bacteroides* spp. в основной группе ($p = 0,001$) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Для представителей *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Prevotella* spp. статистически значимых межгрупповых различий не установлено ($p > 0,05$). В то же время бактерии рода *Prevotella* spp., одного из представителей ферментации клетчатки, не были обнаружены у 40 % ($n = 8$) подростков основной и у 30 % ($n = 6$) пациентов контрольной группы (рис. 1).

Анализ микробиоты выявил статистически значимое увеличение соотношения *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,001$) у подростков с ожирением по сравнению с контрольной группой, что указывает на выраженный дисбиоз с характерным для ожирения снижением доли ключевого продуцента бутирата (табл. 2).

Среди значимых представителей симбионтной микробиоты толстой кишки у подростков с ожирением отмечено статистически значимое снижение численности бактерий рода *Bifidobacterium* spp (филум Actinomycetota) ($p = 0,001$), тогда как в группе контроля данный показатель соответствовал референсным значениям (табл. 2).

В составе филума Bacillota у пациентов основной группы, одновременно со снижением ключевых бутират-продуцентов, было обнаружено присутствие условно-патогенных бактерий *Clostridium difficile* и *Clostridium perfringens*, которые не выявлялись в контрольной группе (рис. 1). Также установлено статистически значимое увеличение численности представителя факультативных анаэробов *Streptococcus* spp. ($p = 0,039$)

в основной группе (табл. 2), несмотря на то, что частота его встречаемости была одинаковой в обеих группах (рис. 1). В основной группе было зафиксировано статистически значимое увеличение численности бактерий рода *Enterococcus* по сравнению с контрольной группой ($p = 0,023$) (табл. 2).

В группе подростков с ожирением наблюдалось статистически значимое снижение численности бактерий из филума Verrucomicrobiota, а именно представителей вида *Akkermansia muciniphila*, регулирующих метаболизм муцина в кишечнике ($p = 0,043$), по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Кроме того, в основной группе у 5 % ($n = 1$) пациентов было обнаружено присутствие условно-патогенных представителей эукариот – грибов рода *Candida* spp., которые отсутствовали в контрольной группе (рис. 1).

При анализе филума Pseudomonadota у пациентов основной группы зафиксировано статистически значимое увеличение доли условно-патогенных бактерий семейства Enterobacteriaceae: *Enterobacter* spp. ($p = 0,001$), *Escherichia coli* ($p = 0,001$) (табл. 2). Энтеропатогенные штаммы *E. coli* в обеих группах выявлены не были.

Кроме того, в группе пациентов с ожирением выявлялись условно-патогенные таксоны: *Acinetobacter* spp. (филум Pseudomonadota) и *Staphylococcus aureus* (филум Bacillota) с частотой 80 % ($n = 16$) и 15 % ($n = 5$) соответственно (рис. 1).

Патогенные представители филума Pseudomonadota (*Salmonella* spp., *Shigella* spp.), филума Bacillota (*Parvimonas micra*), а также филума Fusobacteriota (*Fusobacterium nucleatum*) в исследуемых группах выявлены не были. Археи филума Euryarchaeota (*Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadtmanae*) обнаружены не были, что наглядно продемонстрировано в табл. 2.

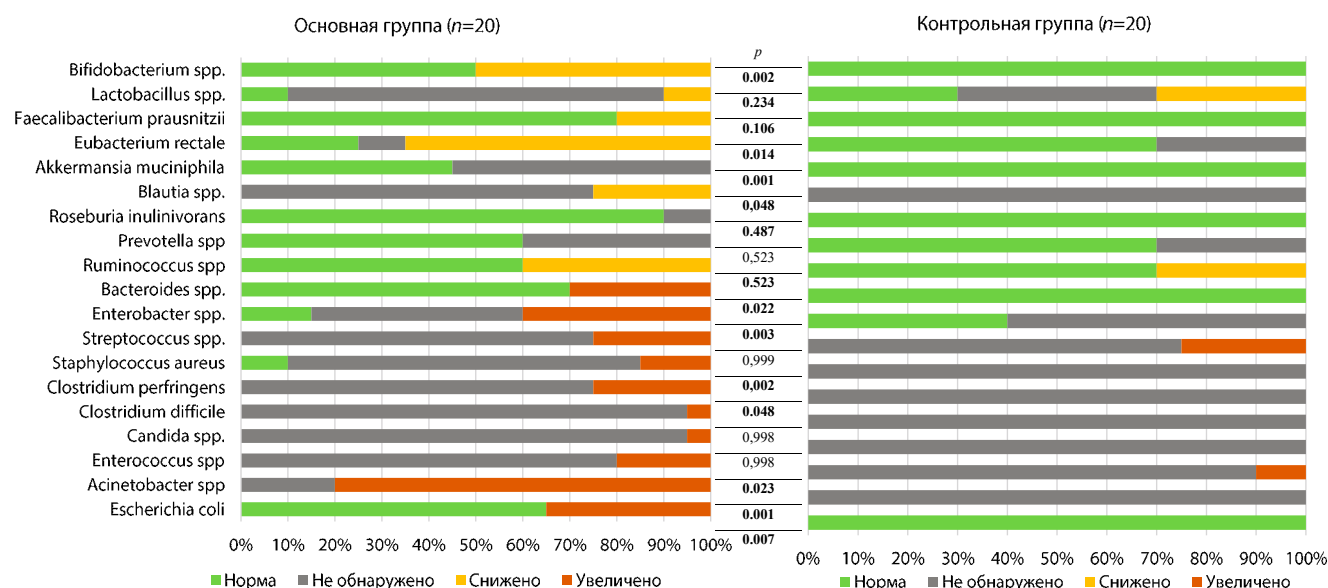


РИС. 1.
Частота и характер изменений таксономических показателей у пациентов исследуемых групп, (абс., %)

FIG. 1.
Frequency and character of changes in taxonomic indicators among patients of the study groups (abs., %)

Для выявления взаимосвязей между составом кишечной микробиоты и антропометрическими показателями был проведен корреляционный анализ с применением коэффициента корреляции Спирмена.

У подростков с ожирением установлены преимущественно отрицательные корреляции ключевых симбионтов с массой тела, ИМТ и SDS ИМТ: *Eubacterium rectale* ($p = -0,5; p < 0,05$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = -0,3; p < 0,05$), *Roseburia inulinivorans* ($p = -0,5; p < 0,05$), *Ruminococcus* spp. ($p = -0,3; p < 0,05$), *Akkermansia muciniphila* ($p = -0,3; p < 0,05$), *Bacteroides* spp. ($p = -0,4; p < 0,05$). Одновременно выявлены положительные корреляции условно-патогенных таксонов: *Clostridium difficile* ($p = +0,3; p < 0,05$) и *Candida* spp. ($p = +0,3; p < 0,05$).

У детей с нормальной массой тела выявлен противоположный паттерн — положительные корреляции ключевых симбионтов с антропометрическими показателями: *Ruminococcus* spp. ($p = +0,6; p < 0,05$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = +0,5; p < 0,05$), *Roseburia inulinivorans* ($p = +0,3; p < 0,05$). Соотношение *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii* демонстрировало отрицательные корреляции с весом, ИМТ и SDS ИМТ ($p = -0,5; p < 0,05$). Вместе с тем, в контрольной группе выявлены положительные корреляции условно-патогенных таксонов: *Enterococcus* spp. ($p = +0,3$ с весом и SDS ИМТ; $p < 0,05$), *Enterobacter* spp. ($p = +0,3$ с SDS ИМТ; $p < 0,05$) и *Acinetobacter* spp. ($p = +0,4$ с SDS ИМТ; $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы многочисленные исследования подтверждают, что изменения таксономической структуры кишечной микробиоты являются значимым фактором в патогенезе метаболических нарушений при ожирении, формируясь уже в детском возрасте [12]. Подростковый период, являющийся этапом завершения перехода к «взрослой» микробиоте, представляет особый интерес для изучения нарушений качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки у подростков как с ожирением, так и без него.

Одним из ключевых признаков нестабильности микробного сообщества при ожирении является снижение общей бактериальной массы, что было статистически значимо зафиксировано у всех пациентов основной группы.

При этом следует отметить дефицит ключевых симбионтов *Lactobacillus* spp. в группе подростков с ожирением, что согласуется с результатами Душиной Т.С. и соавт. (2024) [13], Гуровой М.М. (2018) [6], где также показано снижение численности *Lactobacillus* spp. на фоне избыточной массы тела. Однако в нашем исследовании выявлено статистически значимое снижение *Lactobacillus* spp. также в группе подростков с нормальной массой тела, что свидетельствует о наличии дисбиотических нарушений у условно-здоровых детей.

Проведенный анализ выявил снижение численности *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,001$) в группе подростков с ожирением. Полученные данные согласуются

с работой Скворцовой О.В. и соавт. (2024) [14], которые также отмечают дефицит *Bifidobacterium* spp. как один из ключевых маркеров дисбиоза при ожирении. Учитывая их роль в поддержании колонизационной резистентности и синтезе короткоцепочечных жирных кислот, выявленный дефицит может способствовать снижению барьерной функции кишечника и нарушению метаболической активности микробиоты, что согласуется с полученными нами ранее данными о снижении продукции уксусной и масляной кислот у подростков с ожирением [15].

Наиболее значимые нарушения затронули филометаболическое ядро бутират-продуцентов представителей филума Bacillota. Установлено снижение численности микроорганизмов, играющих ключевую роль в поддержании кишечного гомеостаза: *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Ruminococcus* spp. и *Roseburia* spp. Эти данные согласуются с результатами исследований [16, 17], где также отмечается снижение численности ключевых бутират-продуцентов при ожирении у детей.

Обнаруженный таксономический дефицит ключевых бутират-продуцентов соответствует выявленному в нашем предыдущем исследовании метаболическому профилю [15], где у подростков с ожирением был выявлен характерный дисбаланс КЦЖК в виде снижения уровня бутирата (C4) и относительной доли ацетата (C2) на фоне увеличения доли пропионата (C3), что подтверждает взаимосвязь между таксономическими и метаболическими нарушениями микробиоты в патогенезе ожирения.

Особого внимания заслуживает выраженный дефицит бактерий рода *Blautia*, который отсутствовал у 75 % ($n = 15$) пациентов с ожирением и у 100 % ($n = 20$) подростков контрольной группы. Выявленный дефицит бактерий рода *Blautia* у подавляющего большинства подростков отражает состояние общего фонового дисбиоза, связанного с дефицитом пищевых волокон в рационе. Данное предположение подтверждается тем, что диета, бедная клетчаткой, но богатая простыми углеводами и жирами, формирует в кишечнике среду, которая напрямую лишает субстрата, а также косвенно угнетает рост полезных бактерий, специализирующихся на ферментации пищевых волокон, таких как *Blautia*. Этот дефицит у пациентов основной группы согласуется с известной ролью *Blautia* в поддержании метаболического гомеостаза через выработку короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), в частности, ацетата и бутирата, которые модулируют энергетический обмен, укрепляют кишечный барьер и обладают системным противовоспалительным действием [18]. Снижение встречаемости *Blautia* у всех подростков (как с ожирением, так и без) может рассматриваться как специфический маркер метаболического и микробиомного неблагополучия, отражая усугубление дисбиоза и дефицит защитных КЦЖК на фоне общего обеднения микробиоты.

В нашем исследовании зафиксировано статистически значимое увеличение численности *Bacteroides* spp. в основной группе ($p = 0,001$), что характерно

для «западного» энтеротипа (В-типа) кишечной микробиоты в соответствии с концепцией энтеротипов [5]. Полученные данные согласуются с результатами ряда исследований, в которых также отмечается увеличение *Bacteroides* spp. у детей и взрослых с ожирением [19, 20].

Помимо дефицита симбионтов, у значительной части пациентов выявлено отсутствие ключевых участников метаболизма пищевых волокон: *Prevotella* spp. отсутствовала у 40 % ($n = 8$) пациентов с ожирением и 30 % ($n = 6$) подростков контрольной группы, что отражает общий для популяции дефицит клетчатки и согласуется с ролью *Prevotella* spp. как маркера диеты, богатой пищевыми волокнами [21, 22]. Расхождение с данными об увеличении *Prevotella* spp. при ожирении, полученными в ряде исследований [23], вероятно, объясняется методологическими и популяционными различиями, что подчеркивает значимость возрастных особенностей при оценке микробного статуса.

Выявленное в нашем исследовании статистически значимое повышение соотношения *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii* является отражением более глубокого и значимого нарушения – снижения индекса *Bacillota* / *Bacteroidota*. Это указывает на то, что у подростков с ожирением происходит не изолированный дефицит одного бутират-продуцента, а масштабный сдвиг в структуре микробиома. Этот сдвиг выражается в сокращении доли филума *Bacillota*, в первую очередь за счёт статистически значимого снижения ключевых бутирогенных видов (*Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*) и тенденции к снижению численности *Roseburia inulinivorans* и бактерий рода *Ruminococcus* spp., а также в увеличении доли филума *Bacteroidota*, в частности бактерий рода *Bacteroides* spp. Данное снижение индекса *Bacillota* / *Bacteroidota* служит чувствительным маркером таксономического дисбиоза и указывает на снижение бутирогенной функции, что создаёт риск дефицита бутирата – ключевого метаболита для энергообеспечения эпителия, иммунной модуляции и контроля воспаления [24]. Эти изменения свидетельствуют о нарушении как состава, так и ферментативной активности микробиоты, внося вклад в патогенез ожирения, что согласуется с данными о снижении соотношения *Firmicutes* / *Bacteroidetes* у детей с ожирением [25].

Полученные нами данные согласуются с общепризнанной ролью *Akkermansia muciniphila* как ключевого симбионта, ответственного за гомеостаз муцинового слоя кишечника. Наблюдаемое в нашем исследовании снижение численности *A. muciniphila* у подростков с ожирением подтверждает, что дисбиоз при данном состоянии характеризуется дефицитом этого важного таксона. Поскольку *A. muciniphila*, используя муцин в качестве основного субстрата, стимулирует его обновление и поддерживает целостность кишечного барьера [26], выявленный дефицит может указывать на риск нарушения барьерной функции.

На фоне глубоких изменений в структуре индигенной микробиоты и нарушения филометаболического ядра у подростков с ожирением наблюдалась

значительная перестройка микробного сообщества, проявившаяся признаками выраженного дисбиоза в виде избыточного роста условно-патогенных таксонов, включая представителей семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Enterococcus*, *Acinetobacter*, *Streptococcus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus* и дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Полученные результаты согласуются с результатами других исследований, где у пациентов с ожирением также наблюдалось снижение численности бутират-продуцирующих видов и увеличение доли условно-патогенных микроорганизмов [13, 27].

Согласно современным представлениям, увеличение доли представителей семейства *Enterobacteriaceae* рассматривается как ключевой фактор патогенеза развития ожирения. Известно, что подобный микробный сдвиг может способствовать повышению проницаемости кишечного барьера, особенно на фоне дефицита бутирата, ответственного за целостность кишечного эпителия [28], что приводит к попаданию в системный кровоток липополисахарида и запуску хронического системного воспаления низкой степени активности, известного как метаболическая эндотоксемия [29]. Выявленные нами изменения хорошо вписываются в общепринятую патогенетическую модель.

Корреляционный анализ выявил противоположные паттерны взаимосвязей микробиоты с антропометрическими показателями в двух группах.

Отрицательные корреляции некоторых бутират-продуцирующих таксонов, включая *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* spp. и *Ruminococcus* spp., с показателями ожирения позволяют предполагать их потенциальную связь с метаболическим здоровьем. Недавнее исследование детей с ожирением продемонстрировало снижение концентрации бутирата в сыворотке крови по сравнению с детьми с нормальной массой тела, сопровождавшееся изменениями состава кишечной микробиоты [30]. Систематические обзоры указывают на неоднородность изменений микробиоты при детском ожирении; в ряде исследований сообщалось о снижении численности отдельных бутират-продуцирующих таксонов, включая *Faecalibacterium prausnitzii* [31].

Выявленное в настоящем исследовании повышение абсолютной численности *Bacteroides* spp. в группе с ожирением согласуется с данными о связи этого таксона с западным типом питания и западным энтеротипом. Это открывает перспективы для персонализированного подхода к коррекции массы тела с учётом энтеротипа пациента [32].

Противоположный паттерн у детей с нормальной массой тела — положительные корреляции *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus* spp. и *Roseburia inulinivorans* с антропометрическими показателями — отражает физиологическое формирование микробиоты у условно здоровых детей. Систематический обзор подтвердил, что *Faecalibacterium* и *Bifidobacterium* являются маркерами метаболического здоровья у детей. Низкое соотношение *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii* у детей контрольной группы указывает на доминирование бутират-продуцентов,

что является характерным признаком благоприятного метаболического профиля [31].

Однако присутствие положительных корреляций условно-патогенных таксонов (*Enterococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp.) с антропометрическими показателями у детей с нормальной массой тела заслуживает особого внимания. Эти находки могут свидетельствовать о ранних признаках микробного дисбаланса, предшествующих клинически значимым метаболическим нарушениям. Таким образом, несмотря на нормальную массу тела, присутствие положительных ассоциаций условно-патогенных таксонов может указывать на субклинический дисбиоз и потенциальный риск развития метаболических нарушений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведённое исследование показало, что дисбиотические нарушения микробиоты толстой кишки характерны как для подростков с ожирением, так и для их сверстников с нормальной массой тела. В контрольной группе это проявлялось значительным снижением *Lactobacillus* spp., тотальным дефицитом *Blautia* spp. и отсутствием у части детей бактерий, ферментирующих клетчатку (*Prevotella* spp., *Ruminococcus* spp.). Однако особенностями, специфичными для подростков с ожирением являются: статистически значимое снижение общей бактериальной массы, обеднение ключевых симбиотических микроорганизмов, а также избыточный рост условно-патогенных таксонов. Выявленный комплекс изменений формирует микробный профиль, который в соответствии с современной патогенетической концепцией рассматривается как провоспалительный и ассоциированный с метаболическими нарушениями.

Новизной исследования является установление противоположных корреляционных паттернов микробиоты с антропометрическими показателями у детей с ожирением и нормальной массой тела. Отрицательные корреляции ключевых симбионтов при ожирении указывают на утрату протективной роли микробиоты в поддержании метаболического здоровья. Выявление положительных корреляций условно-патогенных таксонов у детей с нормальной массой тела свидетельствует о субклиническом дисбиозе и потенциальном риске развития метаболических нарушений.

Полученные результаты обосновывают необходимость разработки персонализированных микробиота-ориентированных стратегий профилактики и лечения детского ожирения, а также ранней диагностики дисбиотических нарушений у детей с нормальной массой тела.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России в рамках научного проекта

«Разработка программ персонализированного лечения детей с ожирением», № SSMU-2022-006 на кафедре пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диабетологии в период с 2022 по 2024 гг.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. ВОЗ. Ожирение и избыточный вес. Информационный бюллетень. 01.03.2024. [World Health Organization. Obesity and overweight. Fact sheet. 01.03.2024 (In Russ.)]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Hampl SE, Hassink SG, Skinner AC, et al. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Treatment of Children and Adolescents with Obesity. *Pediatrics*. 2023; 151(2): e2022060640. doi: 10.1542/peds.2022-060640
3. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Болотова Н.В. и др. Клинические рекомендации «Ожирение у детей». *Проблемы эндокринологии*. 2021; 67(5): 67–83. [Peterkova VA, Bezlepina OB, Bolotova NV, et al. Clinical guidelines «Obesity in children». *Problems of Endocrinology*. 2021; 67(5): 67–83. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl12802
4. Харитонов Л.А., Григорьев К.И., Борзакова С.Н. Микробиота человека: как новая научная парадигма меняет медицинскую практику. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; 161(1): 55–63. [Kharitonova LA, Grigoriev KI, Borzakova SN. Human microbiota: how a new scientific paradigm changes medical practice. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019; 161(1): 55–63. (In Russ.)]. doi:10.31146/1682-8658-ecg-161-1-55-63
5. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473(7346): 174–80. doi: 10.1038/nature09944
6. Гурова М.М., Новикова В.П., Хавкин А.И. Состояние кишечной микробиоты и клинко-метаболические особенности у детей с избыточной массой тела и ожирением. *Доказательная гастроэнтерология*. 2018; 7(3): 4–10. [Gurova MM, Novikova VP, Khavkin AI. The state of gut microbiota and clinical-metabolic features in children with overweight and obesity. *Evidence-based Gastroenterology*. 2018; 7(3): 4–10. (In Russ.)]. doi: 10.17116/dok-gastro201870314
7. Волкова Н.И., Набока Ю.Л., Ганенко Л.А., Оксенюк О.С. Особенность микробиоты толстой кишки у пациентов с разными фенотипами ожирения (пилотное исследование). *Медицинский вестник Юга России*. 2020; 11(2): 38–45. [Volkova NI, Naboka YL, Ganenko LA, Oksenyuk OS. A feature of the microbiota of the colon in patients with different phenotypes of obesity (pilot study). *Medical Herald of the South of Russia*. 2020; 11(2): 38–45. (In Russ.)]. doi:10.21886/2219-8075-2020-11-2-38-45

8. Riva A, Borgo F, Lassandro C, Verduci E, Morace G, Borghi E, et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. *Environ Microbiol.* 2017; 19(1): 95–105. doi: 10.1111/1462-2920.13463
9. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006; 444(7122): 1022–3. doi: 10.1038/4441022a
10. Squillario M, Bonaretti C, La Valle A, Di Marco E, Piccolo G, Minuto N, et al. Gut-microbiota in children and adolescents with obesity: inferred functional analysis and machine-learning algorithms to classify microorganisms. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 11294. doi: 10.1038/s41598-023-36533-2
11. Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geiß HC, Hesse V, et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde.* 2001; 149(8): 807–818. [Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geiß HC, Hesse V, et al. Body-mass-index, Overweight, Obesity, German children and adolescents. *Monatsschrift Kinderheilkunde.* 2001; 149(8): 807–818. (In German)]. doi: 10.1007/s001120170107
12. Landman C, Quévrain E. Gut microbiota: Description, role and pathophysiologic implications. *Rev Med Interne.* 2016; 37(6): 418–23. doi: 10.1016/j.revmed.2015.12.012
13. Душина Т.С., Суплотова Л.А., Кляшев С.М., Николенько М.В., Дороднева Е.Ф. Особенности взаимосвязи параметров микробиоты кишечника с клиническими и биохимическими показателями у лиц с ожирением молодого возраста. *Проблемы эндокринологии.* 2024; 70(4): 84–93. [Dushina TS, Suplotova LA, Klyashev SM, Nikolenko MV, Dorodneva EF. Features of the relationship of intestinal microbiota indicators with clinical and biochemical parameters in obese young people. *Problems of Endocrinology.* 2024; 70(4): 84–93. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl13454
14. Скворцова О.В., Мигачева Н.Б., Лямин А.В., Михайлова Е.Г., Каюмов К.А., Алексеев Д.В., и др. Особенности состава кишечной микробиоты у детей с ожирением в зависимости от наличия или отсутствия метаболических осложнений. *Медицинский совет.* 2024; (19): 245–253. [Skvortsova OV, Migacheva NB, Lya-min AV, Mikhailova EG, Kayumov KA, Alekseev DV, et al. Features of the composition of the intestinal microbiota in obese children, depending on the presence or absence of metabolic complications. *Medical Council.* 2024; (19): 245–253. (In Russ.)]. doi: 10.21518/ms2024-371
15. Болотова Н.В., Чередникова К.А., Филина Н.Ю., Компаниец О.В., Белоусова М.С., Суханова М.А. Особенности метаболической активности кишечной микробиоты у детей с ожирением. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2024; (1): 13–20. [Bolotova NV, Cherednikova KA, Filina NY, Kompaniets OV, Belousova MS, Sukhanova MA. Features of the metabolic activity of the intestinal microbiota in children with obesity. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2024; (1): 13–20. (In Russ.)]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-221-1-13-20
16. Del Chierico F, Abbadini F, Russo A, Quagliariello A, Reddel S, Capoccia D, et al. Gut Microbiota Markers in Obese Adolescent and Adult Patients: Age-Dependent Differential Patterns. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1210. doi: 10.3389/fmicb.2018.01210
17. Borgo F, Verduci E, Riva A, Lassandro C, Riva E, Morace G, et al. Relative Abundance in Bacterial and Fungal Gut Microbes in Obese Children: A Case Control Study. *Child Obes.* 2017; 13(1): 78–84. doi: 10.1089/chi.2015.0194
18. Liu X, Mao B, Gu J, Wu J, Cui S, Wang G, et al. *Blautia* – a new functional genus with potential probiotic properties? *Gut Microbes.* 2021; 13(1): 1–21. doi: 10.1080/19490976.2021.1875796
19. Anwar H, Iftikhar A, Muzaffar H, Almatroudi A, Allemailem KS, Navaid S, et al. Biodiversity of Gut Microbiota: Impact of Various Host and Environmental Factors. *BioMed Research International.* 2021; 2021: 5575245. doi: 10.1155/2021/5575245
20. Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol.* 2017; 17(1): 120. doi: 10.1186/s12866-017-1027-1
21. Gorvitovskaia A, Holmes SP, Huse SM. Interpreting Prevotella and Bacteroides as biomarkers of diet and lifestyle. *Microbiome.* 2016; 4: 15. doi: 10.1186/s40168-016-0160-7
22. Самойлова Ю.Г., Олейник О.А., Саган Е.В., Ворожцова И.Н., Филиппова Т.А., Денисов Н.С., Дьяков Д.А. Состав и метаболическая активность микробиоты пищеварительной системы у детей и подростков с ожирением. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2020; 35(3): 38–46. doi: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46. [Samoilova YG, Oleynik OA, Sagan EV, Vorozhtsova IN, Filippova TA, Denisov NS, Dyakov DA. Composition and metabolic activity of the digestive system microbiota in children and adolescents with obesity. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2020; 35(3): 38–46. (In Russ.)]. doi: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46
23. Ковтун О.П., Устюжанина М.А., Солодушкин С.И., Ворошилина Е.С. Роль микробиоты кишечника в патогенезе детского ожирения: структурно-видовые изменения и их клиническое значение. *Вопросы практической педиатрии.* 2025; 20(3): 21–33. [Kovtun OP, Ustyuzhanina MA, Solodushkin SI, Voroshilina ES. The role of gut microbiota in the pathogenesis of childhood obesity: structural and species changes and their clinical significance. *Questions of Practical Pediatrics.* 2025; 20(3): 21–33. (In Russ.)]. doi: 10.20953/1817-7646-2025-3-21-33
24. Драпкина О.М., Корнеева О.Н. Кишечная микробиота и ожирение. Патогенетические взаимосвязи и пути нормализации кишечной микрофлоры. *Терапевтический архив.* 2016; 88(9): 135–142. [Drapkina OM, Korneeva ON. Gut microbiota and obesity. Pathogenetic relationships and ways to normalize the intestinal microflora. *Therapeutic Archive.* 2016; 88(9): 135–142. (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh2016889135-142
25. García-Gamboa R, Díaz-Torres O, Senés-Guerrero C, Gradilla-Hernández MS, Moya A, Pérez-Brocal V, et al.

Associations between bacterial and fungal communities in the human gut microbiota and their implications for nutritional status and body weight. *Sci Rep.* 2024; 14(1): 5703. doi: 10.1038/s41598-024-54782-7

26. Zhai Q, Feng S, Arjan N, Chen W. A next generation probiotic, *Akkermansia muciniphila*. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(19):3227–36. doi: 10.1080/10408398.2018.1517725

27. Самойлова Ю.Г., Саган Е.В., Олейник О.А., Кудлай Д.А., Матвеева М.В., Толмачев И.В., и др. Таксономическая характеристика микробиоты толстого кишечника и ее взаимосвязь с эндокринной системой у детей и подростков с избыточной массой тела и ожирением. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского.* 2022; 101(5): 23–32. [Samoi-lova YG, Sagan EV, Oleynik OA, Kudlay DA, Matveeva MV, Tolmachev IV, et al. Taxonomic characteristics of the colon microbiota and its relationship with the endocrine system in children and adolescents with overweight and obesity. *Pediatrics named after G.N. Speransky.* 2022; 101(5): 23–32. (In Russ.). doi: 10.24110/0031-403X-2022-101-5-23-32

28. Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short Chain Fat-

ty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. *Front Immunol.* 2019; 10: 277. doi: 10.3389/fimmu.2019.00277

29. Mohammad S, Thiemermann C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. *Front Immunol.* 2020; 11: 594150. doi: 10.3389/fimmu.2020.594150

30. Li S, Ma X, Mei H, Chang X, He P, Sun L, et al. Association between gut microbiota and short-chain fatty acids in children with obesity. *Scientific Reports.* 2025; 15: 483. doi: 10.1038/s41598-024-84207-4

31. Nóbrega R, Costa CFFA, Cerqueira Ó, Inês A, Carrola JS, Gonçalves C. Association between gut microbiota and pediatric obesity: A systematic review. *Nutrition.* 2025; 140: 112875. doi: 10.1016/j.nut.2025.112875

32. Bartsch M, Hahn A, Berkemeyer S. Bridging the Gap from Enterotypes to Personalized Dietary Recommendations: A Metabolomics Perspective on Microbiome Research. *Metabolites.* 2023; 13(12): 1182. doi: 10.3390/metabo13121182

Сведения об авторах

Логачева Ольга Андреевна – ассистент кафедры пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диabetологии ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Минздрава России; e-mail: olya.logacheva2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-2878-4561>

Филина Наталья Юрьевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диabetологии ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Минздрава России; e-mail: natalya-filina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1613-4156>

Болотова Нина Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диabetологии ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Минздрава России; e-mail: kafedranv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8148-526X>

Чередникова Ксения Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диabetологии ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Минздрава России; e-mail: iw.nazarenko2012@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8119-0405>

Пылаев Тимофей Евгеньевич – кандидат биологических наук, директор научно-производственного и образовательного центра молекулярно-генетических и клеточных технологий ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Минздрава России; e-mail: pylaevte@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2701-3333>

Николаева Наталья Валерьевна – кандидат медицинских наук, зам. глав. врача по экспертизе временной нетрудоспособности ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Минздрава России; e-mail: nat8575@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1974-6609>

Information about authors

Olga A. Logacheva – Assistant of the Department of propaedeutics of childhood diseases, pediatric endocrinology and diabetology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: olya.logacheva2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-2878-4561>

Natalya Yu. Filina – Dr. Sc. (Med.), associate professor, head of the Department of propaedeutics of childhood diseases, pediatric endocrinology and diabetology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: natalya-filina@rambler.ru. <https://orcid.org/0000-0002-1613-4156>

Nina V. Bolotova – Dr. Sc. (Med.), professor, professor of the Department of propaedeutics of childhood diseases, pediatric endocrinology and diabetology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: kafedranv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8148-526X>

Ksenia A. Cherednikova – Cand. Sc. (Med.), associate professor of the Department of propaedeutics of childhood diseases, pediatric endocrinology and diabetology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: iw.nazarenko2012@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8119-0405>

Timofey E. Pylaev – Cand. Sc. (Biol.), director of the Research, Production and Educational Center for Molecular-Genetic and Cellular Technologies, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: pylaevte@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2701-3333>

Natalia V. Nikolaeva – Cand. Sc. (Med.), Deputy Chief Physician for Temporary Disability Examination, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: nat8575@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1974-6609>

ФТИЗИАТРИЯ PHTHISIOLOGY

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ НЕТУБЕРКУЛЁЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ В ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ (РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Орлова Е.А.,
Кулинич С.В.,
Кондратов И.Г.,
Доржиева М.Е.,
Суздальницкий А.Е.,
Огарков О.Б.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Орлова Елизавета Андреевна
e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Иркутская область остаётся регионом с высоким бременем туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью и напряжённой ситуацией по ВИЧ-инфекции. Для иммунокомпрометированных лиц опасность представляет распространение нетуберкулёзных микобактерий (НТМБ), вызывающих микобактериоз лёгких – состояние, имитирующее туберкулёз, однако требующее дифференциальной диагностики и иных подходов к лечению. Региональные исследования распространения НТМБ остаются ограниченными. Низкая разрешающая способность стандартных микробиологических методик требует поиска молекулярных мишеней для видовой идентификации НТМБ.

Цель. Оценка видового разнообразия НТМБ, выделенных от пациентов с подозрением на туберкулёз и микобактериоз лёгких, в Иркутской области.

Методы. Проведён ретроспективный анализ штаммов НТМБ, полученных от 63 пациентов, проходивших лечение в ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница» в период с 2018 по 2024 гг. Видовая идентификация НТМБ выполнена для 50 изолятов секвенированием фрагментов гена 23S rPHK и groEL2 с последующим филогенетическим анализом.

Результаты. Среди изученных штаммов доминируют представители *Mycobacterium avium complex* (MAC, 65,9 %), включая *M. avium* (53,7 %) и *M. intracellulare* (12,2 %). Совместный анализ фрагмента гена 23S rPHK и groEL2 обеспечил разделение видов внутри MAC-комплекса, идентификацию широкого спектра медленно- и быстрорастущих НТМБ (*M. paragordoniae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. holsaticum* и *M. farcinogenes*, *M. senegalense*), а также немикобактериальных патогенов (*Nocardia farcinica*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Actinomyces* sp.).

Заключение. В динамике охарактеризован таксономический спектр выделенных НТМБ в Иркутской области. Секвенирование генов 23S rPHK и groEL2 позволяет преодолеть проблему идентификации НТМБ.

Ключевые слова: нетуберкулёзные микобактерии, Иркутская область, *Mycobacterium avium complex*, groEL2, 23S rPHK, секвенирование, молекулярная диагностика

Статья поступила: 12.05.2026
Статья принята: 01.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Орлова Е.А., Кулинич С.В., Кондратов И.Г., Доржиева М.Е., Суздальницкий А.Е., Огарков О.Б. Видовое разнообразие нетуберкулёзных микобактерий, выделенных от пациентов в Иркутской области (ретроспективное исследование). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 177-189. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.18

SPECIES DIVERSITY OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS IN IRKUTSK REGION (A RETROSPECTIVE STUDY)

Orlova E.A.,
Kulinich S.V.,
Kondratov I.G.,
Dorzhieva M.E.,
Suzdalnitsky A.E.,
Ogarkov O.B.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazev Str., 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Elizaveta A. Orlova
e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

ABSTRACT

Background. The Irkutsk Region remains a region with a high burden of multi-drug-resistant tuberculosis and a challenging epidemiological situation regarding HIV infection. For immunocompromised individuals, the spread of nontuberculous mycobacteria (NTMB) poses a significant threat, as they cause pulmonary mycobacteriosis – a condition that mimics tuberculosis but requires differential diagnosis and distinct treatment approaches. Regional studies on NTMB prevalence remain limited. Given the low resolution of standard microbiological techniques, the search for molecular targets for NTMB species identification is essential.

Aim. To evaluate the species diversity of NTMB isolated from patients with suspected pulmonary tuberculosis and mycobacteriosis in the Irkutsk Region.

Materials and methods. A retrospective analysis was performed on NTMB strains obtained from 63 patients treated at the Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital between 2018 and 2024. Species identification was performed for 50 isolates using sequencing of the 23S rRNA and groEL2 genes fragments, followed by phylogenetic analysis.

Results. Representatives of the *Mycobacterium avium* complex (MAC) dominate among the studied strains (65.9%), including *M. avium* (53.7%) and *M. intracellulare* (12.2%). Joint analysis of the 23S rRNA and groEL2 gene fragments ensured the differentiation of species within the MAC, as well as the identification of a wide range of slowly and rapidly growing NTMB (*M. paragordoniae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. holsaticum*, and *M. farcinogenes*/*M. senegalense*) and non-mycobacterial pathogens (*Nocardia farcinica*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Actinomyces* sp.).

Conclusion. The taxonomic spectrum of NTMB isolated in the Irkutsk Region was characterized over time. Sequencing of the 23S rRNA and groEL2 genes allows overcoming the challenge of NTMB identification.

Key-words: nontuberculous mycobacteria, Irkutsk region, *Mycobacterium avium* complex, groEL2, 23S rRNA, sequencing, molecular diagnostics

Received: 12.05.2026
Accepted: 01.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Orlova E.A., Kulinich S.V., Kondratov I.G., Dorzhieva M.E., Suzdalnitsky A.E., Ogarkov O.B. Species diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from patients in Irkutsk Region (a retrospective study). *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 177-189. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.18

ОБОСНОВАНИЕ

Нетуберкулёзные микобактерии (НТМБ) представляют собой разнообразную группу условно-патогенных микроорганизмов окружающей среды, которые всё чаще становятся угрозой здоровью, вызывая заболевания преимущественно среди пациентов с ослабленным иммунитетом, хроническими заболеваниями, сопутствующими инфекциями или возрастными изменениями. На фоне повсеместного улучшения эпидемиологической ситуации по туберкулёзу, заболеваемость и распространённость микобактериозами во всём мире увеличивается [1, 2].

В настоящее время описано около 200 видов НТМБ, постоянно находящихся в окружающей среде, включая естественные (водоёмы, почва, растения) и антропогенные экосистемы (системы водоснабжения, медицинское оборудование). Приблизительно 140 видов являются патогенными для человека и животных, около 50 видов являются возбудителями микобактериозов [3]. В отличие от облигатных патогенов, НТМБ могут длительное время существовать вне организма хозяина. Их способность выживать в различных условиях, в том числе экстремальных, делает их устойчивыми ко множеству внешних факторов. В зависимости от скорости роста НТМБ делят на медленнорастущие (основные виды – *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. kansasii*, *M. simiae*, *M. marinum*) и быстрорастущие (*M. abscessus*, *M. smegmatis*, *M. goodii*, *M. fortuitum*, *M. parafortuitum*, *M. chelonae*, *M. vaccae*). Такое разнообразие НТМБ представляет собой серьёзное препятствие на пути эффективной диагностики.

Микобактериоз — это общий термин группы инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями рода *Mycobacterium*. Спектр клинических проявлений микобактериозов весьма широк и определяется видом микобактерий, механизмом заражения и иммунным статусом. При этом клинические проявления микобактериозов часто схожи с туберкулёзом, что затрудняет их диагностику.

В последние десятилетия наблюдается неуклонный рост числа описанных видов НТМБ, что связано как с улучшением методов диагностики, так и с их генетическим разнообразием, которое создаёт значительные трудности для точной видовой идентификации. При этом отсутствуют полноценные исследования видового разнообразия НТМБ, циркулирующих в окружающей среде и в прослойке лиц с иммунной недостаточностью, особенно в азиатской части России. При наличии эпидемического уровня распространения ВИЧ-инфекции [4], разрешенные для диагностики коммерческие тесты могут оказаться недостаточно специфичными и не охватывать весь видовой спектр возбудителей микобактериозов. Традиционные микробиологические методы зачастую оказываются недостаточно эффективными, однако ранняя диагностика и своевременное лечение имеют критическое значение. Всё это обосновывает разработку современных молекулярно-генетических подходов для дифференциальной диагностики микобактериозов.

Ранее проведённые масштабные исследования возбудителей микобактериозов свидетельствуют о наличии определённых географических особенностей видового разнообразия НТМБ, выделяемых от людей [5–8]. Однако, информация о заболеваемости и результатах лечения НТМБ инфекций в стране остаётся ограниченной, а территории азиатской части России со значительным количеством людей с ослабленным иммунитетом вследствие ВИЧ-инфекции оказались малоизученными.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка видового разнообразия НТМБ, выделенных из клинического материала пациентов ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница» с подозрением на туберкулёз и микобактериоз, с применением секвенирования генов 23S rRNA и *groEL*.

МЕТОДЫ

В ретроспективное когортное исследование включены штаммы НТМБ, полученные от 63 пациентов с подозрением на туберкулёз и микобактериоз лёгких, проходивших лечение и диагностику в ИОКТБ в период 2018–2024 гг. Социально-демографические данные были доступны для 68,3 % (43/63) пациентов. Средний возраст пациентов составил 41 [36; 50] год (мужчины – 62,8 %, женщины – 37,2 %). Информация о ВИЧ-инфекции была доступна для 22,2 % пациентов (14/63), из них 8 человек (12,7 % от общей выборки) имели положительный ВИЧ-статус. Ввиду малого числа наблюдений с известным статусом статистическое сравнение групп ВИЧ-положительных и ВИЧ-отрицательных пациентов не проводилось. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (протокол № 4 от 16.11.2020) и выполнено с информированного согласия пациентов.

Из биологического материала пациентов (мокрота, кровь, промывные воды бронхов, оперативный материал) были выделены клинические изоляты микобактерий как описано ранее Ждановой С.Н. с соавторами [9]. Отбор клинического материала и первичную идентификацию культур проводили в соответствии с приказом МЗ РФ № 951 от 29 декабря 2014 г. сотрудники ИОКТБ. Бактериальные культуры выращивали на плотной среде Левенштейна–Йенсена при температуре +37°C в течение 3 месяцев. Для инактивации использовали 50 % изопропанол с 1 % цетилтриметиламмония бромидом (СТАВ). Чистые культуры хранили в виде музейной коллекции при температуре -80°C. Экстракцию ДНК из 100 мкл бактериальной суспензии выполняли фенол-хлороформным методом с предварительной обработкой реагентами набора «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия).

Молекулярно-генетическую идентификацию культур проводили в два этапа. На первом этапе выполняли

скрининг коллекции методом ПЦР в реальном времени с использованием разработанной ранее тест-системы на консервативный локус гена *groEL2* (*Rv0440*), которая позволяет дифференцировать представителей комплекса *M. tuberculosis* от НТМБ или штаммов, не несущих специфических маркеров рода *Mycobacterium* [10]. На втором этапе осуществляли видовую идентификацию штаммов путём секвенирования одного из следующих генетических маркеров: фрагментов рибосомального оперона 16S–ITS–23S (с использованием праймеров 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1087R 5'-GAYYRGTGAGCTRTTACGC-3' – фрагмент 1, 2490R 5'-GACATCGAGGTGCCAAC-3' – фрагмент 2) (рис. 1) либо фрагмента гена *groEL2* (с использованием праймеров TB11 5'-ACCAACGATGGTGTGCCAT-3' и TB12 5'-CTTGTGCAACGCATACCT-3').

Продукты амплификации очищали с использованием набора ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Секвенирование по Сэнгеру проводили с использованием наборов BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и BrilliantDye™ Terminator (v3.1) Cycle Sequencing Kit (Nimugen, Нидерланды) на генетическом анализаторе «НАНОФОР 05» (Синтол, Россия) в ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Анализ и редактирование первичных нуклеотидных последовательностей проводили в программе BioEdit v. 7.2.5. Видовую принадлежность штаммов определяли выравниванием на референсные последовательности с использованием алгоритма BLAST базы данных GenBank (NCBI, США). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли с помощью MAFFT (v.7.526) (параметры *adjustdirection, auto*). Неинформативные участки удаляли с использованием TrimAl (v.1.5) (параметры *gt 0.8, cons 60*). Филогенетический анализ проводили методом максимального правдоподобия в IQTREE (v.3.1.1). Оптимальные эволюционные модели определяли с помощью ModelFinder (критерий BIC). Поддержку ветвей оценивали ультрабыстрым бутстрэпом (1000 реплик)

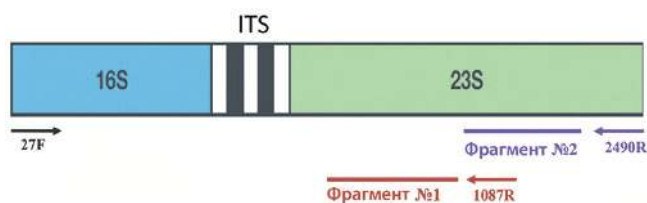


РИС. 1.

Схема рибосомального оперона 16S–ITS–23S с указанием праймеров и фрагментов гена 23S рРНК, использованных для видовой идентификации методом секвенирования по Сэнгеру

FIG. 1.

Scheme of the 16S–ITS–23S ribosomal operon showing the primers and 23S rRNA gene fragments used for species identification by Sanger sequencing

с оптимизацией *bnni*. На деревьях указывали значения поддержки $\geq 75\%$ (параметр *minsup* 0.75), масштабная линейка соответствует числу замен на сайт. Визуализация выполнена в iTOL.

Статистическую обработку данных выполняли в программе GraphPad Prism v. 8.0.1. Достоверность различий оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Таксономическая структура и общая характеристика выборки

Из 63 проанализированных архивных образцов, имевших спорный статус при первичной микробиологической диагностике, методами молекулярно-генетического анализа были верифицированы 50 изолятов (79,4 %). В 13 случаях идентификация не удалась, что, вероятно, обусловлено естественной деградацией ДНК при длительном хранении или низким исходном титре бактериальных клеток в биоматериале.

На этапе скрининга методом ПЦР в реальном времени по гену *groEL2* 4 штамма (7,4 %) были отнесены к комплексу *M. tuberculosis*. В структуре микроорганизмов, идентифицированных с помощью секвенирования по Сэнгеру, преобладали НТМБ – 41 изолят. Ещё 5 образцов принадлежали к иным таксономическим группам: *Nocardia farcinica*, *Actinomadura* sp., *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus epidermidis*. Для ряда образцов результаты секвенирования выбранных локусов не позволили провести дискриминацию между близкородственными таксонами (подробные данные представлены в табл. 1).

Группа НТМБ была представлена преимущественно медленнорастущими видами (85,4 %), среди которых доминировали представители *M. avium* complex (MAC): *M. avium* (53,7 %) и *M. intracellulare* (12,2 %). Определённый интерес представлял изолят 24-5382 *M. avium*, выделенный из казеозного материала хирургически иссечённого туберкулёзного очага. Получение культуры из стерильного локуса с высокой долей вероятности исключает случайную контаминацию образца микробиотой верхних дыхательных путей. Среди медленнорастущих видов НТМБ встречался также *M. paragordoniae* (4,9 %).

Быстрораствующие виды встречались в 5,7 раз реже (14,6 %), среди них доминировал *M. abscessus* (7,3 %). В единичных случаях выявлялись быстрораствующие *M. fortuitum*, *M. holsaticum* и близкородственные *M. farcinogenes*/*M. senegalense*. При рассмотрении многолетней динамики отмечено увеличение доли быстрораствующих НТМБ с 9,1 % в 2018–2019 гг. до 21,1 % в период 2020–2024 гг. Тем не менее, выявленная тенденция не достигла статистической значимости (χ^2 с поправкой Йейтса равен 0,41, $p = 0,5$), что указывает на необходимость расширения выборки для подтверждения данного тренда.

ТАБЛИЦА 1

РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ИЗОЛЯТОВ С ПОМОЩЬЮ СЕКВЕНИРОВАНИЯ 16S–ITS–23S ФРАГМЕНТА РИБОСОМАЛЬНОГО ОПЕРОНА ИЛИ ГЕНА *groEL2*

TABLE 1

RESULTS OF MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF ISOLATES USING SEQUENCING OF THE 16S–ITS–23S RIBOSOMAL OPERON FRAGMENT OR THE *groEL2* GENE

Номер штамма	Генетический маркер	Длина ампликона, п.н.	Сходство по данным NCBI, номер доступа GenBank	Идентифицированный вид
18-10346	16S рPHK	542	542/542 (100%), MZ823582.1	<i>Mycobacterium avium</i>
18-14064	<i>groEL2</i>	388	388/388 (100%), KF432645.1	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
18-57104	<i>groEL2</i>	372	362/372 (97%), KF432815.1	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
19-735	<i>groEL2</i>	387	386/387 (99%), MT025809.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-750(1)	<i>groEL2</i> , 23S рPHK (фрагмент 2)	474, 327	473/474 (99%), CP031418.1 (<i>groEL2</i>); 325/327 (99%), CP133580.1 (23S рPHK (фрагмент 2))	<i>Nocardia farcinica</i>
19-750(2)	<i>groEL2</i>	385	384/385 (99%), KF432769.1; 384/385 (99%), KF432742.1	<i>Mycobacterium fortuitum</i> / <i>Nocardia farcinica</i>
19-590	23S рPHK (фрагмент 1, 2)	360, 585	585/585 (100%), CP023627.1 (фрагмент 1); 345/360 (96%), CP130811.1 (фрагмент 2);	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
19-5592	<i>groEL2</i>	381	381/381 (100%), KF432615.1	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
19-1781	23S рPHK (фрагмент 1)	292	289/292 (99%), CP033427.1; 289/292 (99%), AP024264.1	<i>Mycobacterium avium</i> / <i>Mycobacterium intracellulare</i>
19-2934	<i>groEL2</i>	385	384/385 (99%), KF432724.1	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
19-531	<i>groEL2</i>	381	380/381 (99%), KF432724.1	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
19-6905	<i>groEL2</i>	379	379/379 (100%), MW523703.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-ф951	<i>groEL2</i>	387	386/387 (99%), KF432581.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-8593	<i>groEL2</i>	380	380/380 (100%), KF432581.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-8914	<i>groEL2</i>	380	380/380 (100%), KF432581.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-762	<i>groEL2</i>	392	390/392 (99%), KF432581.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-4958	<i>groEL2</i>	390	389/390 (99%), KF432581.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-4965	<i>groEL2</i>	388	387/388 (99%), MW523703.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-8839	<i>groEL2</i>	389	388/389 (99%), KF432581.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-ф1174	23S рPHK (фрагмент 2)	308	301/308 (98%), CP080998.1	<i>Mycobacterium holsaticum</i>
19-ф1172	23S рPHK (фрагмент 1)	546	543/546 (99%), CP060409.1	<i>Mycobacterium fortuitum</i>
19-ф569	23S рPHK (фрагмент 1)	457	451/457 (99%), FR720602.1	<i>Streptococcus oralis</i>
19-5035	23S рPHK (фрагмент 1)	506	506/506 (100%), CP025546.1	<i>Mycobacterium paragordoniae</i>
19-11272	23S рPHK (фрагмент 2)	577	570/577 (99%), CP033427.1	<i>Mycobacterium avium</i>
19-ф1488	23S рPHK (фрагмент 1)	509	503/509 (99%), CP025546.1; 502/509 (99%), CP045092.1	<i>Mycobacterium paragordoniae</i> / <i>Mycobacterium riyadhense</i>
19-ф1580	23S рPHK (фрагмент 1)	591	587/591 (99%), CP083996.1; 587/591 (99%), CP015272.1	<i>Mycobacterium avium</i> / <i>Mycobacterium intracellulare</i>
20-414	23S рPHK (фрагмент 2)	366	361/366 (99%), CP052955.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
20-14648	23S рPHK (фрагмент 1)	505	501/505 (99%), ON194591.1	<i>Mycobacterium abscessus</i>
20-7830	23S рPHK (фрагмент 2)	460	454/460 (99%), CP125773.1	<i>Mycobacterium abscessus</i>
21-3095	23S рPHK (фрагмент 1)	484	479/484 (99%), CP083996.1; 479/484 (99%), CP015272.1	<i>Mycobacterium avium</i> / <i>Mycobacterium intracellulare</i>

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

Номер штамма	Генетический маркер	Длина ампликона, п.н.	Сходство по данным NCBI, номер доступа GenBank	Идентифицированный вид
24-442ф	23S рРНК (фрагмент 1)	544	539/544 (99%), CP183427.1; 539/544 (99%), CP080510.1	<i>Mycobacterium farcinogenes</i> / <i>Mycobacterium senegalense</i>
24-408ф	23S рРНК (фрагмент 2)	544	541/544 (99%), CP033427.1	<i>Mycobacterium avium</i>
24-4300	23S рРНК (фрагмент 1)	425	422/425 (99%), NG_041979.1; 422/425 (99%), CP076381.2	<i>Mycobacterium avium</i> / <i>Mycobacterium intracellulare</i>
24-4259	23S рРНК (фрагмент 1)	563	560/563 (99%), CP194528.1	<i>Mycobacterium abscessus</i>
24-5821	23S рРНК (фрагмент 1)	550	548/550 (99%), CP018019.2	<i>Mycobacterium avium</i>
24-5717	23S рРНК (фрагмент 1, 2)	589, 538	588/589 (99%), CP018019.2 (фрагмент 1); 535/538 (99%), CP033427.1 (фрагмент 2)	<i>Mycobacterium avium</i>
24-ф705	23S рРНК (фрагмент 1)	571	568/571 (99%), CP015272.1; 568/571 (99%), AP024258.1	<i>Mycobacterium intracellulare</i> / <i>Mycobacterium paraintracellulare</i>
24-809	23S рРНК (фрагмент 1)	539	539/539 (100%), NG_041979.1	<i>Mycobacterium avium</i>
24-6423	23S рРНК (фрагмент 1)	509	508/509 (99%), NG_041979.1	<i>Mycobacterium avium</i>
24-5997	23S рРНК (фрагмент 1, 2)	546, 462	546/546 (100%), CP018019.2 фрагмент 1); 462/462 (100%), CP033427.1 (фрагмент 2)	<i>Mycobacterium avium</i>
24-ф715	23S рРНК (фрагмент 1, 2)	524, 298	521/524 (99%), CP191830.1 (фрагмент 1); 264/298 (89%), CP191830.1 (фрагмент 2)	<i>Actinomadura</i> sp.
24-5382	23S рРНК (фрагмент 1)	588	587/588 (99%), CP018019.2	<i>Mycobacterium avium</i>
24-855	23S рРНК (фрагмент 1)	579	572/579 (99%), CP018019.2	<i>Mycobacterium avium</i>
24-531	23S рРНК (фрагмент 1)	626	626/626 (100%), CP025546.1	<i>Mycobacterium paragordoniae</i>
24-ф718	23S рРНК (фрагмент 1)	525	518/525 (99%), CP018019.2	<i>Mycobacterium avium</i>
24-920	23S рРНК (фрагмент 1)	589	588/589 (99%), CP018019.2	<i>Mycobacterium avium</i>
24-978ф	23S рРНК (фрагмент 1)	571	571/571 (100%), CP195520.1	<i>Mycobacterium avium</i>

При возрастной стратификации пациентов (согласно классификации Всемирной организации здравоохранения) наиболее многочисленной оказалась группа молодого возраста (до 44 лет, $n = 24$), одинаково представленная пациентами обоих полов. Среди них наблюдалось максимальное таксономическое разнообразие микобактерий: 6 видов НТМБ с количественным преобладанием представителей МАС ($n = 15$, 37,5 % от общего объёма выборки) и двумя случаями истинного туберкулёза. В данной группе наблюдались также пациенты с немикобактериальными патогенами (*N. farcinica*, *S. oralis*, *Actinomadura* sp.). В группу среднего возраста (45–59 лет, $n = 9$) в основном вошли пациенты мужского пола, среди которых в подавляющем большинстве выявлялись *M. avium* (6 случаев). Среди пациентов пожилого возраста (старше 60 лет, $n = 7$), где

также было больше мужчин, чаще выявлялись *M. intracellulare* (3 случая).

Молекулярная верификация и сравнительный филогенетический анализ

Сравнительный анализ трёх генетических мишеней позволил не только верифицировать виды НТМБ, имевшие неоднозначный статус при первичном секвенировании, но и подтвердить циркуляцию редких для региона таксонов. Эффективность дифференциации варьировала в зависимости от выбранного локуса и исследуемой группы микроорганизмов.

Филогенетическая топология древа, реконструированного по фрагменту 1 (рис. 1) гена 23S рРНК (513 п.н.), демонстрировала чёткую дивергенцию между кластерами медленнорастущих и быстрорастущих НТМБ, разделяющихся в базальном узле с высокой

бутстреп-поддержкой (рис. 2). Локус демонстрирует достаточную разрешающую способность для выделения монофилетических ветвей редких представителей быстрорастущих НТМБ, таких как *M. abscessus* и *M. fortuitum*. Однако разрешающая способность в отношении ряда других филогенетически близких видов быстро- и медленнорастущих НТМБ остаётся ограниченной. Так, *M. farcinogenes* и *M. senegalense* сформировали единый кластер без признаков дивергенции.

Аналогичные затруднения отмечались для пар видов *M. intracellulare*/*M. paraintracellulare* и *M. paragordoniae*/*M. riyadhense*, а также в группе *M. tuberculosis* complex, где референсные последовательности *M. tuberculosis* и *M. bovis* оказались идентичны.

Критическим ограничением данного маркера является отсутствие филогенетического разрешения внутри МАС-группы. Штаммы *M. avium* и *M. intracellulare*, включая референсные последовательности,

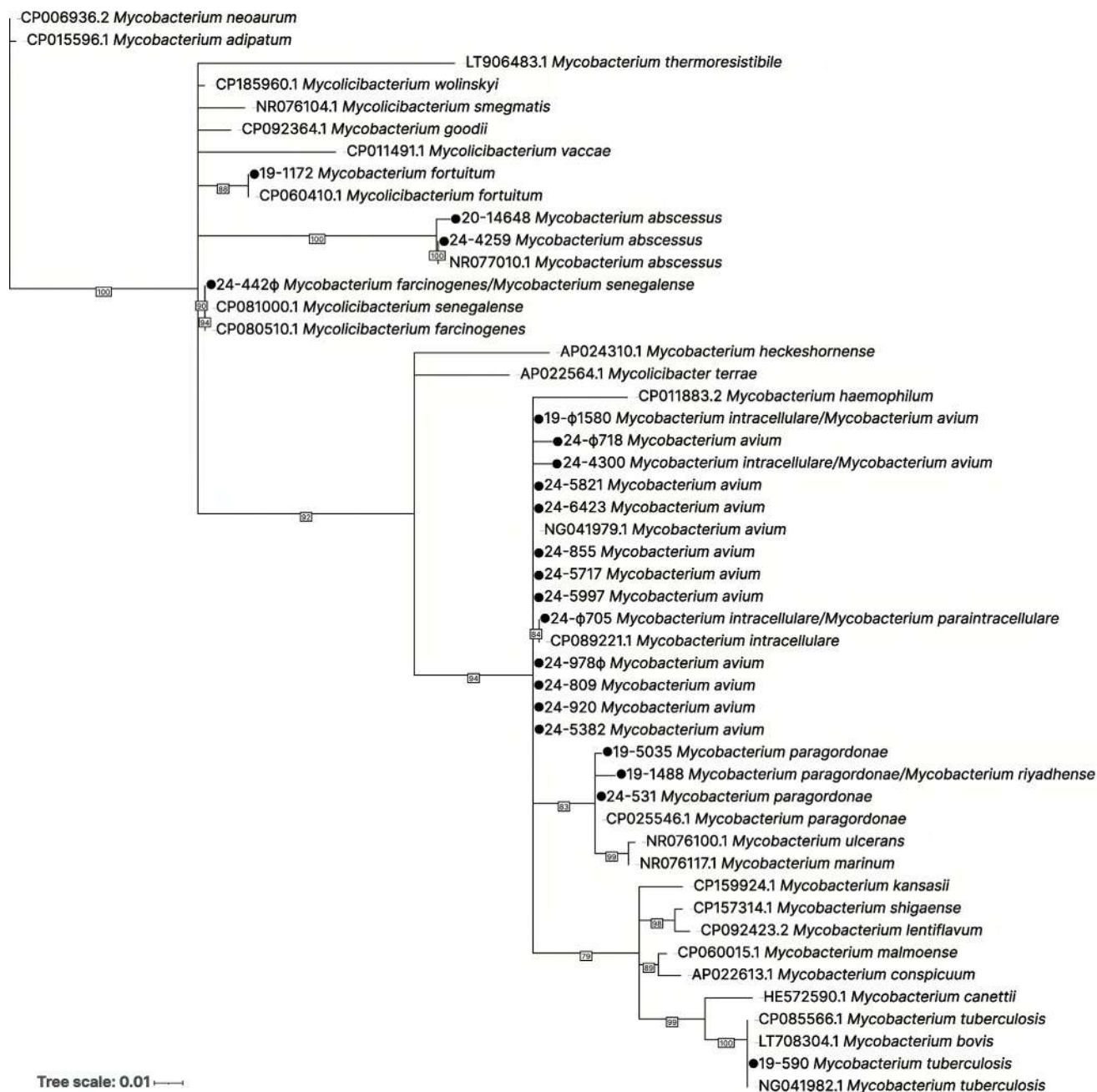


РИС. 2.

Филогенетическое дерево максимального правдоподобия, построенное на основе анализа фрагмента 1 гена 23S рРНК (513 п.н.) для штаммов рода *Mycobacterium* и близких таксонов. Реконструкция выполнена с использованием модели TPM3u+F+I+G4. Дерево неукоренённое, для ориентации показан *M. adipatum*. В узлах указаны значения бутстреп-поддержки (≥ 75 %).

FIG. 2.

Maximum likelihood phylogenetic tree based on the analysis of fragment 1 of the 23S rRNA gene (513 bp) for *Mycobacterium* strains and related taxa. Reconstruction was performed using the TPM3u+F+I+G4 model. The tree is unrooted; *M. adipatum* is shown for orientation. Bootstrap support values (≥ 75 %) are indicated at the nodes.

формируют единый недифференцированный кластер, что характерно для консервативных участков генов рРНК. При этом все клинические образцы MAC-группы продемонстрировали высокую степень гомологии с референсными штаммами из базы данных GenBank.

Использование более протяжённого дистального фрагмента 2 (рис. 1) гена 23S рРНК (594 п.н.) позволило значительно расширить спектр верифицируемых таксонов (рис. 3). На филогенетическом древе была подтверждена идентификация немикобактериальных патогенов *Actinomadura* sp. и *N. farcinica*, а также представителей видов *M. abscessus* и *M. tuberculosis*. В отличие от первого изученного фрагмента, данный локус обеспечил расхождение ветвей *M. avium* и *M. intracellulare*. Также следует отметить изолят 19-ф1174, который кластеризовался совместно с референсной последовательностью *M. holsaticum*. Значительные различия в длине ветвей указывают на наличие нуклеотидных замен, что может свидетельствовать о внутривидовой генетической вариабельности регионального штамма.

Филогенетический анализ по гену *groEL2* подтвердил его высокую ценность для дискриминации видов

внутри группы MAC, обеспечив наиболее надёжное расхождение ветвей *M. avium* и *M. intracellulare* (рис. 4). Тем не менее, была выявлена специфическая диагностическая «слепая зона» данного генетического маркера – локус не обеспечивает разделения между видами *N. farcinica* и *M. fortuitum*. Из-за данного ограничения оказалось невозможно окончательно определить видовую принадлежность изолята 19-750(2), для которого проводилось секвенирование только по гену *groEL2*. В то же время статус изолята 19-750(1) был подтверждён как *N. farcinica* благодаря дополнительному исследованию фрагмента 2 гена 23S рРНК (рис. 3), что подчёркивает необходимость комплексного использования рибосомальных и белок-кодирующих мишеней.

Полученные данные свидетельствуют о том, что протяжённый дистальный фрагмент 2 гена 23S рРНК обладает большей универсальностью для первичного скрининга широкого спектра НТМБ, в то время как ген *groEL2* остаётся критически важным инструментом для уточнения структуры MAC-комплекса, несмотря на возможную межродовую перекрёстную гомологию.

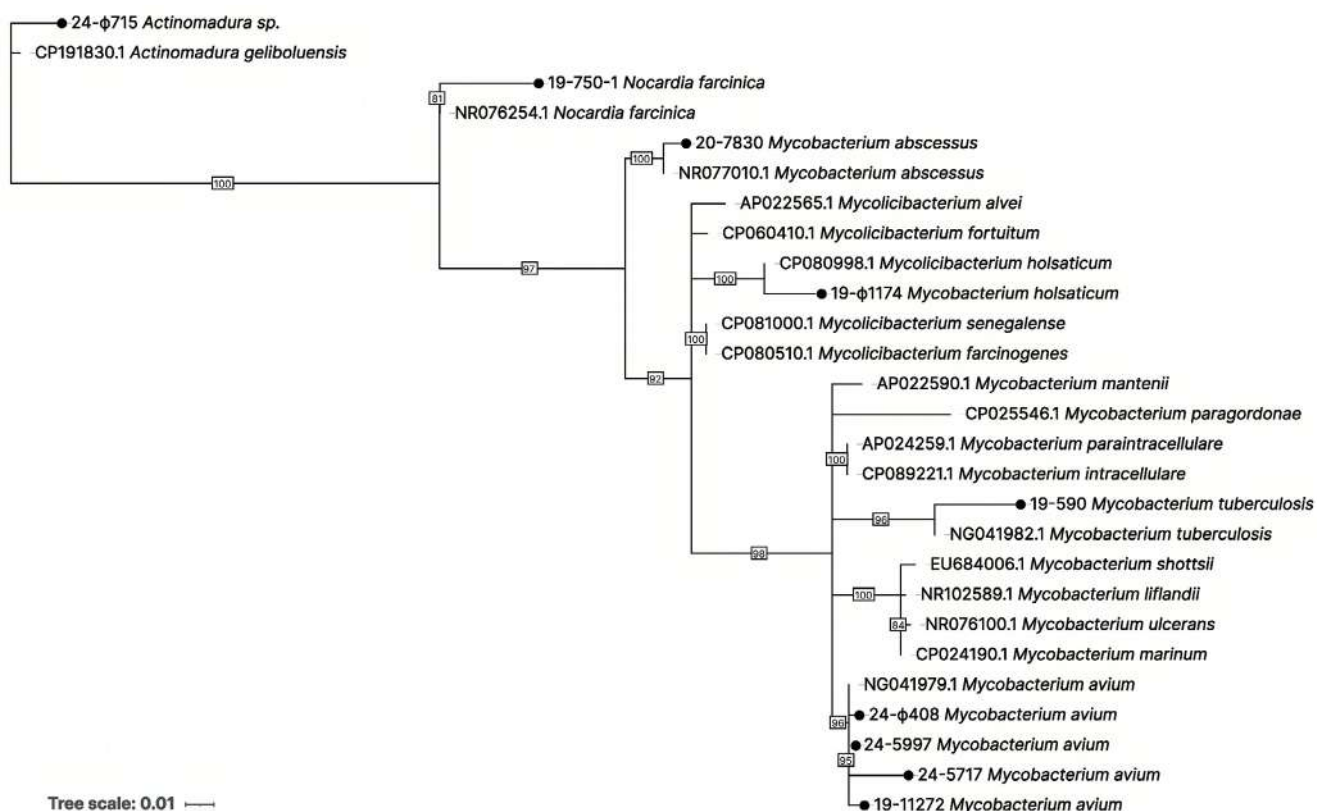


РИС. 3.

Филогенетическое дерево максимального правдоподобия, построенное на основе анализа фрагмента 2 гена 23S рРНК (594 п.н.) для штаммов рода *Mycobacterium* и близких таксонов. Реконструкция выполнена с использованием модели TPM3u+I+G4. Дерево неукоренённое, для ориентации приведён таксон *Actinomadura geliboluensis*. В узлах указаны значения бутстрэп-поддержки (≥ 75 %).

FIG. 3.

Maximum likelihood phylogenetic tree based on the analysis of fragment 2 of the 23S rRNA gene (594 bp) for *Mycobacterium* strains and related taxa. Reconstruction was performed using the TPM3u+I+G4 model. The tree is unrooted; *Actinomadura geliboluensis* is shown for orientation. Bootstrap support values (≥ 75 %) are indicated at the nodes.

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование расширяет цикл работ по изучению видового разнообразия НТМБ у иммунокомпрометированных лиц Восточной Сибири [10–13]. Достоверная оценка уровня заболеваемости микобактериозами на сегодняшний день затруднена, так как данные заболевания не подлежат официальной статистической регистрации, а мониторинг осложнён дефицитом доступных методов диагностики [8]. Тем не менее, исследователи отмечают неуклонный рост числа случаев НТМБ как у ВИЧ-инфицированных, так и у иммунокомпетентных лиц, связанный с распространением хронических заболеваний лёгких, таких

как ХОБЛ и муковисцидоз [2]. В развитых странах этот процесс сопровождается феноменом «освобождения ниши» на фоне снижения заболеваемости туберкулёзом [1]. Опасность НТМБ-инфекций обусловлена тяжестью клинических проявлений и высокой природной устойчивостью возбудителей к большинству противотуберкулёзных препаратов [14]. При некорректной дифференциальной диагностике микобактериоз, вызванный МАС или быстрорастущими НТМБ, ведёт к назначению неэффективных схем химиотерапии.

До настоящего времени спектр НТМБ в Восточной Сибири остаётся малоизученным. Полученные нами результаты за период 2018–2024 гг. подтверждают ведущую роль МАС-комплекса в структуре выделенных

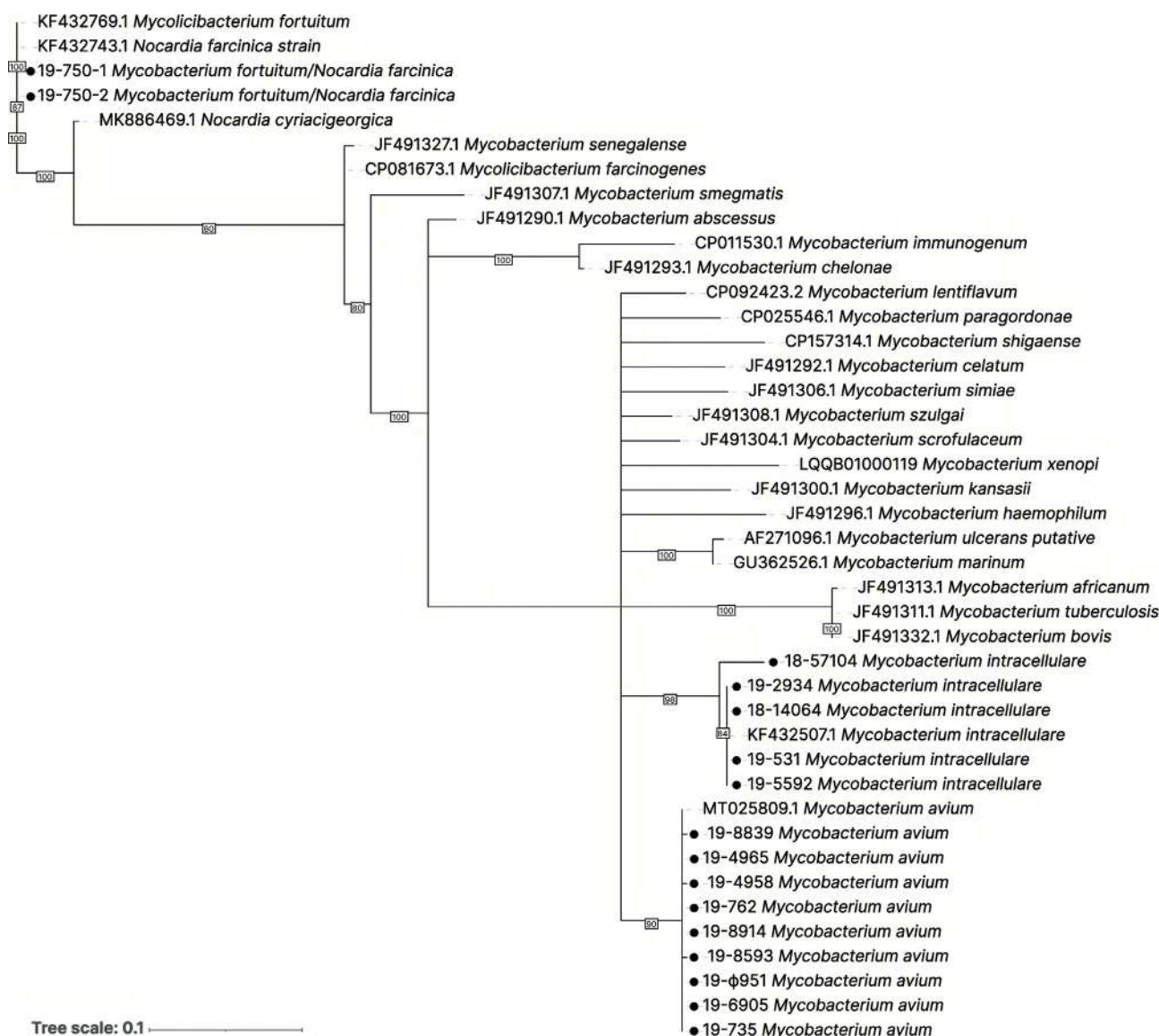


РИС. 4.

Филогенетическое дерево максимального правдоподобия, построенное на основе анализа гена *groEL2* (398 п.н.) для штаммов рода *Mycobacterium* и близких таксонов. Реконструкция выполнена с использованием модели TIM2+F+I+G4. Дерево неукоренённое, для ориентации приведён таксон *N. farcinica*. В узлах указаны значения бутстрэп-поддержки ($\geq 75\%$).

FIG. 4.

Maximum likelihood phylogenetic tree based on the analysis of the *groEL2* gene (398 bp) for *Mycobacterium* strains and related taxa. Reconstruction was performed using the TIM2+F+I+G4 model. The tree is unrooted; *N. farcinica* is shown for orientation. Bootstrap support values ($\geq 75\%$) are indicated at the nodes.

штаммов (65,9 %) с доминированием *M. avium* (53,7 %), а также указывают на значимую долю *M. intracellulare* (12,2 %), характеризующейся высокой природной резистентностью к антибактериальной терапии. Эти данные согласуются с результатами отечественных и мировых исследований [15]. В России превалирование MAC отмечено в Центральном [5] и Северо-Западном федеральном округе [7], Калининграде и Оренбурге [3], а также в Архангельской области [16] и ряде регионов Сибири (до 67 %) [6]. Однако видовой спектр НТМБ в РФ неоднороден. В отличие от Центральной России, где значимую долю составляют также медленно растущие *M. xenopi* (Москва) [5] и *M. kansasii* (Самара) [17], в азиатской части страны и Сибирском федеральном округе (Новосибирская и Томская области) эти виды встречаются реже [6]. При этом Томская область, как и Иркутская в нашем исследовании, отличается от других регионов Сибири большей частотой встречаемости *M. intracellulare* (до 18,6 %) [6]. В Якутии лидируют *M. avium*, *M. fortuitum* и *M. gordonae* [18]. В Ханты-Мансийске комплекс MAC встречается реже, чем *M. gordonae*, при этом внутри комплекса доминирует *M. intracellulare*, а не *M. avium* [3]. В регионах Сибири среди быстрорастущих видов традиционно преобладают представители комплекса *M. abscessus*/*M. chelonae* и *M. fortuitum* [6], что было подтверждено и в нашей работе. Выявленная нами низкая частота микст-инфекций туберкулёза и микобактериозов соответствует общероссийским показателям, не превышающим 2 % [19].

Особого внимания заслуживает динамика выявления быстрорастущих НТМБ (*M. abscessus*, *M. fortuitum*). Зафиксированный двукратный рост в период 2020–2024 гг. согласуется с общероссийской и общемировой тенденцией постковидного периода, которая может быть связана с повреждением лёгочной ткани при вирусных пневмониях и с селективным давлением из-за интенсивного применения антибиотиков широкого спектра [5, 20]. Быстрорастущие НТМБ характеризуются экстремальной устойчивостью не только к антибиотикам, но и к распространённым дезинфектантам (хлор, формальдегид) [21]. Идентификация в нашем исследовании редких для человека таксонов, таких как *M. holsaticum*, *M. farcinogenes* и *M. senegalense* расширяет представление о региональном разнообразии НТМБ. Последние два вида филогенетически близки к *M. fortuitum* и исторически ассоциированы с заболеваниями крупного рогатого скота [22]. Всё это указывает на сложность их таксономической верификации и возможность существования недооценённых путей трансмиссии в азиатской части РФ.

Опасность представляют также выявленные случаи немикобактериальных патогенов, таких как *N. farcinica*. Способность нокардий имитировать клинко-рентгенологическую картину туберкулёза (включая формирование туберкулёзных очагов), давать ложноположительные результаты при окрашивании на кислотоустойчивость и их медленный рост в культуре создают риски ошибочной диагностики [23]. Диагностические трудности усугубляются также недостаточной

осведомлённостью врачей [24]. Учитывая, что нокардиоз требует специфической терапии сульфаниламидами, своевременная дифференциация крайне важна для прогноза и выбора тактики лечения пациента.

Выделенные представители *S. oralis*, *S. epidermidis* и *Actinomadura* sp. также обладают условно-патогенным потенциалом. Несмотря на то, что *S. oralis* является частью нормальной микрофлоры, у лиц с ослабленным иммунитетом он может выступать возбудителем бактериемии и тяжёлых воспалительных процессов [25]. Однако, данных, что эти бактерии отягощают лёгочный туберкулёз, не приведено. Изоляты *S. epidermidis* ранее неоднократно выделялись нами из туберкулёзных очагов и представляют собой патогенетически значимую сателлитную микробиоту туберкулёзных очагов [26]. Идентификация почвенных микроорганизмов рода *Actinomadura*, способных вызывать хронические пиогранулёматозные инфекции и пневмонии, расширяет этиологический спектр выявляемых патогенов. Сообщалось о случаях выделения лекарственно-устойчивого штамма *Actinomadura geliboluensis* из бронхоальвеолярной жидкости пациента с пневмонией [27]. Таким образом, обнаруженные в работе немикобактериальные патогены могут являться реальными оппортунистическими возбудителями. Их выявление особенно актуально в случаях неэффективности стандартной противотуберкулёзной терапии.

Современная лабораторная диагностика микобактериозов действительно постепенно смещается от традиционных методов культивирования в сторону высокоточных молекулярно-генетических технологий [1]. В настоящее время разработаны и применяются отечественные и зарубежные коммерческие наборы на основе ПЦР, например, «Амплитуб МБТК + НТМБ», «Амплитуб-НТМБ-дифференциация» (Синтол, Россия), GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Германия). MALDI-TOF масс-спектрометрия успешно применяется в референс-центрах, однако сохраняет ограничения при идентификации ряда медленно растущих НТМБ [28]. Сходная проблема характерна и для «золотого стандарта» – секвенирования участков гена 16S рРНК. Умеренная изменчивость этого генетического локуса ограничивает возможность дифференцировать виды внутри MAC-комплекса. В то же время методики полногеномного секвенирования, обеспечивающие максимальную точность, остаются малодоступными для рутинных региональных исследований вследствие их высокой стоимости.

Как показало данное исследование, выбор мишени для секвенирования напрямую определяет точность диагностики. Несмотря на то, что секвенирование выбранного фрагмента 1 гена 23S рРНК позволяет идентифицировать широкий спектр быстрорастущих НТМБ, его разрешающей способности недостаточно для дискриминации видов внутри комплекса MAC. Использование более протяжённого дистального фрагмента гена 23S рРНК (фрагмент 2) и гена *groEL2* оказалось оптимальным, так как позволило дискриминировать *M. avium* и *M. intracellulare*, а также выявить ряд редких

НТМБ и немикобактериальных патогенов. Таким образом, применённый подход позволил компенсировать «слепые зоны» отдельных генетических маркеров.

Основным ограничением исследования является относительно небольшой объём выборки, ограниченный лицами с подозрением на туберкулёз лёгких. В исследование не вошли другие значимые группы риска, такие как пациенты с муковисцидозом, ХОБЛ, а также больные с внелёгочной патологией, независимо от их ВИЧ-статуса. Дальнейшее расширение охвата за счёт этих категорий пациентов позволит сформировать более полную эпидемиологическую карту распространения НТМБ в Иркутской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование в динамике характеризует таксономический спектр НТМБ в Иркутской области. Обнаружено доминирование МАС-комплекса (65,9 %) и постковидный рост доли быстрорастущих НТМБ до 21,1 %. В условиях отсутствия в РФ централизованного мониторинга НТМБ и ограниченной разрешающей способности стандартных методик, предложенный алгоритм на основе анализа фрагментов генов 23S рРНК и *groEL2* обеспечил достоверную дифференциацию *M. avium* и *M. intracellulare*, а также позволил выявить ряд редких для региона и России микобактериальных таксонов: *M. paragordoniae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. holsaticum* и *M. farcinogenes/M. senegalense*. Идентифицированы немикобактериальные «диагностические маски» туберкулёза, такие как *N. farcinica*, *S. oralis*, *S. epidermidis* и *Actinomyces* sp. Результаты работы указывают на критическую важность видовой верификации НТМБ и обосновывают необходимость использования нескольких независимых генетических мишеней для исключения таксономических ошибок.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке поискового научного исследования «Разработка инновационных подходов диагностики актуальных бактериальных инфекций на территории СФО и ДФО» (шифр FGMZ-2026-0025, № 126012716021-7).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Severova L, Giller D, Enilenis I, Gadzhieva P, Shcherbakova G, Kesaev O, et al. Detection, Isolation, and Identification of Mycobacteria That Cause Nontuberculous Mycobacterial Disease and Tuberculosis. *Pathogens*. 2025; 14(12): 1302. doi: 10.3390/pathogens14121302
2. Савченко М.А. Клинические и эпидемиологические аспекты микобактериоза у пациентов с ВИЧ-ин-

фекцией. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2019; 11(2): 27–33. [Savchenko MA. Clinical and epidemiological aspects of Mycobacteriosis in patients with HIV infection. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2019; 11(2): 27–33. (In Russ.)]. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-2-27-33

3. Петров И.В., Амирова Т.Х., Петрова Л.В., Петрова Ф.С., Севастьянова Э.В., Валиев Р.И. Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020; 19(3): 89–94. [Petrov IV, Amirova TK, Petrova LV, Petrova FS, Sevastyanova EV, Valiev RI. Microbiological and epidemiological features of mycobacterioses. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020; 19(3): 89–94. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94

4. Heysell SK, Ogarkov OB, Zhdanova S, Zorkaltseva E, Shugaeva S, Gratz J, et al. Undertreated HIV and drug-resistant tuberculosis at a referral hospital in Irkutsk, Siberia. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016; 20(2): 187–192. doi: 10.5588/ijtld.14.0961

5. Васильева И.А., Панова А.Е., Грачева А.Н., Байракова А.Л., Казюлина А.А., Елисеев П.И. и др. Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий, выделенных у пациентов ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России в «доковидный» период и во время пандемии COVID-19. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2024; 26(4): 411–416. [Vasilyeva IA, Panova AE, Gracheva AN, Bayrakova AL, Kazyulina AA, Eliseev PI, et al. Species diversity of non-tuberculous mycobacteria isolated from patients in the “Pre-Covid” period and during the COVID-19 pandemic. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2024; 26(4): 411–416. (In Russ.)]. doi: 10.36488/cmact.2024.4.411-416

6. Турсунова Н.В., Гусельникова Е.П., Гордеева Е.И. Виды нетуберкулезных микобактерий, циркулирующих на территории Сибирского федерального округа. *Вестник современной клинической медицины*. 2024; 17(5): 113–118. [Tursunova NV, Guselnikova EP, Gordееva EI. Non-tuberculosis mycobacteria species circulating in the Siberian Federal District of Russia. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2024; 17(5): 113–118. (In Russ.)]. doi: 10.20969/VSKM.2024.17(5).113-118

7. Старкова Д.А., Журавлев В.Ю., Вязовая А.А., Соловьева Н.С., Куликова О.Н., Нарвская О.В. Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий у больных микобактериозом на территориях Северо-Западного федерального округа России. *Туберкулез и болезни легких*. 2019; 97(6): 16–22. [Starkova DA, Zhuravlev VY, Vyazovaya AA, Solovieva NS, Kulikova ON, Narvskaya OV. Species diversity of non-tuberculous mycobacteria in patients with mycobacteriosis in the North-Western Federal District of Russia. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97(6): 16–22. (In Russ.)]. doi: 10.21292/2075-1230-2019-97-6-16-22

8. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю., Устинова В.В., Черноусова Л.Н. Мониторинг видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов Genotype Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Германия). *Туберкулез и болезни легких*. 2017; 95(5): 54–59. [Smirnova TG, Andreevskaya SN, Larionova EE,

- Andrievskaya IYu, Ustinova VV, Chernousova LN. Monitoring of species diversity of non-tuberculosis mycobacteria in the some Russian regions using DNA-strips of genotype mycobacterium CM/AS (Hain lifescience, Germany). *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017; 95(5): 54–59. (In Russ.)). doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-5-54-59
9. Zhdanova S, Mokrousov I, Orlova E, Sinkov V, Ogarkov O. Transborder molecular analysis of drug-resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia, Russia. *Transbound Emerg Dis*. 2022; 69(5): e1800–e1814. doi: 10.1111/tbed.14515
10. Огарков О.Б., Синьков В.В., Кондратов И.Г., Жданова С.Н., Орлова Е.А., Хромова П.А. Разработка ПЦР-РВ метода для выявления туберкулезных и нетуберкулезных микобактерий в клиническом материале на основе полиморфизма гена белка теплового шока. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69(8): 421–426. [Ogarkov OB, Sinkov VV, Kondratov IG, Zhdanova SN, Orlova EA, Khromova PA. Development of a PCR-RT method for detection of tuberculous and non-tuberculous mycobacteria in clinical samples by polymorphism of gene heat shock protein. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69(8): 421–426. (In Russ.)). doi: 10.51620/0869-2084-2024-69-8-421-426
11. Ogarkov O, Zhdanova S, Sinkov V, Khromova P, Orlova E, Heysell S. Quantitative DST determination in a patient with sepsis from *M. avium* before isolation of strain. *Chest*. 2020; 157(6): A66. doi: 10.1016/j.chest.2020.05.075
12. Огарков О.Б., Жданова С.Н., Орлова Е.А., Хромова П.А., Белькова Н.Л., Синьков В.В. и др. Секвенирование 16S-ITS-23S фрагмента рибосомального оперона обеспечивает необходимые и достаточные условия для идентификации микобактерий. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(5): 976–980. [Ogarkov OB, Zhdanova SN, Orlova EA, Khromova PA, Belkova NL, Sinkov VV, et al. 16S-ITS-23S rRNA operon segment sequencing provides necessary and sufficient conditions for bacterial species-specific identification. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12(5): 976–980. (In Russ.)). doi: 10.15789/2220-7619-ROS-1871
13. Гашенко А.В., Душина Е.В. Основные тенденции эпидемиологического процесса по ВИЧ-инфекции в крупном регионе за многолетний период (на примере Иркутской области). *Якутский медицинский журнал*. 2026; 1(1): 80–85. [Gashenko AV, Dushina EV. The main trends in the epidemiological process of HIV infection in a large region over a long-term period (on the example of the Irkutsk region). *Yakut Medical Journal*. 2026; 1(1): 80–85. (In Russ.)). doi: 10.25789/YMJ.2026.93.17
14. Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Смирнова Т.Г., Андреевская И.Ю., Киселева Е.А., Черноусова Л.Н. Лекарственная чувствительность медленно растущих нетуберкулезных микобактерий. *Туберкулез и болезни легких*. 2016; 94(4): 43–50. [Andreevskaya SN, Larionova EE, Smirnova TG, Andrievskaya IYu, Kiseleva EA, Chernousova LN. Drug susceptibility of low growing non-tuberculous mycobacteria. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2016; 94(4): 43–50. (In Russ.)). doi: 10.21292/2075-1230-2016-94-4-43-50
15. Brode SK, Daley CL, Marras TK. The epidemiologic relationship between tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial disease: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014; 18(11): 1370–1377. doi: 10.5588/ijtld.14.0120
16. Eliseev P, Hinderaker SG, Haldal E, Tarasova I, Grjibovski A, Mariandyshev A. Diagnosis and treatment of patients with pulmonary nontuberculous mycobacterial diseases in Arkhangelsk, Russia. *Infect Genet Evol*. 2019; 73: 358–361. doi: 10.1016/j.meegid.2019.05.022
17. Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Жестков А.В., Ковалев А.М., Барышникова Л.А., Неняйкин С.С. Сравнительный анализ методов идентификации нетуберкулезных микобактерий, выделенных из клинического материала. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7(3): 285–291. [Lyamin AV, Ismatullin DD, Zhestkov AV, Kovalev AM, Baryshnikova LA, Nenyaykin SS. Comparative analysis of methods for identification of nontuberculous mycobacteria isolated from clinical material. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; 7(3): 285–291. (In Russ.)). doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-285-291
18. Альховик О.И., Мешков И.О., Петренко Т.И., Евдокимова Л.С. Выявление нетуберкулезных микобактерий, циркулирующих в разных регионах Сибири, и анализ их лекарственной устойчивости. *Туберкулез и болезни легких*. 2019; 97(10): 5–11. [Alkhovik OI, Meshkov IO, Petrenko TI, Evdokimova LS. Identification of non-tuberculous mycobacteria circulating in different regions of Siberia and analysis of their drug resistance. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97(10): 5–11. (In Russ.)). doi: 10.21292/2075-1230-2019-97-10-5-11
19. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Эргешов А.Э. Смешанные популяции микобактерий у больных туберкулезом и микобактериозом: частота выявления и спектр видов. *Туберкулез и социально значимые заболевания*. 2023; 11(2): 19–24. [Smirnova TG, Andreevskaya SN, Larionova EE, Chernousova LN, Ergeshov AE. Mixed populations of mycobacteria in patients with tuberculosis and mycobacteriosis: frequency of detection and spectrum of species. *Tuberculosis and Socially Significant Diseases*. 2023; 11(2): 19–24. (In Russ.)). doi: 10.54921/2413-0346-2023-11-2-19-24
20. Aghajani J, Farnia P, Farnia P, Ghanavi J, Saif S, Marjani M, et al. Effect of COVID-19 pandemic on incidence of mycobacterial diseases among suspected tuberculosis pulmonary patients in Tehran, Iran. *Int J Mycobacteriol*. 2022; 11(4): 415–422. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_167_22
21. Bhanushali J, Jadhav U, Ghewade B, Wagh P. Unveiling the Clinical Diversity in Nontuberculous Mycobacteria (NTM) Infections: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2023; 15(11): e48270. doi: 10.7759/cureus.48270
22. Hamid ME. Current Perspectives on *Mycobacterium farcinogenes* and *Mycobacterium senegalense*, the Causal Agents of Bovine Farcy. *Vet Med Int*. 2014; 2014: 247906. doi: 10.1155/2014/247906
23. Hoza AS, Mfinanga SGS, Moser I, König B. Isolation, biochemical and molecular identification of *Nocar*

dia species among TB suspects in northeastern, Tanzania; a forgotten or neglected threat? *BMC Infect Dis.* 2017; 17(1): 407. doi: 10.1186/s12879-017-2520-8

24. Luo C, Zou G, Tan Y, Zhu J, Liu X, Zou C, et al. Epidemiology and Drug Resistance of Pulmonary Nocardiosis Among Tuberculosis-Suspected Patients in Guangzhou, China. *Infect Drug Resist.* 2025; 18: 5557–5566. doi: 10.2147/IDR.S549436

25. Ren J, Sun P, Wang M, Zhou W, Liu Z. Insights into the role of *Streptococcus oralis* as an opportunistic pathogen in infectious diseases. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024; 14: 1480961. doi: 10.3389/fcimb.2024.1480961

26. Sinkov VV, Orlova EA, Ogarkov OB, Suzdalnitsky AE, Kondratov IG, Belkova NL, et al. The Genome of *Staphylococcus epidermidis* Isolated from Caseous Tu-

berculoma. *Russ J Genet.* 2024; 60(10): 1451–1455. doi: 10.1134/S1022795424701011

27. Yu Y, Yang G, Wang Y, Jin F, Wang H, Yu Z, et al. A Rare Strain *Actinomyces geliboluensis* Was First Isolated from the Bronchoalveolar Lavage Fluid of a Patient with Pneumonia. *Infect Drug Resist.* 2023; 16: 3101–3108. doi: 10.2147/IDR.S409701

28. Лямин А.В., Жестков А.В., Исмагуллин Д.Д., Ковалев А.М. Лабораторная диагностика микобактериозов. *Вестник современной клинической медицины.* 2017; 10(1): 29–35. [Lyamin AV, Zhestkov AV, Ismatullin DD, Kovalev AM. Laboratory diagnostics of mycobacterioses. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine.* 2017; 10(1): 29–35. (In Russ.)]. doi: 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35

Сведения об авторах

Орлова Елизавета Андреевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, Институт эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Кулинич София Владимировна – лаборант-исследователь лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, Институт эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: kulinich.sophie@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-0701-2175>

Кондратов Илья Геннадьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, Институт эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Доржиева Марина Евгеньевна – лаборант-исследователь функциональной группы геномных исследований и биоинформационного анализа, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: zdavst8y1te@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-4559-9215>

Суздальницкий Алексей Евгеньевич – торакальный хирург, инженер лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, Институт эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: irksae@mail.ru

Огарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, директор Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Information about the authors

Elizaveta A. Orlova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Epidemic and Social Infections, Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Sofia V. Kulinich – Laboratory Assistant Researcher at the Laboratory of Epidemic and Social Infections, Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: kulinich.sophie@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-0701-2175>

Ilya G. Kondratov – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Epidemic and Social Infections, Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Marina E. Dorzhieva – Laboratory Assistant at the Functional group of Genomic Research and Bioinformatics Analysis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: zdavst8y1te@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-4559-9215>

Alexey E. Suzdalnitsky – Thoracic Surgeon, Laboratory Technician at the Laboratory of Epidemic and Social Infections, Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: irksae@mail.ru

Oleg B. Ogarkov – Dr. Sc. (Med.), Director of the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

ХИРУРГИЯ SURGERY

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ УДАЛЕНИЯ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ТИПА LST ТОЛСТОЙ И ПРЯМОЙ КИШКИ

Архипова А.А.¹,
Анищенко В.В.^{2,3},
Абакарова Д.Х.¹

¹ Клиника на Ленинском проспекте
АО «ГК «Медси» (119071, г. Москва,
Ленинский проспект, 20, строение 1,
Россия)

² ФГБОУ ВО «Новосибирский
государственный медицинский
университет» Минздрава России
(630091, г. Новосибирск, Красный
проспект, 52, Россия)

³ Клинический госпиталь «АВИЦЕННА»
Группы компаний «Мать и дитя»
(630099, г. Новосибирск,
ул. Коммунистическая, д. 17, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Архипова Анна Александровна
e-mail: ierusalimova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Непреложным фактом является связь полипов толстой кишки с колоректальным раком. Соответственно главной мерой предупреждения колоректального рака является удаление эпителиальных новообразований, а эффективность резекции зависит от разных факторов.

Цель. Определить, влияет ли размер, локализация, макроскопический тип, морфологический характер, способ резекции на эффективность удаления сте-
лющихся эпителиальных новообразований толстой и прямой кишки.

Методы. Проведен ретроспективный анализ случаев удаления эпителиаль-
ных новообразований типа LST толстой и прямой кишки за 2023 год. У 165
пациентов с доброкачественными эпителиальными новообразованиями раз-
мерами 11–30 мм (средний размер составил $15 \pm 4,43$ мм) была проведена эн-
доскопическая резекция. Восемью пациентам с гигантскими эпителиальными
новообразованиями размером 6–14 см в длину – до 2/3 окружности просвета
прямой кишки выполнена SILS-трансанальная резекция. Пациентов приглаша-
ли через 3, 6 и 12 месяцев на контрольный осмотр после удаления.

Результаты. Выявлена связь возникновения рецидива эпителиального но-
вообразования типа LST с размером (от 20 до 30 мм, $p = 0,010$), макроскопи-
ческим типом (гранулярный, смешанный, узловой, $p = 0,012$) и морфологи-
ческим характером (тубулярно-ворсинчатая аденома, $p = 0,028$). При удалении
эпителиального образования во всех случаях края раны на слизистой скрупу-
лезно осматривались на предмет остаточной ткани, при обнаружении ре-
зидуальная ткань удалялась полностью. Мы предполагаем, что клетки ту-
булярно-ворсинчатой аденомы могли быть имплантированы инъектором
или петлей в подслизистый слой во время удаления образования. В группе
SILS-TAR рецидивов не было. Однако SILS-port (COVIDIEN) с недавнего времени
снят с производства.

Заключение. Вопрос возможности имплантации клеток доброкачественной
аденомы инъектором или петлей в подслизистый слой во время резекции тре-
бует дальнейшего изучения. Также необходимо продолжить поиск, разработку
новых недорогих и эффективных методик удаления гигантских ворсинчатых
аденом прямой кишки.

Ключевые слова: эпителиальные новообразования, эндоскопическая резек-
ция, SILS-трансанальная резекция

Статья поступила: 13.12.2025
Статья принята: 28.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Архипова А.А., Анищенко В.В., Абакарова Д.Х. Прогностические
параметры, влияющие на эффективность удаления доброкачественных эпителиаль-
ных новообразований типа LST толстой и прямой кишки. *Acta biomedica scientifica*.
2026; 11(4): 190-196. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.19

PROGNOSTIC PARAMETERS AFFECTING THE EFFECTIVENESS OF REMOVING BENIGN EPITHELIAL NEOPLASMS OF THE LST TYPE IN THE COLON AND RECTUM

Arkhipova A.A.¹,
Anishchenko V.V.^{2, 3},
Abakarova D.Kh.¹

¹ Clinic on Leninsky Prospekt, JSC «Medsi Group of Companies» (Leninsky Prospekt, 20, Building 1, Moscow 119071, Russian Federation)

² Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Krasny Prospekt, 52, Novosibirsk 630091, Russian Federation)

³ AVICENNA Clinical Hospital, Mother and Child Group of Companies (Kommunisticheskaya St., 17, Novosibirsk 630099, Russian Federation)

Corresponding author:

Anna A. Arkhipova

e-mail: ierusalimova@gmail.com

ABSTRACT

Background. It is an undeniable fact that colon polyps are associated with colorectal cancer. The main measure for preventing colorectal cancer is the removal of epithelial neoplasms. However, the effectiveness of resection depends on various factors.

Aim. To determine whether the size, location, macroscopic type, morphology, and the method of resection influence the effectiveness of removal of laterally spreading tumors in the colon and rectum.

Methods. We conducted a retrospective analysis of cases of removal of LST type epithelial neoplasms in the colon and rectum in 2023. Endoscopic resection was performed in 165 patients with benign epithelial neoplasms ranging in size from 11 to 30 mm, with an average size of 15 ± 4.43 mm. Eight patients with giant epithelial neoplasms measuring 6–14 cm in length, up to 2/3 of the circumference of the rectal lumen, underwent SILS-transanal resection. Patients were invited for follow-up examination at 3, 6 and 12 months after removal.

Results. We found a relationship between the relapse of the LST type epithelial neoplasm and the size (from 20 to 30 mm, $p = 0.010$), macroscopic type (granular mixed-nodular, $p = 0.012$) and morphology (tubulovillous adenoma, $p = 0.028$) of the previously resected lesion. In all cases, when removing the epithelial lesion, the edges of the wound on the mucosa were carefully examined for residual tissue. If found, the residual tissue was removed completely. We suggest that tubulovillous adenoma cells might have been implanted into the submucosa with an injector or a snare during removal of the lesion. The SILS-TAR group showed no relapses. However, the SILS-port (COVIDIEN) was recently discontinued.

Conclusion. The possibility of accidental implantation of benign adenoma cells into the submucosa with an injector or a snare during resection warrants further study. It is also necessary to continue the search for and development of new affordable and effective methods for removing giant villous adenomas of the rectum.

Key words: epithelial neoplasms, endoscopic resection, SILS-transanal resection

Received: 13.12.2025

Accepted: 28.09.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Arkhipova A.A., Anishchenko V.V., Abakarova D.Kh. Prognostic parameters affecting the effectiveness of removing benign epithelial neoplasms of the LST type in the colon and rectum. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 190-196. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.19

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее часто встречающихся и смертельных видов рака, ежегодно уносящий 1 миллион жизней пациентов по всему миру. В 2024 году, без учета посмертно, в нашей стране зарегистрировано 76 711 больных с КРР, при этом в течение первого года с момента установления диагноза умирает каждый 5-й больной [1]. Американское онкологическое общество прогнозирует значительный рост заболеваемости и смертности от колоректального рака в течение следующего десятилетия среди людей в возрасте 54 лет и младше. Неоспоримым фактом является связь полипов толстой кишки с колоректальным раком [2].

Исследователи отмечают, что существуют различия в факторах риска развития КРР из полипов толстой кишки, касающиеся размера эпителиального новообразования и морфологии (зубчатых полипов, тубулярных, ворсинчатых аденом), это необходимо учитывать для эффективной резекции эпителиальных новообразований, включая хирургическое вмешательство [3, 4]. Так ранее считалось, что зубчатые полипы являются доброкачественными, клинически незначимыми образованиями. Однако сейчас известно, что в 15–30 % случаев рак толстой кишки развивается по зубчатому неопластическому пути [5].

Зубчатые полипы чаще располагаются в проксимальных отделах толстой кишки, имеют нечеткие границы, облаковидную поверхность, бледную окраску, покрыты слизью [6].

Зубчатые поражения нередко возникают в сочетании с аденомами, на долю которых приходится две трети случаев КРР [7, 8]. Аденомы могут располагаться и в левых, и в правых отделах толстой кишки, цвет аденомы обычно темнее, чем окружающая слизистая, поверхность гладкая, границы четкие [9].

Особого внимания заслуживают ворсинчатые опухоли — это крупные стекающиеся аденомы (в среднем от 1,5 до 6 см), обильно кровоснабжающиеся, выстланные тонкими ворсинками; ворсинчатые опухоли могут иметь мелкодольчатое сосочковое строение, склонны рецидивировать, часто располагаются в прямой кишке и ректосигмоидном соединении [10], что заслуживает особого внимания, поскольку на долю КРР этой локализации приходится 42 % [1]. И зубчатые и тубулярные, и ворсинчатые полипы имеют злокачественный потенциал, однако эпителиальные новообразования, классифицируемые как крупные, несут в себе больший риск развития карциномы [4]. Для латерально распространяющихся опухолей (LST) характерен минимальный размер 1 см и стекающийся рост, позволяющий им достигать гигантских размеров до 28 см. Латерально растущие опухоли подразделяют на гранулярные и негранулярные, опухоли негранулярного типа считают более агрессивными. Появление информации о разных факторах, способных повлиять на эффективность удаления эпителиальных образований, легло в основу нашего исследования [11, 12].

Цель — определить, влияет ли размер, локализация, макроскопический тип, морфологический характер,

способ резекции на эффективность и безопасность удаления стекающегося эпителиального новообразования толстой и прямой кишки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ случаев удаления эпителиальных новообразований типа LST толстой и прямой кишки у 173 пациентов в АО «АВИЦЕННА» и АО «ГК «Медси» (г. Москва) эндоскопическими методами и SILS-трансанальной резекцией в 2023 году.

В группу пациентов, которым было выполнено эндоскопическое удаление, мужчин вошло 64 (38,79 %), женщин – 101 (61,21 %). Возраст находился в пределах от 31 до 75 лет, средний возраст составил $49 \pm 9,03$ лет. В исследование вошли больные с доброкачественными эпителиальными новообразованиями типа LST размерами 11–30 мм, средний размер составил $15 \pm 4,43$ мм. У 31 пациента два и более эпителиальных новообразования типа LST. Удаленные опухоли локализовались в 29,35 % в восходящем отделе, в 29,35 % в сигмовидной кишке, 22,88 % в прямой кишке, 7,46 % в поперечно ободочной, 5,98 % в нисходящем отделе, 4,98 % в слепой кишке. Латерально распространяющиеся опухоли разделяли на гранулярный тип (88,55 %), реже – негранулярный (11,45 %), гранулярные разделяли на гомогенные и смешанные узловые.

В исследование включены пациенты, чьи эпителиальные новообразования были извлечены из просвета полого органа и направлены на гистологическое исследование, в 50,75 % диагностирована тубулярная аденома, в 30,84 % – сидячее зубчатое образование, в 16,42 % – тубулярно-ворсинчатая аденома, в 1,99 % – гиперпластический полип.

В группу трансанальной резекции с использованием мягкого монопорта (SILS-TAR) включено 8 пациентов с диагнозом ворсинчатая опухоль, мужчин из них – 3 (37,5 %), женщин 5 – (62,5 %), средний возраст которых составил $63 \pm 6,26$ лет. Во всех случаях опухоли были представлены стекающимися аденомами от 6 до 14 см в длину – $2/3$ поверхности слизистой прямой кишки. Все ворсинчатые опухоли были представлены латерально распространяющимися гранулярными смешанными узловыми новообразованиями.

Всем пациентам выполнен общий анализ крови, коагулограмма, пациентам из группы SILS-TAR выполнялось МРТ органов малого таза, брюшной полости, в случае выявления малигнизации оценивалась инвазия новообразования в стенку прямой кишки.

Используемое оборудование

Olympus Exera III (Olympus, Япония), монитор высокого разрешения Olympus, видеокOLONоскопы Olympus CF-H180L и CF-HQ190L (Olympus, Япония). Также нами использовался электрохирургический блок (Olympus, Япония) и инсуффлятор CO₂. Инструментальная поддержка – эндоскопические петли (MTV Endoskopie, Германия и Olympus, Япония). Для введения физиологического раствора в подслизистый слой стенки толстой

кишки применялись инъекторы (MTV Endoskopie, Германия). Гемостаз выполнялся с помощью одноразовых эндоскопических клипс (Olympus, Япония).

Для трансанальной резекции использовался SILS-port (COVIDIEN) среднего размера, трипорт и обычный лапароскопический инструментарий с видеосистемой.

На контрольный осмотр после эндоскопического удаления приглашали через 6 и 12 месяцев. Из 165 пациентов контрольную колоноскопию прошли 89, из них 11 больных прошли исследование через 18–24 месяца. В группе SILS-TAR контрольное эндоскопическое исследование проведено всем пациентам через 3, 6, 12 месяцев.

Исследование было проведено в соответствии с законодательством РФ, все данные были деперсонализированы. Диагноз эпителиальное новообразование толстой и прямой кишки подтвержден гистологически. Исследование одобрено комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 68 от 16.10.2014 г.).

Статистическую обработку данных проводили в программе XLSTAT 2025.2.0.1432 и Microsoft Excel 16.017932. Количественные значения представлялись в виде средней арифметической и средней ошибки ($M \pm m$). Для проверки гипотезы, что локализация, размер, макроскопический тип, способ удаления, морфологический характер влияют на эффективность и безопасность удаления латерально распространяющихся эпителиальных новообразований толстой и прямой кишки, использовали хи-квадрат (χ^2). Результат считался достоверным при значении абсолютного показателя точности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Были изучены прогностические параметры, влияющие на эффективность и безопасность удаления латерально распространяющихся эпителиальных новообразований, такие как локализация, размер, макроскопический тип, способ удаления, морфологический характер. Во время колоноскопии мы применяли классификации NICE и JNET, при сравнении протоколов колоноскопии и гистологического исследования выявлены расхождения в 12,93 % при дифференциальной диагностике аденом и гиперпластических полипов.

Все гранулярные гомогенные эпителиальные новообразования, локализующиеся в правых отделах толстой кишки, удалены методом холодной полипэктомии. В остальных случаях образования удалялись эндоскопической резекцией слизистой оболочки.

При статистической обработке выявлена связь возникновения рецидива эпителиального новообразования типа LST с размером (от 20 до 30 мм, $p = 0,010$), макроскопическим типом (гранулярный, смешанный, узловой, $p = 0,012$) и морфологическим характером (тубулярно-ворсинчатые аденомы, $p = 0,028$).

При удалении эпителиального образования во всех случаях края раны на слизистой скрупулезно

осматривались на предмет остаточной ткани, при ее обнаружении резидуальная ткань удалялась полностью биопсийными щипцами или петлей. Мы предполагаем, что клетки тубулярно-ворсинчатой аденомы могли быть имплантированы инъектором или петлей в подслизистый слой во время удаления образования [13].

Кроме рецидивов в группе эндоскопического удаления было еще два осложнения, статистически значимой связи которых с изучаемыми прогностическими параметрами не выявлено. В одном случае развилось кишечное кровотечение на 4 день после резекции эпителиального новообразования в прямой кишке. Пациентка была экстренно госпитализирована, во время эндоскопического исследования выявлен послеоперационный дефект слизистой прямой кишки, кровотечение остановлено наложением эндоскопических клипс. Во втором случае — под эпителиальным новообразованием в восходящей ободочной кишке локализовалась липома, после удаления LST края раны на слизистой сведены эндоскопическими клипсами для предупреждения рождения липомы в просвет кишки (рис. 1, 2, 3). Обе пациентки полностью поправились.

Во время контрольной колоноскопии в группе эндоскопического удаления у 15 пациентов были выявлены эпителиальные новообразования тип 0-Is и 0-IIa размерами от 2 до 9 мм в прямой и толстой кишке (табл. 1).

Все вновь выявленные эпителиальные новообразования были миниатюрными или мелкими, при анализе протоколов первой колоноскопии у 15 пациентов качество подготовки — 6 баллов по Бостонской шкале, вероятно, это есть главные факторы того, что полипы были пропущены. Во время контрольной колоноскопии все вновь выявленные эпителиальные новообразования были удалены методом холодной полипэктомии и извлечены для гистологического исследования (гиперпластический полип — 9 случаев, зубчатое новообразование — 2 случая, тубулярная аденома — 4 случая).

ТАБЛИЦА 1
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВНОВЬ ВЫЯВЛЕННЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ В ГРУППЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО УДАЛЕНИЯ ВО ВРЕМЯ КОНТРОЛЬНОЙ КОЛОНОСКОПИИ

TABLE 1
DISTRIBUTION OF NEWLY DETECTED EPITHELIAL NEOPLASMS IN THE ENDOSCOPIC REMOVAL GROUP DURING CONTROL COLONOSCOPY

Размер эпителиального новообразования	Тип 0-Is (количество случаев)	Тип 0-IIa (количество случаев)
Миниатюрные: до 5 мм	4	7
Мелкие: от 6 до 9 мм	-	4



РИС. 1.
Эндофото. Восходящий отдел толстой кишки. В подслизистом слое под эпителиальным новообразованием расположена липома.

FIG. 1.
Endoscopic image. Ascending colon. A lipoma is located in the sub-mucosal layer under the epithelial neoplasm.

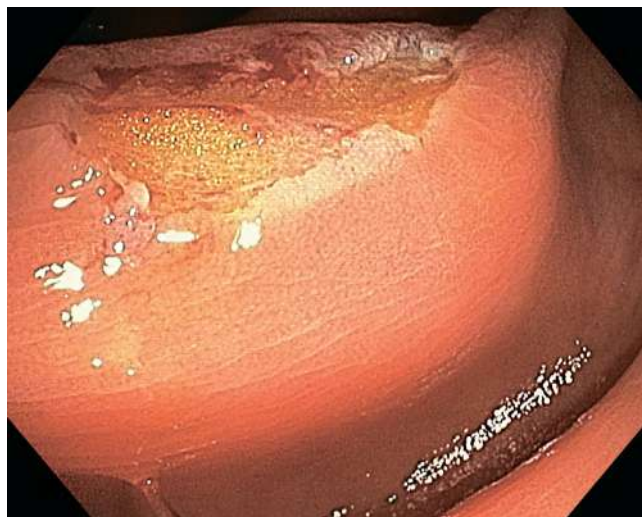


РИС. 2.
Эндофото. Восходящий отдел толстой кишки. Состояние после удаления эпителиального новообразования, в дне раны визуализируется жировая ткань (липома).

FIG. 2.
Endoscopic image. Ascending colon. Status after removal of an epithelial neoplasm. Adipose tissue (lipoma) is visible at the base of the wound.

В группе SILS-TAR рецидивов не было. Постановка самого SILS-port не требует дивульсии в отличие от традиционного трансанального иссечения, после которого возникает или усугубляется несостоятельность тонуса сфинктера. Удаление гигантских эпителиальных новообразований прямой кишки при использовании гибкого SILS порта дает хороший обзор операционного поля, не вызывает конфликта инструментов. Диссекция проводится в пределах здоровых тканей, сохраняется анатомическая целостность полого органа. В случае резидуальной аденомы или при подозрении на малигнизацию возможно выполнить полнослойную резекцию. Применение методики SILS-TAR обеспечивает короткие сроки реабилитации. При использовании мягкого порта не требуются дополнительные вложения, можно работать обычной видеосистемой и лапароскопическими инструментами. Однако SILS-port (COVIDIEN) с недавнего времени снят с производства, сейчас в качестве альтернативного метода для удаления гигантских эпителиальных новообразований прямой кишки рассматривается трансанальная эндоскопическая микрохирургия.

Методика трансанальной микрохирургии демонстрирует хорошие результаты при лечении больших доброкачественных эпителиальных новообразований с латеральным типом роста. По сравнению с эндоскопическими методами в случаях удаления рецидивов аденом методика позволяет перейти к полнослойному иссечению и таким образом получить удовлетворительный результат лечения. Platell C. с командой в проспективном исследовании показали частоту местных рецидивов в 128 случаях (3,1 %) за 5 лет при медиане наблюдения 4,2 года [14]. Тем не менее, хорошая

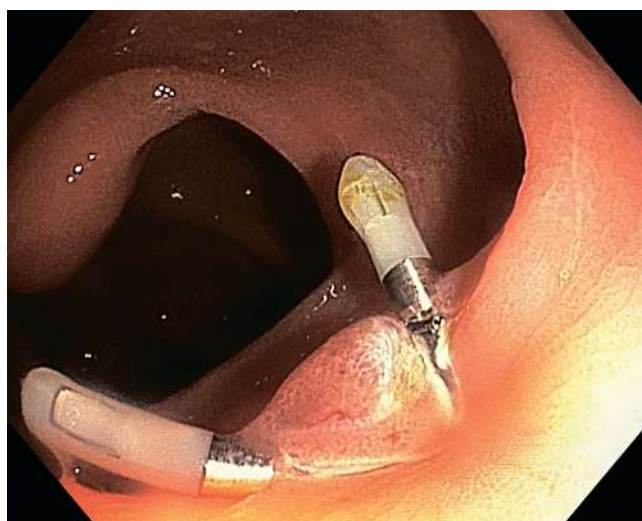


РИС. 3.
Эндофото. Восходящий отдел толстой кишки. Края раны слизистой оболочки сведены эндоскопическими клипсами.

FIG. 3.
Endoscopic image. Ascending colon. The edges of the mucosal wound are brought together with endoscopic clips.

визуализация и возможность выполнить резекцию с любой стороны ограничены из-за жесткой конструкции инструмента и наружного диаметра тубуса 4,5 см ректосигмоидным переходом. В случае выполнения операции в узком тазу это приведет к ограничению амплитуды движения инструментов. Однако в последнее время наблюдается значительный прогресс в области новой робототехники, связанной с разработкой

роботизированных устройств. Технологические тенденции включают в себя создание змееподобных роботов, самособирающихся роботов, роботизированных капсул, самоходных роботов. Эти прикладные технологии разработаны для достижения цели — добраться до образований в ободочной кишке [15]. Однако высокая стоимость полного комплекта для трансанальной микрохирургии является серьезным препятствием для широкого распространения, применение методики окупается в специализированных центрах, где в течение года выполняется более 100 операций.

Перспективным видится метод аргонплазменной абляции с созданием подушки в подслизистом слое, данным методом Mendoza Ladd A, et al. успешно пролечил трех пациентов с эпителиальными образованиями типа LST размерами от 2 до 4 см, одно из представленных в серии образований было рецидивом тубулярной аденомы после резекции слизистой. На контрольной колоноскопии, которую проводили через 11–13 месяцев, во всех случаях выявлены рубцы без признаков резидуальной ткани, проведена биопсия рубца, удаление эпителиального образования подтверждено морфологически.

К преимуществам метода аргонплазменной абляции с созданием подушки в подслизистом слое относят простоту, безопасность и доступность в большинстве эндоскопических подразделений. Главный недостаток — невозможность получить эпителиальное новообразование для патологоанатомического исследования. Предварительная биопсия с гистологическим исследованием может дать представление о морфологическом характере поражения, но не отражает гистологию всего образования. Поэтому Mendoza Ladd A, et al. предлагают применять метод аргонплазменной абляции с созданием подушки в подслизистом слое в тех случаях, когда эндоскопическую резекцию или диссекцию в подслизистом слое провести невозможно [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным нашего исследования, выбор способа эндоскопического удаления, локализация доброкачественного эпителиального новообразования типа LST в толстой и прямой кишке не показали статистически значимой связи с результатами лечения. В то же время в этой группе мы получили рецидив при тубулярно-ворсинчатых аденомах ($p = 0,028$) несмотря на то, что после удаления эпителиального образования края раны на слизистой скрупулезно осматривались на предмет остаточной ткани, при обнаружении резидуальная ткань удалялась полностью. Мы считаем, что вопрос возможности имплантации клеток доброкачественной аденомы инъектором или петель в подслизистый слой во время резекции требует дальнейшего изучения.

В группе SILS-TAR рецидивов не было. Удаление гигантских эпителиальных новообразований прямой

кишки при использовании гибкого SILS-port дает хороший обзор операционного поля, не вызывает конфликта инструментов. Диссекция проводится в пределах здоровых тканей, сохраняется анатомическая целостность полого органа. В случае резидуальной аденомы или при подозрении на малигнизацию возможно выполнить полнослойную резекцию. Применение методики SILS-TAR обеспечивает короткие сроки реабилитации. Однако SILS-port (COVIDIEN) с недавнего времени снят с производства, что подводит к необходимости продолжить поиск, разработку новых недорогих и эффективных методик удаления гигантских ворсинчатых аденом прямой кишки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году / под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. 2025; 275. [The state of oncological care for the population of Russia in 2024 / edited by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. 2025; 275. (In Russ.).]
2. Kotula AE, Korde YV, Oyler HJ, Wakefield MR, Fang Y. Colorectal polyps: pathophysiology, malignant potential, and advancements in therapeutic strategies. *Med Oncol.* 2025; 42(8): 287. doi: 10.1007/s12032-025-02861-8
3. Sninsky JA, Shore BM, Lupu GV, Crockett SD. Risk Factors for Colorectal Polyps and Cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2022; 32(2): 195–213. doi: 10.1016/j.giec.2021.12.008
4. Mandic O, Jovanovic I, Cvetkovic M, Maksimovic J, Radonjic T, Popovic M, et al. Factors Predicting Malignant Occurrence and Polyp Recurrence after the Endoscopic Resection of Large Colorectal Polyps: A Single Center Experience. *Medicina (Kaunas).* 2022; 58(10): 1440. doi: 10.3390/medicina58101440
5. Hyun E, Helewa RM, Singh H, Wightman HR, Park J. Serrated polyps and polyposis of the colon: a brief review for surgeon endoscopists. *Can J Surg.* 2021; 64(6): E561–E566. doi: 10.1503/cjs.018820
6. Kashida H. Endoscopic diagnosis of sessile serrated polyp: A systematic review. *Dig Endosc.* 2019; 31(1): 16–23. doi: 10.1111/den.13263
7. Chu JE, Hamm J, Gentile L, Telford JJ, Schaeffer DF. Serrated Lesion Detection in a Population-based Colon Screening Program. *J Clin Gastroenterol.* 2022; 56(3): 243–248. doi: 10.1097/MCG.0000000000001519
8. Lall V, Ismail AGM, Ayonrinde OT. Disparate age and sex distribution of sessile serrated lesions and conventional adenomas in an outpatient colonoscopy population-implications for colorectal cancer screening? *Int J Colorectal Dis.* 2022; 37(7): 1569–1579. doi: 10.1007/s00384-022-04191-x

9. Kim OZ. Classification of image-enhanced endoscopy in colon tumors. *Clin Endosc.* 2025; 58(3): 337–351. doi: 10.5946/ce.2024.263
10. Гаязова А.Ф., Болотнова Т.В., Куимова Ж.В., Оконежникова Н.С., Семенова К.А., Нагибин С.И. Клиническая характеристика и анатомо-морфологические особенности полипов толстой кишки в практике терапевта амбулаторно-поликлинического учреждения. *Медицинская наука и образование Урала.* 2022; 23(3): 132–137. [Gayazova AF, Bolotnova TV, Kuimova ZhV, Okonechnikova NS, Semenova KA, Nagibin SI. Clinical characteristics and anatomical and morphological features of colon polyps in the practice of an outpatient clinic therapist. *Medical science and education of Ural.* 2022; 23(3): 132–137. (In Russ.)]. doi: 10.36361/18148999_2022_23_3_132
11. Guarner-Argente C, Ikematsu H, Osera S, Fraile M, Ibañez B, Marra-López C, et al. Location, morphology and invasiveness of lateral spreading tumors in the colorectum differ between two large cohorts from an eastern and western country. *Gastroenterol Hepatol.* 2022; 45(6): 440–449. doi: 10.1016/j.gastrohep.2021.07.005
12. Iida T, Chiba H, Hirohata A, Hayashi A, Ebisawa Y, Arimoto J, et al. Electrolyte Depletion Syndrome due to a 28 cm Rectal Villous Tumor: Successful Endoscopic Resection of One of the Largest Tumors Reported to Date-A Case Report. *DEN Open.* 2025; 6(1): e70197. doi: 10.1002/deo2.70197
13. Nakano Y, Toyonaga T, Nishino E, Inoue T, Shinjo I, Han-No H, et al. Recurrence of adenoma after curative endoscopic submucosal dissection for a rectal intramucosal adenocarcinoma in adenoma. *Endosc Int Open.* 2019; 7(4): E621–E624. doi: 10.1055/a-0867-9737
14. Platell C. Transanal endoscopic microsurgery. *ANZ J Surg.* 2009; 79(4): 275–80. doi: 10.1111/j.1445-2197.2009.04859.x
15. Morino M, Forcignanò E, Arezzo A. Initial clinical experience with a novel flexible endoscopic robot for transanal surgery. *Tech Coloproctol.* 2022; 26(4): 301–308. doi: 10.1007/s10151-022-02577-1
16. Mendoza Ladd A, Espinoza J, Garcia C. Endoscopic mucosal ablation – an alternative treatment for colonic polyps: Three case reports. *World J Gastroenterol.* 2020; 26(45): 7258–7262. doi: 10.3748/wjg.v26.i45.7258

Сведения об авторах

Архипова Анна Александровна – доктор медицинских наук, заведующая консультативно-диагностическим отделением клиники на Ленинском проспекте АО «ГК «Медси»; e-mail: ierusalimova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5653-2960>

Анищенко Владимир Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии факультета усовершенствования врачей ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-хирург Клинического госпиталя «АВИЦЕННА» Группы компаний «Мать и дитя»; e-mail: AVV1110@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1178-5205>

Абакарова Диана Хабибовна – врач-эндоскопист консультативно-диагностического отделения клиники на Ленинском проспекте АО «ГК «Медси»; e-mail: ierusalimova@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0002-0017-9402>

Information about the authors

Anna A. Arkhipova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Consultative and Diagnostic Department of the Medsi Clinic on Leninsky Prospekt (AO GK MEDSI); e-mail: ierusalimova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5653-2960>

Vladimir V. Anishchenko – Dr. Sc. (Med.), professor, head of the Department of Surgery, Faculty of Postgraduate Medical Education, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; surgeon, “AVICENNA” Clinical Hospital of the Mother and Child Group of Companies; e-mail: AVV1110@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1178-5205>

Diana Kh. Abakarova – endoscopist of the Consultative and diagnostic department, Medsi Clinic on Leninsky Prospekt (AO GK MEDSI); e-mail: ierusalimova@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0002-0017-9402>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

АДЪЮВАНТ НА ОСНОВЕ СКВАЛЕНА ASV24: ЭФФЕКТИВНОСТЬ УСИЛЕНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К РАЗЛИЧНЫМ ВИРУСНЫМ АНТИГЕНАМ

**Волосникова Е.А.,
Рар А.А.,
Есина Т.И.,
Гогина Я.С.,
Олькин С.Е.,
Мордвинова Е.Д.,
Шаньшин Д.В.,
Ушкаленко Н.Д.,
Исаева А.А.,
Гайворонский С.И.,
Щербаков Д.Н.**

ФГБУН Государственный научный
центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор» Роспотребнадзора (630559,
р.п. Кольцово, Новосибирская область,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Рар Анастасия Анатольевна
e-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Сквален представляет собой перспективную основу для создания новых адъювантных композиций, обладающих сравнимой с традиционными адъювантами эффективностью, но улучшенным профилем безопасности.

Цель исследования. Разработка адъювантной композиции на основе сквалена и оценка ее способности усиливать гуморальный иммунный ответ против трех вирусных антигенов: рецептор-связывающего домена (RBDd) S-белка SARS-CoV-2 варианта Delta, домена III (WDIII) поверхностного белка E вируса Западного Нила и поверхностного гликопротеина (trGPM) вируса Марбург.

Материалы и методы. Адъювант изготавливали в форме масляно-водной эмульсии, содержащей сквален, лецитин и Твин-80, с последующей ультразвуковой гомогенизацией. Мышей линии BALB/c иммунизировали внутримышечно двукратно с интервалом 14 дней. Титры специфических IgG-антител определяли методом ИФА. Статистический анализ проводили с использованием U-критерия Манна – Уитни.

Результаты. Эмульсия ASV24 сохраняла стабильность в течение 12 месяцев. При иммунизации антигеном WDIII, полученным в прокариотической системе *E. coli*, адъювантная активность ASV24 была сопоставима с таковой для гидроксида алюминия. Для антигена RBDd, полученного в клетках CHO, наблюдался тренд к более высоким титрам в группе с ASV24 ($3,6 \times 10^6$) по сравнению с гидроксидом алюминия ($9,6 \times 10^5$), однако статистически значимых различий не выявлено. Выраженное преимущество ASV24 продемонстрировано для trGPM, также полученного использованием клеток CHO: средний обратный титр IgG на 1,5 порядка превышал показатель в группе с гидроксидом алюминия.

Заключение. Адъювантная композиция ASV24 стабильна, а ее эффективность может превосходить гидроксид алюминия при использовании сложных мультимерных антигенов, полученных в эукариотических системах экспрессии. Полученные данные позволяют рассматривать ASV24 как перспективный адъювант для разработки субъединичных вакцин.

Ключевые слова: адъювант, сквален, субъединичная вакцина, рецептор-связывающий домен, RBD, домен III белка E вируса Западного Нила, гликопротеин вируса Марбург, эмульсия, специфические антитела, мыши

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 03.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Волосникова Е.А., Рар А.А., Есина Т.И., Гогина Я.С., Олькин С.Е., Мордвинова Е.Д., Шаньшин Д.В., Ушкаленко Н.Д., Исаева А.А., Гайворонский С.И., Щербаков Д.Н. Адъювант на основе сквалена ASV24: эффективность усиления гуморального иммунного ответа к различным вирусным антигенам. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 197-204. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.20

SQUALENE-BASED ADJUVANT ASV24: THE EFFECTIVENESS OF ENHANCING THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE AGAINST VARIOUS VIRAL ANTIGENS

**Volosnikova E.A.,
Rar A.A.,
Esina T.I.,
Gogina Ya.S.,
Ol'kin S.E.,
Mordvinova E.D.,
Shan'shin D.V.,
Ushkalenko N.D.,
Isaeva A.A.,
Gayvoronskiy S.I.,
Shcherbakov D.N.**

State Research Center of Virology and
Biotechnology «Vector», Federal Service
for Surveillance on Consumer Rights
Protection and Human Well-being
(Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasiya A. Rar
e-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru

ABSTRACT

Background. Squalene represents a promising basis for the development of novel adjuvant compositions with efficacy comparable to traditional adjuvants but with an improved safety profile.

Objective. To develop a novel squalene based adjuvant composition and evaluate its ability to enhance the humoral immune response against three different viral antigens — the receptor binding domain (RBDd) of the SARS CoV 2 Delta variant S protein, domain III (WDIII) of the West Nile virus E surface protein, and the surface glycoprotein (trGPM) of the Marburg virus.

Materials and methods. The adjuvant was prepared as an oil-in-water emulsion containing squalene, lecithin and Tween 80, followed by ultrasonic homogenization. BALB/c mice were immunized with two intramuscular injections 14 days apart. Specific IgG antibody titers were determined by ELISA. Statistical analysis was performed using the Mann–Whitney U-test.

Results. The ASV24 emulsion remained stable for 12 months. When immunized with the WDIII antigen produced in the prokaryotic *E. coli* system, the adjuvant activity of ASV24 was comparable to that of aluminum hydroxide. For the RBDd antigen produced in Chinese hamster ovary (CHO) cells, a trend toward higher titers was observed in the ASV24 group (3.6×10^6) compared to aluminum hydroxide (9.6×10^5), although no statistically significant differences were found. A pronounced advantage of ASV24 was demonstrated for trGPM, also produced in CHO cells: the mean reciprocal titer was 1.5 orders of magnitude higher than that in the aluminum hydroxide group.

Conclusion. The ASV24 adjuvant composition is stable, and its efficacy can surpass that of aluminum hydroxide when using complex multimeric antigens produced in eukaryotic expression systems. These findings suggest that ASV24 is a promising adjuvant for the development of subunit vaccines.

Keywords: adjuvant, squalene, subunit vaccine, receptor-binding domain, RBD, West Nile virus protein E domain III, Marburg virus glycoprotein, emulsion, specific antibodies, mice

Received: 31.03.2026
Accepted: 03.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Volosnikova E.A., Rar A.A., Esina T.I., Gogina Ya.S., Ol'kin S.E., Mordvinova E.D., Shan'shin D.V., Ushkalenko N.D., Isaeva A.A., Gayvoronskiy S.I., Shcherbakov D.N. Squalene-based adjuvant ASV24: the effectiveness of enhancing the humoral immune response against various viral antigens. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 197-204. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.20

ВВЕДЕНИЕ

Одним из центральных направлений современной вакцинологии является разработка субъединичных вакцин. Данный подход, основанный на использовании очищенных рекомбинантных белков, позволяет создавать иммунобиологические препараты, минимизируя риск побочных реакций [1]. В отличие от живых и векторных, субъединичные вакцины не содержат генетический материал и не способны к реверсии вирулентности, что делает их предпочтительным выбором для иммунизации лиц с ослабленным иммунитетом и детей. Однако обратной стороной высокой безопасности субъединичных антигенов зачастую является их низкая иммуногенность, обусловленная отсутствием патоген-ассоциированных молекулярных паттернов и быстрой элиминацией из организма. Это делает необходимым включение в состав таких вакцин усилителей иммунного ответа — адъювантов [2, 3]. Адъюванты способствуют усилению иммунного ответа посредством ряда механизмов, таких как формирование депо антигена в месте инъекции, рекрутинг и активация антигенпрезентирующих клеток, а также стимуляция врожденного иммунитета [4, 5]. Одним из требований для современных адъювантов является способность индукции клеточного иммунитета [6, 3].

Основа любой субъединичной вакцины — белок или его фрагмент, на который и формируется протективный иммунный ответ. Выбор антигена и системы продукции может оказывать значительное влияние на иммуногенность конечного продукта. Для создания рекомбинантных белков используются различные экспрессионные системы, прокариотические (в основном *E. coli*), дрожжевые, системы на основе клеток насекомых (бакуловирусы) и клеток млекопитающих (CHO, HEK293 и др.). Каждая из систем имеет свои преимущества и ограничения. Использование *E. coli* обеспечивает высокий выход целевого белка и низкую стоимость производства, однако они часто не способны обеспечить корректный фолдинг белков и необходимые посттрансляционные модификации (гликозилирование, фосфорилирование и др.). Напротив, клетки млекопитающих, позволяют получать белки, максимально приближенные по структуре к нативным вирусным антигенам, что повышает шансы на индукцию антител, распознающих конформационные эпитопы реальной вирусной частицы [1]. В идеале, эффективные адъюванты должны обеспечивать усиление иммунного ответа в независимости от системы продукции антигенов.

Среди перспективных классов адъювантов особое место занимают композиции на основе сквалена — биodeградируемого, нетоксичного и биосовместимого природного тритерпена, являющегося предшественником стероидов и холестерина в организме человека [7]. Эмульсии сквалена, такие как MF59 и AS03, уже доказали свою эффективность и безопасность в составе лицензированных вакцин [8, 6]. Однако сложность производства, необходимость оптимизации

физико-химических свойств и состава для конкретных антигенов, а также поиск путей повышения стабильности и снижения реактогенности стимулируют активную разработку новых, более эффективных скваленсодержащих композиций [9, 10]. Кроме того, ведутся работы по комбинированию скваленовых эмульсий с иммуностимуляторами (например, агонистами Toll-подобных рецепторов) для создания адъювантов нового поколения, способных преодолевать иммунную толерантность и индуцировать более сильный и длительный ответ [11].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью данной работы являлась разработка новой адъювантной композиции на основе сквалена и оценка ее способности усиливать гуморальный иммунный ответ против трех различных вирусных антигенов: рецептор-связывающего домена (RBDd) S-белка SARS-CoV-2 варианта Delta, домена III (WDIII) поверхностного белка E вируса Западного Нила (WNV) и тримерного варианта гликопротеина (trGPM) вируса Марбург (MARV).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение рекомбинантных белков

Для получения рекомбинантного белка WDIII была сконструирована плазмида pET32-DIII WN, содержащая последовательность, кодирующую DIII поверхностного белка E вируса Западного Нила. Разработанной плазмидой pET32-DIII WN трансформировали *E. coli* штамм BL21(DE3). Полученный штамм культивировали на среде LB, биомассу подвергали ультразвуковому разрушению. Белок выделяли при помощи аффинной и ионообменной хроматографии.

Для получения рекомбинантных белков RBDd и trGPM были сконструированы плазмиды pVEAL3-RBDd и pVEAL3-GPM, содержащие последовательности, кодирующие RBD спайкового белка SARS-CoV-2 варианта Delta и тримерный вариант GP вируса Марбург. Разработанными плазмидами, совместно с плазмидой pSB100, трансфицировали клетки CHO-K1. Клетки культивировали в среде HyClone. Белок выделяли из культуральной жидкости при помощи аффинной и ионообменной хроматографии.

Методом денатурирующего электрофореза в 12 % полиакриламидном геле чистота полученных белков составляла не менее 95 %. Подлинность белков определяли методом ИФА с использованием специфических моноклональных антител (9E2 для WDIII, MR191 для trGPM, 6b3 для RBDd). Подтверждение третичной структуры белков не проводили.

Получение адъюванта и вакцинных композиций

В связи с гидрофобной природой сквалена, адъювант изготавливали в форме эмульсии «масло-в-воде». Для приготовления гидрофобной фазы смешивали

4,3 мл сквалена (8,6 % от конечного объема) и 0,4 мл лецитина. Гидрофильную фазу готовили растворением 0,5 мл Твин-80 в 39,3 мл 50 мМ натрий-фосфатного буфера (pH 7,3). После объединения фаз проводили диспергирование частиц ультразвуком с частотой 22 кГц (3 цикла по 1,5 минуты). Полученный препарат адъюванта ASV24 стерилизовали фильтрацией через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм и смешивали с субстанцией антигена RBDd (концентрация 1 мг/мл), WDIИ (концентрация 1 мг/мл) или trGPM (концентрация 1 мг/мл), доводя объем до 50 мл натрий-фосфатным буфером.

Стабильность эмульсии оценивали в течение 12 месяцев при хранении при температуре 2–8 °С по отсутствию расслоения. Содержание сквалена в конечном препарате подтверждали методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе LC-20 Prominence («Shimadzu») с использованием ацетонитрила в качестве подвижной фазы и внешнего стандарта сквалена. Валидация хроматографической методики проводилась по следующим параметрам: специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

Иммунизация и оценка иммунного ответа

Все экспериментальные протоколы и процедуры были проведены в соответствии с рекомендациями Хельсинкской декларации и одобрены комитетом по биоэтике ГНЦ ВБ «Вектор» (протокол № 5 от 1 октября 2020 г.). В исследовании использовали 90 самцов мышей линии BALB/c. Иммунизацию проводили двукратно внутримышечно с интервалом в 14 дней (200 мкл/животное). Животные были распределены на следующие группы (по 10 мышей в каждой):

1. Опытные группы: иммунизация RBDd, WDIИ или trGPM в дозе 50 мкг на животное, в комплексе с разработанной адъювантной композицией ASV24;
2. Группы положительного контроля: иммунизация RBDd, WDIИ или trGPM, все в дозе 50 мкг на животное, в комплексе с адъювантом на основе гидроксида алюминия;
3. Группы сравнения: иммунизация RBDd, WDIИ или trGPM, все в дозе 50 мкг без адъюванта;
4. Отрицательный контроль: введение физиологического раствора.

Через 10 суток после второй иммунизации у мышей отбирали кровь из ретроорбитального синуса. Титры специфических IgG-антител в сыворотках определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни и H-критерия Краскала – Уоллиса в программе GraphPad Prism 6.0. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Разработанная методика позволила получить стабильную масляно-водную эмульсию. Согласно

данным валидированной ВЭЖХ-методики, фактическое содержание сквалена в готовом препарате составило расчетные 8,6 % (относительное стандартное отклонение не превышало 2 %), что свидетельствует о контролируемости и воспроизводимости технологии производства. Через 12 месяцев хранения при 2–8 °С содержание сквалена сохранилось на уровне 8,5 %, признаков расслоения эмульсии не наблюдалось. Адъювант ASV24 был стабильным в течение 12 месяцев при хранении в условиях холодильника (2–8 °С), что соответствует стандартным требованиям, предъявляемым к лекарственным препаратам.

В ходе исследований было установлено, что разработанная адъювантная композиция на основе сквалена обладает выраженной способностью усиливать гуморальный иммунный ответ, однако ее эффективность варьируется в зависимости от природы антигена и используемой системы экспрессии.

Для антигена WDIИ, полученного с использованием *E. coli*, использование адъюванта ASV24 привело к повышению выработки специфических антител по сравнению с группой без адъюванта. Средний геометрический обратный титр IgG [Ig] в этой группе составил $6,40 \pm 0,12$, что соответствует среднему геометрическому титру $2,5 \times 10^6$. Данный показатель был сопоставим со значениями, полученными для группы с гидроксидом алюминия, где средний геометрический обратный титр IgG [Ig] составил $6,50 \pm 0,10$ (средний геометрический титр $3,2 \times 10^6$) (рис. 1).

Средний геометрический обратный титр IgG [Ig] в сыворотках крови мышей, иммунизированных RBDd SARS-CoV-2 совместно с ASV24, достиг значения $6,56 \pm 0,14$ (средний геометрический титр $3,6 \times 10^6$), что примерно в 4 раза превысило показатель для группы с гидроксидом алюминия: $5,98 \pm 0,19$ ($9,6 \times 10^5$) (рис. 2). Адъювантная активность ASV24 была сопоставима с гидроксидом алюминия (статистические различия не значимы). Титры антител в обеих группах с адъювантами (сквален и гидроксид алюминия) были достоверно выше, чем в группе, где антиген вводился без адъюванта.

При иммунизации тримерным вариантом поверхностного гликопротеина вируса Марбург разработанный адъювант ASV24 продемонстрировал более выраженную способность усиливать иммунный ответ по сравнению с гидроксидом алюминия. Средний геометрический обратный титр IgG [Ig] в группе с ASV24 составил $5,80 \pm 0,22$ ($6,4 \times 10^5$), что статистически значимо выше, чем в группе с $Al(OH)_3$: $5,23 \pm 0,18$ ($1,7 \times 10^3$) ($p < 0,001$) (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе данной работы была разработана и охарактеризована новая адъювантная композиция на основе сквалена ASV24, стабилизированная лецитином и Твин-80. Проведенные исследования продемонстрировали, что разработанный адъювант способен эффективно

усиливать гуморальный иммунный ответ против трех различных рекомбинантных вирусных антигенов, при этом результат отличался в зависимости от антигена и системы его продукции.

Важной характеристикой любой адъювантной системы является ее стабильность при хранении, поскольку это определяет возможность практического применения препарата. Показано, что ASV24 сохраняет стабильность в течение 12 месяцев при температуре 2–8 °C. Это сопоставимо с показателями стабильности адъювантов, входящих в состав зарегистрированных лекарственных средств, таких как MF59 (стабильность не менее 18 месяцев) и AS03 (не менее 12 месяцев) [12, 13]. Используемый метод диспергирования ультразвуком позволил получить эмульсию с заданным содержанием сквалена (8,6 %), что подтверждено ВЭЖХ-анализом.

Наиболее интересные результаты получены при сравнении эффективности ASV24 на антигенах,

полученных с использованием различных систем экспрессии.

Для антигена WDIII с использованием *E. coli*, адъювантная активность ASV24 оказалась сопоставимой с таковой для гидроксида алюминия [14]. При использовании антигена RBDd, полученного в клетках CHO, также не наблюдалось статистически значимых различий между группами с ASV24 и гидроксидом алюминия. Однако титры в группе с ASV24 ($3,6 \times 10^6$) были несколько выше ($9,6 \times 10^5$), чем в группе с $Al(OH)_3$.

Лучший результат был получен для ASV24 при иммунизации тримерным вариантом гликопротеина вируса Марбург. В этом случае средний геометрический титр специфических антител в группе с ASV24 ($6,4 \times 10^5$) статистически значимо превышал показатель в группе с гидроксидом алюминия ($1,7 \times 10^5$). Данный результат заслуживает внимания, поскольку тримерные вирусные гликопротеины представляют собой более сложные антигенные мишени, чья конформационная

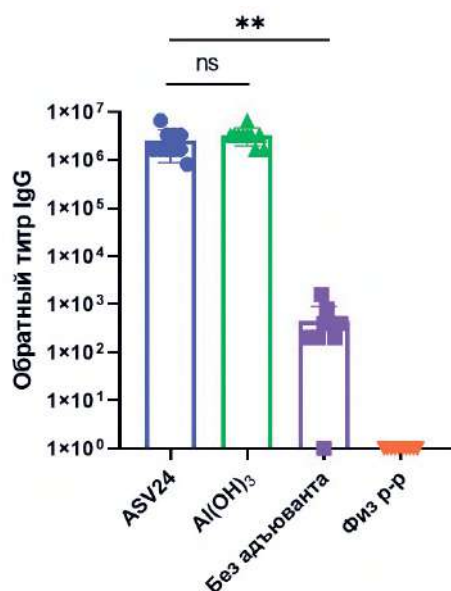


РИС. 1.

Титры антител IgG, специфичных к DIII WNV, определённые методом ИФА. ASV24 – сыворотки крови мышей, иммунизированных DIII WNV в комплексе с адъювантом ASV24; $Al(OH)_3$ – сыворотки крови мышей, иммунизированных DIII WNV в комплексе с гидроксидом алюминия; без адъюванта – сыворотки крови мышей, иммунизированных белком WDIII; физ. р-р – сыворотки крови мышей, получавших физиологический раствор (ns – отличие не значимо; ** – $p < 0,001$).

FIG. 1.

Titers of IgG antibodies specific to the DIII WNV, determined by ELISA. Samples included: ASV24 – blood sera from mice immunized with DIII WNV and ASV24 adjuvant, $Al(OH)_3$ – blood sera from mice immunized with DIII WNV and aluminum hydroxide, no adjuvant – blood sera from mice immunized with WDIII, PS – blood sera from mice administrated with physiological saline (ns – not significant; ** – $p < 0.001$).

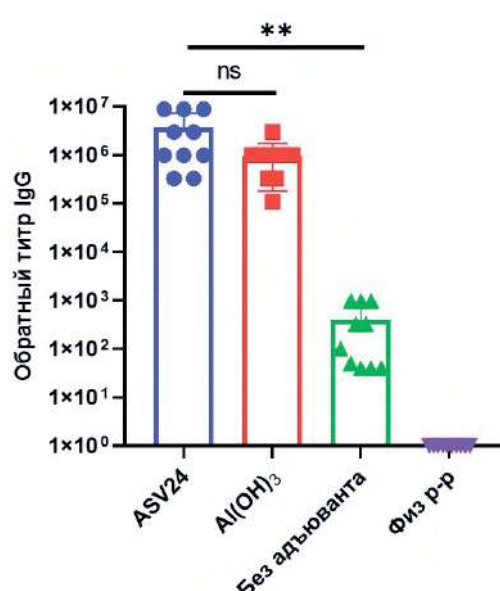


РИС. 2.

Титры антител IgG, специфичных к RBD спайкового белка SARS-CoV-2 варианта Delta, определённые методом ИФА. ASV24 – сыворотки крови мышей, иммунизированных RBDd в комплексе с адъювантом ASV24; $Al(OH)_3$ – сыворотки крови мышей, иммунизированных RBDd в комплексе с гидроксидом алюминия; без адъюванта – сыворотки крови мышей, иммунизированных белком RBDd; физ. р-р – сыворотки крови мышей, получавших физиологический раствор (ns – отличие не значимо; ** – $p < 0,001$).

FIG. 2.

Titers of IgG antibodies specific to the RBD of the SARS-CoV-2 Delta variant S protein, determined by ELISA. Samples included: ASV24 – blood sera from mice immunized with RBDd and ASV24 adjuvant, $Al(OH)_3$ – blood sera from mice immunized with RBDd and aluminum hydroxide, no adjuvant – blood sera from mice immunized with RBDd, PS – blood sera from mice administrated with physiological saline (ns – not significant; ** – $p < 0.001$).

структура критически важна для индукции нейтрализующих антител [15].

Лучшие результаты для ASV24 в случае trGPM можно объяснить особенностями взаимодействия скваленовых эмульсий с антигенами и иммунной системой. В отличие от гидроксида алюминия, который преимущественно адсорбирует антигены за счет электростатических взаимодействий и формирует депо в месте инъекции [16], эмульсии типа «масло-в-воде» обеспечивают более эффективную доставку антигена в лимфатические узлы. Было показано, что скваленовые эмульсии способствуют транспорту антигена в дренирующие лимфоузлы в составе наночастиц, где они эффективно захватываются субкапсулярными макрофагами и дендритными клетками [17, 18]. Кроме того, эмульсии сквалена активируют врожденный иммунитет через сигнальные пути, связанные с рецепторами, распознающими липидные компоненты [19].

Для тримерных антигенов, таких как trGPM, сохранение нативной четвертичной структуры имеет

первостепенное значение. Можно предположить, что мягкие условия приготовления вакцинных композиций с ASV24 (отсутствие адсорбции) позволяют лучше сохранить конформацию тримера. В случае с гидроксидом алюминия процесс адсорбции может приводить к частичной денатурации [20], что отрицательно влияет на параметры индуцируемого гуморального ответа. Полученные результаты согласуются с данными литературы, демонстрирующими высокую эффективность скваленовых эмульсий для усиления иммунного ответа против сложных вирусных антигенов. В частности, адъювант MF59 (Novartis) используется в составе вакцин против гриппа и доказал свою способность индуцировать более широкий и длительный иммунный ответ по сравнению с традиционными адъювантами [8, 21]. AS03 (GSK) в составе вакцин против пандемического гриппа и COVID-19 показал возможность индукции кросс-нейтрализующих антител [22, 23].

Несмотря на полученные результаты, исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, оценка иммунного ответа ограничена определением титров IgG, тогда как для вирусных инфекций критическое значение имеет также клеточный иммунитет и функциональная активность антител (вирус-нейтрализация). В дальнейшем необходимо оценить способность ASV24 индуцировать нейтрализующие антитела, особенно в случае с trGPM MARV, а также изучить активацию Т-клеточного звена. Во-вторых, исследование проведено на мышах линии BALB/c, для подтверждения универсальности адъювантного эффекта требуются эксперименты на других видах животных (кролики, приматы). В-третьих, не изучалась длительность сохранения иммунного ответа, что важно для оценки потенциала адъюванта в составе вакцин длительного действия.

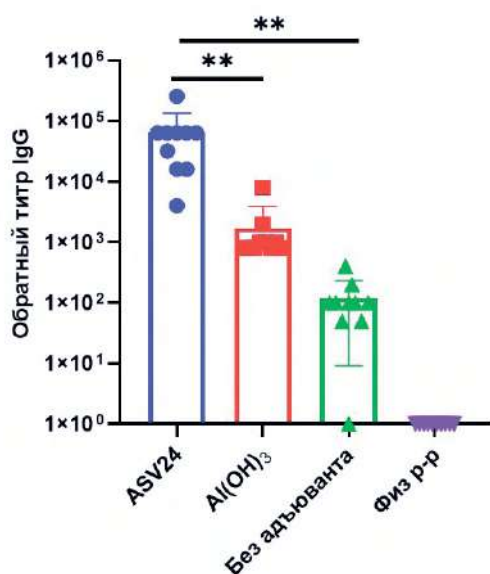


РИС. 3.

Титры антител IgG, специфичных к тримеру поверхностного гликопротеина MARV, определённые методом ИФА. ASV24 – сыворотки крови мышей, иммунизированных trGPM в комплексе с адъювантом ASV24; Al(OH)₃ – сыворотки крови мышей, иммунизированных trGPM в комплексе гидроксидом алюминия; без адъюванта – сыворотки крови мышей, иммунизированных trGPM; физ. р-р – сыворотки крови мышей, получавших физиологический раствор (ns – отличие незначимо ** – $p < 0,001$).

FIG. 3.

Titers of IgG antibodies specific to the MARV surface glycoprotein trimer, determined by ELISA. Samples included: ASV24 – blood sera from mice immunized with trGPM and ASV24 adjuvant, Al(OH)₃ – blood sera from mice immunized with trGPM and aluminum hydroxide, no adjuvant – blood sera from mice immunized with trGPM, PS – blood sera from mice administrated with physiological saline (ns – not significant; ** – $p < 0.001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная адъювантная композиция на основе сквалена ASV24 характеризуется высокой стабильностью и способностью эффективно усиливать гуморальный иммунный ответ против рекомбинантных вирусных антигенов. Показано, что эффективность ASV24 может превосходить таковую для гидроксида алюминия при использовании сложных мультимерных антигенов, полученных в эукариотических системах экспрессии. Полученные данные позволяют рассматривать ASV24 как перспективный адъювант для разработки субъединичных вакцин.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственного задания, Тема ГЗ-23/26 «Разработка и изучение новых адъювантных систем».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Apostolopoulos V, Chavda VP (eds.). *Advanced vaccination technologies for infectious and chronic diseases: A Guide to vaccinology*. Academic Press. 2024: 51–62. doi: 10.1016/B978-0-443-18564-9.00011-4
2. Xing J, Zhao X, Li X, Fang R, Sun M, Zhang Y, et al. The recent advances in vaccine adjuvants. *Front Immunol*. 2025; 16: 1557415. doi: 10.3389/fimmu.2025.1557415
3. Verma SK, Mahajan P, Singh NK, Gupta A, Aggarwal R, Rappuoli R, et al. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective. *Front Immunol*. 2023; 14: 1043109. doi: 10.3389/fimmu.2023.1043109
4. Cui Y, Ho M, Hu Y, Shi Y. Vaccine adjuvants: current status, research and development, licensing, and future opportunities. *J Mater Chem B*. 2024; 12(17): 4118–4137. doi: 10.1039/d3tb02861e
5. Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine*. 2019; 37(24): 3167–3178. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.04.055
6. Facciola A, Visalli G, Laganà A, Di Pietro A. An overview of vaccine adjuvants: current evidence and future perspectives. *Vaccines*. 2022; 10(5): 819. doi: 10.3390/vaccines10050819
7. Mendes A, Azevedo-Silva J, Fernandes JC. From sharks to yeasts: Squalene in the development of vaccine adjuvants. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022; 15(3): 265. doi: 10.3390/ph15030265
8. Winokur PL, Hegmann TE, Keitel WA, Bernstein DI, Frey SE, Bryant C, et al. Safety and Immunogenicity of a monovalent inactivated influenza A/H5N8 virus vaccine given with and without AS03 or MF59 adjuvants in healthy adults. *Clin Infect Dis*. 2023: ciac983. doi: 10.1093/cid/ciac983
9. Волосникова Е.А., Щербаков Д.Н., Ермолаев В.В., Волкова Н.В., Каплина О.Н., Боргоякова М.Б. и др. Разработка вакцинного адъюванта на основе сквалена и изучение его адъювантных свойств. *Медицинская иммунология*. 2023; 25(3): 685–690. [Volosnikova EA, Shcherbakov DN, Volkova NV, Esina TI, Zaikovskaya AV, Shimina GG, et al. Development of a vaccine adjuvant based on squalene and study of its adjuvant properties. *Medical Immunology*. 2023; 25(3): 685–690. (In Russ.).] doi: 10.15789/1563-0625-DOA-2824
10. Кузнецова Т.А., Персиянова Е.В., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. Адъюванты гриппозных вакцин: новые возможности использования сульфатированных полисахаридов из морских бурых водорослей. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(1): 5–11. [Kuznetsova TA, Persyanova EV, Zaporozhets TS, Besednova NN. Adjuvants of influenza vaccines: new possibilities of using sulphated polysaccharides from marine brown algae. *Problems of Virology*. 2019; 64(1): 5–11. (In Russ.).] doi: 10.18821/0507-4088-2019-64-1-5-11
11. Волосникова Е.А., Волкова Н.В., Ермолаева В.В., Боргоякова М.Б., Несмеянова В.С., Зайковская А.В. и др. Использование адъювантных композиций на основе сквалена обеспечивает индукцию антител, нейтрализующих SARS-CoV-2. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2024; 177(2): 188–192. [Volosnikova EA, Volkova NV, Ermolaev VV, Borgoyakova MB, Nesmeyanova VS, Zaykovskaya AV, et al. Use of adjuvant compositions based on squalene ensures induction of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2024; 177(2): 221–224. (In Russ.).] doi: 10.1007/s10517-024-06160-6
12. O'Hagan DT, Ott GS, Van Nest G, Rappuoli R, Giudice GD. The history of MF59® adjuvant: a phoenix that arose from the ashes. *Expert Rev Vaccines*. 2013; 12(1): 13–30. doi: 10.1586/erv.12.140
13. Garçon N, Vaughn DW, Didierlaurent AM. Development and evaluation of AS03, an Adjuvant System containing α -tocopherol and squalene in an oil-in-water emulsion. *Expert Rev Vaccines*. 2012; 11(3): 349–366. doi: 10.1586/erv.11.192
14. Hogenesch H. Mechanism of immunopotentiality and safety of aluminum adjuvants. *Front Immunol*. 2013; 3: 406. doi: 10.3389/fimmu.2012.00406
15. King LB, West BR, Schendel SL, Saphire EO. The structural basis for filovirus neutralization by monoclonal antibodies. *Curr Opin Virol*. 2018; 53: 196–202. doi: 10.1016/j.coi.2018.05.001
16. Kiesewetter A, Gupta A, Heinen-Kreuzig A, Greenhalgh T, Stein A. Improved endotoxin removal using ecofriendly detergents for intensified plasmid capture. *Biotechnol Prog*. 2023; 39(6): e3375. doi: 10.1002/btpr.3375
17. Liang F, Lindgren G, Lin A, Thompson EA, Ols S, Röhss J, et al. Efficient targeting and activation of antigen-presenting cells *in vivo* after modified mRNA vaccine administration in Rhesus Macaques. *Mol Ther*. 2017; 25(12): 2635–2647. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.08.006
18. O'Hagan DT, Lodaya RN, Lofano G. The continued advance of vaccine adjuvants – ‘we can work it out’. *Semin Immunol*. 2020; 50: 101426. doi: 10.1016/j.smim.2020.101426
19. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov*. 2018; 17(4): 261–279. doi: 10.1038/nrd.2017.243
20. Laera D, Hogenesch H, O'Hagan DT. Aluminum Adjuvants ‘Back to the Future’. *Pharmaceutics*. 2023; 15(7): 1884. doi: 10.3390/pharmaceutics15071884
21. Wilkins AL, Kazmin D, Napolitani G, Clutterbuck EA, Pulendran B, Siegrist CA, et al. AS03- and MF59-adjuvanted influenza vaccines in children. *Front Immunol*. 2017; 8: 1760. doi: 10.3389/fimmu.2017.01760
22. de Bruyn G, Wang J, Purvis A, Ruiz MS, Adhikarla H, Alvi S, et al. Safety and immunogenicity of a variant-adapted SARS-CoV-2 recombinant protein vaccine with AS03 adjuvant as a booster in adults primed with authorized vaccines: a phase 3, parallel-group study. *EClinicalMedicine*. 2023; 62: 102109. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.102109
23. Khurana S, King LR, Manischewitz J, Posadas O, Mishra AK, Liu D, et al. Licensed H5N1 vaccines generate cross-neutralizing antibodies against highly pathogenic H5N1 clade 2.3.4.4b influenza virus. *Nat Med*. 2024; 30(10): 2771–2776. doi: 10.1038/s41591-024-03189-y

Сведения об авторах

Волосникова Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5028-5647>

Рар Анастасия Анатольевна – инженер-микробиолог отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: raranas@yandex.ru, rar_aa@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0000-2652-8434>

Есина Татьяна Игоревна – научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: esina_ti@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9006-8313>

Гогина Яна Станиславовна – старший научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: gogina_yas@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8986-0477>

Олкин Сергей Евгеньевич – ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: olkin@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0006-7158-9889>

Мордвинова Екатерина Денисовна – стажёр-исследователь отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: mordvinova97@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2916-2866>

Шаншин Даниил Васильевич – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: shanshin_dv@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9985-1582>

Ушкаленко Никита Дмитриевич – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник отдела разработки и производства средств диагностики ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: ushkalenko_nd@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2171-7444>

Исаева Анастасия Александровна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: isaeva_aa@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4085-2887>

Гайворонский Сергей Игоревич – стажёр-исследователь отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: gajvoronskij_si@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0004-0276-7229>

Щербakov Дмитрий Николаевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; e-mail: scherbakov_dn@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>

Information about the authors

Ekaterina A. Volosnikova – Cand. Sc. (Biol.), leading research fellow of the Department of Technology Development and Pilot Production of biological products, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5028-5647>

Anastasiya A. Rar – microbiologist engineer of the Department of Technology Development and Pilot Production, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: raranas@yandex.ru, rar_aa@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0000-2652-8434>

Tatiana I. Esina – research fellow of the Department of Technology Development and pilot production of biological products, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: esina_ti@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9006-8313>

Yana S. Gogina – senior research fellow of the Department of Technology Development and Pilot Production of Biological Products, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: gogina_yas@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8986-0477>

Sergey E. Olkin – leading research fellow of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: olkin@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0006-7158-9889>

Ekaterina D. Mordvinova – intern researcher of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: mordvinova97@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2916-2866>

Daniil V. Shanshin – Cand. Sc. (Biol.), research assistant of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: shanshin_dv@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9985-1582>

Nikita D. Ushkalenko – Cand. Sc. (Biol.), research assistant of the Department of development and production of diagnostic tools, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: ushkalenko_nd@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2171-7444>

Anastasiya A. Isaeva – senior research fellow of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: isaeva_aa@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4085-2887>

Sergey I. Gayvoronskiy – intern researcher the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: gajvoronskij_si@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0004-0276-7229>

Dmitry N. Shcherbakov – Cand. Sc. (Biol.), lead research fellow of the Department of Biophysics and Environmental Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being; e-mail: scherbakov_dn@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЭКСПРЕССИЕЙ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК ИММУНИТЕТА И ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ M2-ПОДОБНЫХ МАКРОФАГОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕРОЦИТОЗОМ

**Максимова А.А.,
Тыринова Т.В.,
Сахно Л.В.,
Тихонова М.А.,
Шевела Е.Я.,
Останин А.А.,
Черных Е.Р.**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (630099, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
**Максимова Александра
Александровна**
e-mail: parkinson.dses@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Ранее в нашей лаборатории был разработан протокол получения макрофагов с выраженной противовоспалительной и репаративной/нейрорегенераторной активностью, поляризующим фактором для которых является взаимодействие с апоптотическими клетками – эффероцитоз (M2(Eff)). Благодаря уникальному секретому данные клетки являются перспективными кандидатами для клеточной терапии заболеваний, ассоциированных с нейровоспалением. Однако экспрессия ингибиторных рецепторов PD-1 и TIM-3 на M2(Eff) и их связь с продукцией цитокинов остается невыясненной.

Цель. Охарактеризовать экспрессию PD-1 и TIM-3 на макрофагах M2(Eff) и определить их роль в регуляции продукции про- и противовоспалительных цитокинов (IL-10 и TNF-α).

Материалы и методы. Макрофаги получали из моноцитов периферической крови здоровых доноров. Экспрессию PD-1 и TIM-3, а также продукцию IL-10 и TNF-α анализировали методом проточной цитометрии. Для оценки вклада PD-1 и TIM-3 в цитокин-секреторную активность клетки предварительно обрабатывали соответствующими блокирующими антителами и далее определяли внутриклеточный уровень IL-10 и TNF-α.

Результаты. M2(Eff) отличались более высоким уровнем PD-1 и TIM-3 по сравнению с M1 культурами, преимущественно за счет клеток с сочетанной экспрессией данных маркеров, а также более высоким PD-1 и более низким TIM-3 по сравнению с «классическими» M2 макрофагами, поляризованными интерлейкином 4. Доля IL-10+ клеток была выше в культурах M2(Eff), экспрессирующих PD-1, а также в TIM-3-экспрессирующих клетках после стимуляции макрофагов липополисахаридом по сравнению с оппозитными популяциями. Уровень TNF-α был выше в TIM-3+ макрофагах. Блокирование PD-1 на этапе стимуляции липополисахаридом увеличивало долю TNF-α+ клеток, тогда как блокирование TIM-3 не оказывало такого эффекта.

Заключение. Макрофаги M2(Eff) характеризуются уникальным профилем экспрессии PD-1 и TIM-3, и эти молекулы ассоциированы с продукцией цитокинов IL-10 и TNF-α.

Ключевые слова: макрофаги, чек-поинт, цитокины, PD-1, TIM-3, проточная цитометрия

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 26.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Максимова А.А., Тыринова Т.В., Сахно Л.В., Тихонова М.А., Шевела Е.Я., Останин А.А., Черных Е.Р. Взаимосвязь между экспрессией контрольных точек иммунитета и цитокинового профиля M2-подобных макрофагов, индуцированных эффероцитозом. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 205-214. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.21

ASSOCIATION BETWEEN IMMUNE CHECKPOINT EXPRESSION AND THE CYTOKINE PROFILE OF M2-LIKE MACROPHAGES INDUCED BY EFFEROCYTOSIS

**Maksimova A.A.,
Tyrinova T.V.,
Sakhno L.V.,
Tikhonova M.A.,
Shevela E.Ya.,
Ostanin A.A.,
Chernykh E.R.**

Federal State Budgetary Scientific
Institution «Research Institute
of Fundamental and Clinical Immunology»
(Yadrintsevskaya str., 14, Novosibirskaya
obl., Novosibirsk 630099, Russian
Federation)

Corresponding author:
Aleksandra A. Maksimova
e-mail: parkinson.dses@gmail.com

ABSTRACT

Background. We previously developed a protocol for generating macrophages with pronounced anti-inflammatory and reparative/neuroregenerative activity, polarized by efferocytosis (M2(Eff)). Due to their unique secretome, these cells are promising candidates for cell therapy of neuroinflammatory diseases. However, the expression of the inhibitory receptors PD-1 and TIM-3 on M2(Eff) and its relationship with cytokine production remain unclear.

Aim. To characterize PD-1 and TIM-3 expression on M2(Eff) macrophages and determine their role in the regulation of pro- and anti-inflammatory cytokine production (IL-10 and TNF- α).

Materials and methods. Macrophages were differentiated from peripheral blood monocytes of healthy donors. PD-1 and TIM-3 expression, as well as IL-10 and TNF- α production, were assessed by flow cytometry. To evaluate the contribution of PD-1 and TIM-3 to cytokine secretion, cells were pre-treated with blocking antibodies, followed by assessment of intracellular IL-10 and TNF- α levels.

Results. M2(Eff) exhibited higher PD-1 and TIM-3 levels compared to M1 cultures, primarily due to cells co-expressing both markers. M2(Eff) also had higher levels of PD-1 and lower levels of TIM-3 compared to "classical" M2 macrophages polarized by IL-4. The proportion of IL-10-positive cells was higher in M2(Eff) cultures expressing PD-1, as well as in TIM-3-expressing cells after lipopolysaccharide stimulation, compared to the negative populations. TNF- α levels were higher in TIM-3-positive macrophages compared to TIM-3-negative ones. PD-1 blockade during lipopolysaccharide stimulation increased the proportion of TNF- α -expressing cells, whereas TIM-3 blockade had no such effect.

Conclusion. M2(Eff) macrophages induced by apoptotic cells display a unique PD-1 and TIM-3 expression profile. Moreover, PD-1 and TIM-3 are associated with IL-10 and TNF- α production.

Key words: Macrophages, Immune Checkpoint Proteins, Cytokines, Programmed Cell Death 1 Receptor (PD-1), HAVCR2 protein (TIM-3), Flow Cytometry

Received: 31.03.2026
Accepted: 26.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Maksimova A.A., Tyrinova T.V., Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Shevela E.Ya., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Association between immune checkpoint expression and the cytokine profile of M2-like macrophages induced by efferocytosis. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 205-214. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.21

ВВЕДЕНИЕ

За последнее десятилетие изучение контрольных точек иммунитета (immune checkpoints/чек-поинт молекулы) произвело революцию в понимании механизмов иммунной регуляции и открыло новые горизонты в терапии злокачественных новообразований и хронических воспалительных заболеваний. Классически ингибиторные иммунные чек-поинты рассматриваются как ключевые негативные регуляторы Т-клеточного ответа, обеспечивающие поддержание периферической толерантности и предотвращающие развитие аутоиммунных реакций [1]. Однако накопленные за последние годы данные свидетельствуют о том, что функциональная роль иммунных чек-поинтов не ограничивается лимфоцитами. Экспрессия белка запрограммированной клеточной смерти 1 (PD-1), гликопротеина цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4), белка гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3) и молекулы, содержащей Т-клеточный иммуноглобулин и муциновый домен-3 (TIM-3) была обнаружена на клетках миелоидного происхождения, таких как дендритные клетки, моноциты и макрофаги, где их роль выходит за рамки простого подавления Т-клеточного ответа. В дендритных клетках сигнальные пути, ассоциированные с TIM-3 и PD-1, играют важную роль в регуляции созревания, презентации антигена и противоопухолевом иммунитете [2–4]. В моноцитах экспрессия TIM-3 связана с балансом продукции про- и противовоспалительных цитокинов [5, 6]. В макрофагах экспрессия PD-1 ассоциирована с M2-фенотипом, который характеризуется выраженной противовоспалительной активностью [7, 8]. Кроме того, PD-1/PD-L1 ось в макрофагах регулирует синтез цитокинов, например, IFN- γ [9]. TIM-3 также может модулировать цитокин-продуцирующую функцию макрофагов, влияя на их про- и противовоспалительный потенциал [9]. Помимо этого, TIM-3 участвует в фагоцитозе, в том числе в распознавании и элиминации апоптотических клеток, что имеет ключевое значение для поддержания тканевого гомеостаза и разрешения воспаления [10, 11].

Вместе с тем, большинство работ сосредоточено на изучении отдельных чек-поинт молекул, в то время как их сочетанная экспрессия и взаимосвязь с функциональным фенотипом макрофагов, особенно в контексте различных поляризующих сигналов, остаются недостаточно исследованными.

Ранее нами был разработан протокол получения M2-подобных макрофагов с выраженной противовоспалительной и репаративной/нейрорегенераторной активностью, поляризующим фактором для которых является эффероцитоз (Eff.) — то есть, взаимодействие с апоптотическими клетками (M2(Eff)). В составе секрета этих клеток выявлено большое количество анализов, включая цитокины, хемокины, ростовые и ангиогенные факторы, металлопротеиназы и др., что позволило обосновать их использование в качестве перспективных кандидатов для лечения заболеваний, ассоциированных с нейровоспалением [12].

Однако особенности экспрессии PD-1 и TIM-3 на макрофагах, поляризованных эффероцитозом, а также связь этих рецепторов с продукцией цитокинов остается невыясненной. Учитывая имеющиеся данные о важной роли этих молекул в регуляции функций миелоидных клеток, выяснение этого вопроса имеет важное значение, в том числе для оптимизации подходов к клеточной терапии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящей работы являлась характеристика экспрессии PD-1 и TIM-3 на макрофагах M2(Eff) и оценка значимости этих рецепторов в регуляции продукции про- и противовоспалительных цитокинов на примере IL-10 и TNF- α .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 30 условно здоровых доноров в возрасте 26–67 лет. Исследование было выполнено в соответствии с этическими требованиями и одобрено локальным этическим комитетом НИИФКИ (протокол № 144 от 21.02.24). Все доноры подписали добровольное информированное согласие.

Генерация макрофагов. M2(Eff) макрофаги получали по оригинальному протоколу НИИФКИ. Для этого мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови доноров выделяли с помощью центрифугирования в плотности фиколла-верографина, помещали в количестве $3\text{--}5 \times 10^6/\text{мл}$ в культуральные планшеты (TPP, Швейцария) и культивировали в присутствии 50 нг/мл рекомбинантного GM-CSF (SCI Store, Россия) в среде RPMI-1640 (Биолот, Россия), дополненной 0,05 мМ 2-меркаптоэтанолом, 2 мМ пирувата натрия, 0,3 мг/мл L-глутамина, 1 % незаменимых аминокислот (все реагенты Sigma-Aldrich, США) и 2 % аутоплазмы (дефицит сывороточных факторов, индуцирующих апоптоз неадгезивной фракции МНК). Через 18 ч неадгезивную фракцию клеток удаляли, а адгезивные клетки продолжали культивировать в описанной выше среде в течение 7 дней. Неполаризованные M0, а также поляризованные M1 и M2 макрофаги получали классическим методом: МНК в количестве $3\text{--}5 \times 10^6/\text{мл}$ помещали в культуральные планшеты (TPP, Швейцария) и культивировали в присутствии 50 нг/мл рекомбинантного GM-CSF (SCI Store, Россия) в среде RPMI-1640 (Биолот, Россия), дополненной 0,05 мМ 2-меркаптоэтанолом, 2 мМ пирувата натрия, 0,3 мг/мл L-глутамина, 1 % незаменимых аминокислот (все реагенты Sigma-Aldrich, США) и 10 % фетальной бычьей сыворотки (Gibco, США). Через 1 час удаляли неадгезивную фракцию клеток, а оставшиеся клетки культивировали при 37°C с 5 % CO₂ в течение 7 дней. На 5-й день добавляли поляризующие стимулы: липополисахарид (LPS E.colli 0114:B4, 10 мкг/мл) для генерации макрофагов M1 и IL-4, (20 нг/мл, Sigma-Aldrich, США) – для генерации макрофагов M2. К культурам M0

макрофагов не добавляли поляризующие стимулы, оставляя неполяризованными. По завершении культивирования, макрофаги получали при помощи механической диссоциации (жизнеспособность клеток составляла не менее 90 % по исключению трипанового синего).

Оценка экспрессии чек-поинт рецепторов.

Для оценки экспрессии ингибиторных молекул использовали многоцветную проточную цитометрию. Полученные макрофаги окрашивали флуоресцентно-мечеными моноклональными антителами (anti-PD-1-APC (BD Biosciences, США), anti-TIM-3-PE (Sony, США), anti-HLA-DR-PerCP (Beckman Coulter, США)) и далее проводили оценку экспрессии ингибиторных чек-поинт молекул в гейте HLA-DR⁺ клеток с помощью проточного цитометра DxFLEX (Beckman Coulter, США).

Оценка продукции цитокинов. Для оценки уровня внутриклеточных цитокинов макрофаги M2(Eff) стимулировали LPS (10 мкг/мл) в течение 4 часов. Контролем являлись нестимулированные клетки, к которым не добавляли LPS. За 1 ч до окончания культивирования добавляли брефельдин А (5 мг/мл, Sony, США) для блокирования высвобождения цитокинов. Далее клетки отмывали, окрашивали поверхностными моноклональными антителами (anti-PD-1-APC (BD Biosciences, США), anti-TIM-3-PE (Sony, США), anti-HLA-DR-PerCP (Beckman Coulter, США)), а после этого – внутриклеточными (anti-TNF- α -FITC и anti-IL-10-FITC (все BD Biosciences, США)) с использованием наборов для пермеабилзации True-Nuclear Transcription Factor Buffer Set (BioLegend, США). Оценку продукции IL-10 и TNF- α проводили в гейте HLA-DR⁺ клеток, а также в популяциях, оппозитных по экспрессии PD-1 и TIM-3 с помощью проточного цитометра DxFLEX (Beckman Coulter, США).

Блокирование PD-1 и TIM-3. Для экспериментов с блокирующими антителами перед стимуляцией LPS клетки предварительно инкубировали с блокирующими антителами к PD-1 (20 мкг/мл, ОПДИВО (ниволумаб), США) и TIM-3 (10 мкг/мл, Ultra-LEAF Purified anti-human Tim-3, BioLegend, США)) в течение 1 часа, и далее оценивали продукцию внутриклеточных цитокинов по методике, как описано выше.

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных результатов производили с помощью программного обеспечения STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc., USA). На графиках данные представлены в виде медиан с указанием интерквартильных диапазонов и минимума–максимума, если не указано иное. Значимость различий сравниваемых групп оценивали с помощью критерия Вилкоксона для связанных выборок; различия считали значимыми при $p_w < 0,05$.

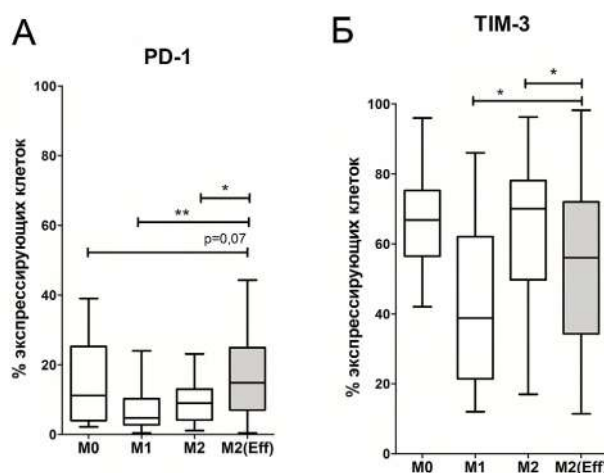
РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспрессия чек-поинт рецепторов. Для сравнения с M2(Eff) были использованы GM-CSF-дифференцированные макрофаги, неполяризованные (M0)

и поляризованные в направлении M1 (липополисахарид) и M2 (IL-4) (что соответствует фенотипу M2a, часто используемому в научной литературе). Оценка экспрессии PD-1 и TIM-3 на поверхности макрофагов показала, что M2(Eff) значительно отличались как от неполяризованных клеток, так и от поляризованных M1 и, что интересно, «классических» M2 (рис. 1). Культуры M2(Eff) характеризовались более высоким содержанием PD-1⁺ клеток по сравнению с поляризованными M1 и M2 макрофагами ($p_w = 0,006$ и $0,028$ соответственно). В свою очередь, доля TIM-3⁺ клеток в культурах M2(Eff) значительно превышала показатели в M1 ($p_w = 0,044$), однако была ниже, чем у клеток с «классическим» M2 фенотипом ($p_w = 0,031$).

Дальнейший анализ распределения маркеров (рис. 2) показал, что более высокое содержание PD-1⁺ в M2(Eff) по сравнению с M1 культурами было обусловлено преимущественно клетками с сочетанной экспрессией PD-1 и TIM-3, в то время как различия с M2 культурами наблюдались в основном за счет клеток с изолированной экспрессией PD-1. При этом доля клеток с изолированной экспрессией TIM-3 в M2(Eff) культурах была значительно ниже по сравнению с неполяризованными M0 и M2.

Таким образом, M2(Eff) отличались от других исследованных субпопуляций макрофагов сравнительно более высоким уровнем экспрессии ко-ингибиторных молекул и особенно PD-1, а также обладали уникальным профилем коэкспрессии маркеров. Далее мы провели анализ внутриклеточной продукции цитокинов IL-10 и TNF- α в популяции M2(Eff) в зависимости от экспрессии ингибиторных рецепторов.



Примечания: $n = 14-26$, ** – $p_w < 0,01$; * – $p_w < 0,05$.

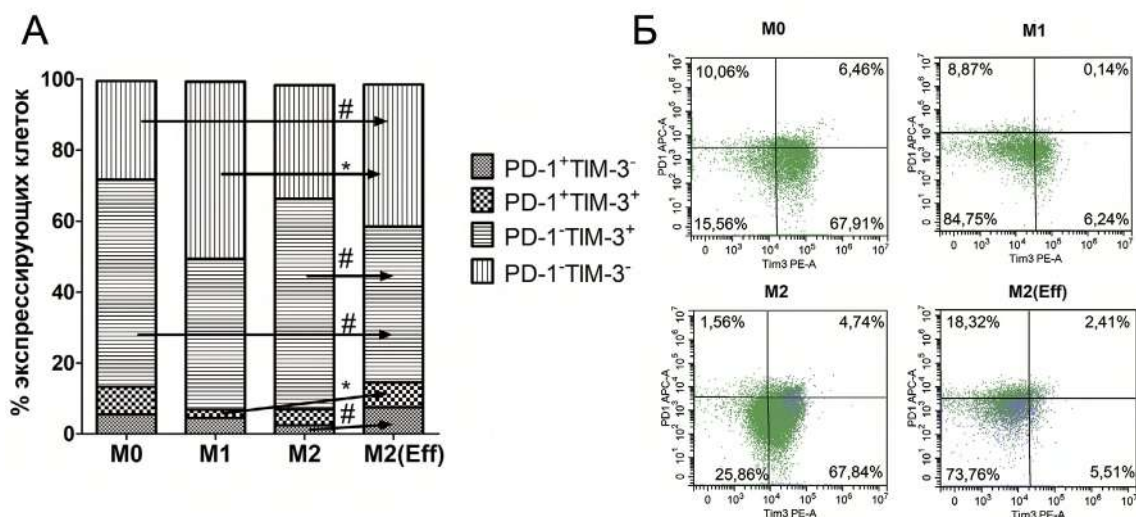
Notes: $n = 14-26$, ** – $p_w < 0,01$; * – $p_w < 0,05$.

РИС. 1.

Содержание клеток (в %), оппозитных по экспрессии PD-1 (А) и TIM-3 (Б) в культурах макрофагов M0, M1, M2 и M2(Eff)

FIG. 1.

Proportion of cells (%) with opposing expression of PD-1 (A) and TIM-3 (B) in M0, M1, M2, and M2(Eff) macrophage cultures



Примечания: А – данные представлены в виде медианных значений для каждой из популяций (PD-1⁺TIM-3⁻, PD-1⁺TIM-3⁺, PD-1⁻TIM-3⁺, PD-1⁻TIM-3⁻) ($n = 14-26$). Стрелками обозначены различия между подтипами макрофагов, * – $p_w < 0,05$, # – $p_w < 0,1$ (тренд). Б – данные проточной цитометрии (репрезентативный эксперимент).

Notes: A – data are presented as medians calculated for each population (PD-1⁺TIM-3⁻, PD-1⁺TIM-3⁺, PD-1⁻TIM-3⁺, PD-1⁻TIM-3⁻) ($n = 14-26$). Arrows indicate differences between macrophage subtypes. * – $p_w < 0,05$, # – $p_w < 0,1$ (trend). Б – flow cytometry data (representative experiment).

РИС. 2.

Распределение экспрессии PD-1 и TIM-3 в макрофагах M0, M1, M2, M2(Eff)

FIG. 2.

Co-expression and single expression of PD-1 and TIM-3 in M0, M1, M2, and M2 (Eff) macrophages

Продукция цитокинов. Как показано на рис. 3А, в нестимулированных культурах доля IL-10-продуцирующих клеток была значимо выше в популяции PD-1⁺ по сравнению с популяцией PD-1⁻ ($p_w = 0,0037$), тогда как различий между популяциями TIM-3⁺ и TIM-3⁻ не наблюдалось (рис. 3Б и 3Ж). Напротив, при оценке продукции TNF- α зависимости от экспрессии PD-1 выявлено не было (рис. 3Е), тогда как TIM-3⁺ клетки характеризовались значимо более высокой секрецией TNF- α по сравнению с TIM-3⁻ ($p_w = 0,029$) (рис. 3Д, 3Е и 3Ж). При этом анализ отдельных субпопуляций свидетельствовал о том, что более высокое содержание IL-10 в PD-1⁺ клетках осуществлялась как за счет клеток с сочетанной экспрессией PD-1 и TIM-3, так и за счет изолированной экспрессии PD-1 (рис. 3В). Интересно, что клетки с изолированной экспрессией TIM-3 также отличались более высоким уровнем продукции IL-10 по сравнению с клетками с дабл-негативной экспрессией чек-пойнт молекул (PD-1⁻TIM-3⁻), поэтому отсутствие различий между TIM-3⁺ и TIM-3⁻ клетками могут быть обусловлены высокой долей IL-10-продуцирующих клеток в популяции PD-1⁺TIM-3⁻ (рис. 3В).

В LPS стимулированных культурах сохранялись различия в доле IL-10⁺ клеток в популяциях, оппозитных по экспрессии PD-1, а также появлялись значимые различия для TIM-3⁺ и TIM-3⁻ клеток ($p_w = 0,012$) (рис. 4). При этом наиболее выраженная продукция IL-10 была характерна для клеток, экспрессирующих оба маркера, и она значимо отличалась от клеток с изолированной экспрессией PD-1 ($p_w = 0,012$) и изолированной экспрессией TIM-3 ($p_w = 0,021$). В свою очередь, экспрессия TNF- α для LPS-стимулированных M2(Eff) не была

ассоциирована с экспрессией PD-1 или TIM-3 (рис. 4Г и 4Д).

Блокирование PD-1 и TIM-3 путей. Для оценки функциональной значимости чек-пойнт сигналинга, мы провели серию экспериментов с блокирующими антителами к TIM-3 и PD-1. Блокирование PD-1 на этапе стимуляции цитокин-секреторной активности LPS сопровождалось усилением продукции IL-10, которое, однако, не достигало статистической значимости ($p_w = 0,686$) (рис. 5А). В то же время добавление блокирующих антител к PD-1 вызывало небольшое (2 %), но достоверное повышение уровня секреции TNF- α (рис. 5Б) ($p_w = 0,043$). Учитывая, что доля PD-1⁺ клеток в культурах M2(Eff) составляла 15 % (7–25 %), данный прирост, регистрируемый в общей популяции M2(Eff), может отражать существенный вклад PD-1/PD-L1 пути в регуляцию продукции данного цитокина. Интересно, что блокирование TIM-3 не сопровождалось подобным эффектом.

ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном исследовании мы впервые охарактеризовали профиль экспрессии чек-пойнт рецепторов PD-1 и TIM-3 на M2(Eff) макрофагах, индуцированных взаимодействием с апоптотическими клетками, а также установили связь между экспрессией данных маркеров и цитокин-продуцирующей функцией макрофагов.

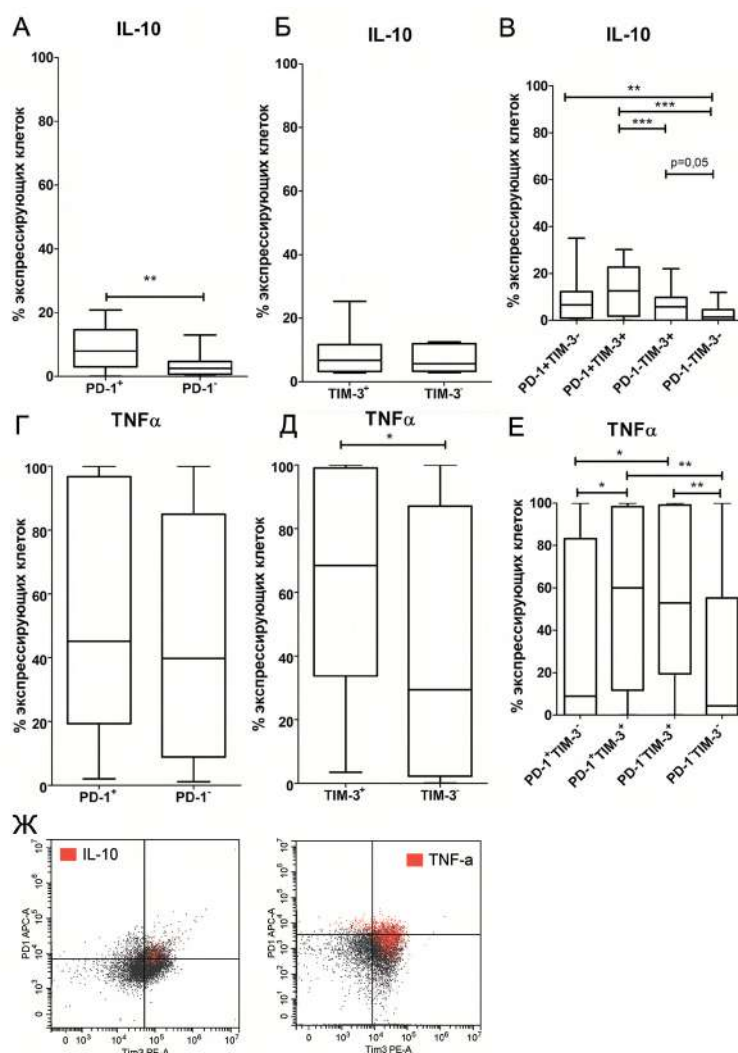
Мы обнаружили, что M2(Eff) макрофаги характеризуются высоким уровнем экспрессии PD-1

относительно M1 и M2 культур. Учитывая установленную связь экспрессии PD-1 с противовоспалительной активностью клеток [7, 13], это может являться одним из путей, обеспечивающих противовоспалительную и иммунорегуляторную функцию M2(Eff), которая была описана нами ранее [14].

Интересно, что по уровню TIM-3 M2(Eff) занимала промежуточное положение: его экспрессия была выше, чем у M1, но ниже, чем у «классических» M2, индуцированных IL-4. Эти данные в целом согласуются с исследованиями прошлых лет, продемонстрировавшими более высокий уровень экспрессии TIM-3 на макрофагах с M2 фенотипом по сравнению с M1 клетками [15]. С другой стороны, это было довольно неожиданное открытие, поскольку мы предполагали, что TIM-3,

который ассоциирован с фагоцитозом [16, 17], будет наиболее высоким именно в M2(Eff) культурах, поляризирующим фактором для которых является взаимодействие с апоптотическими клетками. Вероятно, в данный процесс больше вовлечены иные пути, такие как тирозинкиназа Mer или TIM-4, которые также являются важными молекулами, опосредующими фагоцитоз в макрофагах [18].

TIM-3 широко известен как регулятор иммунных ответов и его экспрессия на макрофагах ассоциирована с противовоспалительным фенотипом и поддержанием тканевого гомеостаза [19]. С другой стороны, TIM-3 может проводить и активирующие сигналы [20], что позволяет исследователям рассматривать его не просто как ко-ингибиторный рецептор, а скорее



Примечания: А, Б, В – содержание IL-10⁺ в M2(Eff), оппозиционных по экспрессии PD-1, TIM-3 и в клетках с изолированной и сочетанной экспрессией PD-1 и TIM-3. Г, Д, Е – содержание TNF-α⁺ в M2(Eff), оппозиционных по экспрессии PD-1, TIM-3 и в клетках с изолированной и сочетанной экспрессией PD-1 и TIM-3. n = 14–26, *** – $p_w < 0,001$; ** – $p_w < 0,01$; * – $p_w < 0,05$. Ж – данные проточной цитометрии (репрезентативный эксперимент).

Notes: А, Б, В – content of IL-10⁺ in M2(Eff), opposite in expression of PD-1, TIM-3 and in cells with isolated and co-expression of PD-1 and TIM-3. Г, Д, Е – content of TNF-α⁺ in M2(Eff), opposite in expression of PD-1, TIM-3 and in cells with isolated and co-expression of PD-1 and TIM-3. n = 14–26, *** – $p_w < 0,001$; ** – $p_w < 0,01$; * – $p_w < 0,05$. Ж – Flow cytometry data (representative experiment).

РИС. 3.

Содержание IL-10⁺ и TNF-α⁺ клеток (в %) в популяциях M2(Eff) макрофагов

FIG. 3.

Proportion of IL-10⁺ and TNF-α⁺ cells (%) in M2(Eff) macrophage populations

как «контрольный механизм», регулирующий сложный баланс иммунной системы. Более низкий уровень TIM-3 на M2(Eff) по сравнению с «классическими» M2, может отражать функциональные различия между этими двумя типами M2-подобных макрофагов.

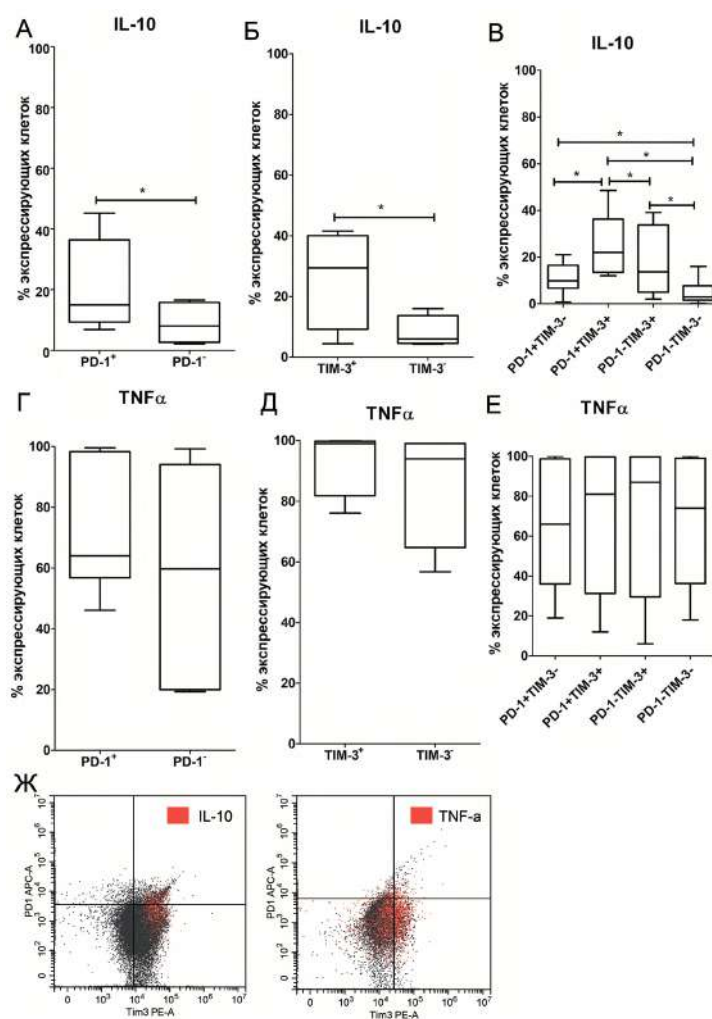
Дополнительно нами были обнаружены различия в коэкспрессии маркеров, что позволяет предположить, что M2(Eff) занимают особое положение в спектре макрофагальной поляризации, сочетая черты, присущие как «классическим» M2, так и иным регуляторным фенотипам.

Анализ внутриклеточной продукции цитокинов выявил функциональную асимметрию между PD-1 и TIM-3 в макрофагах M2(Eff). PD-1⁺ клетки отличались более высоким уровнем продукции IL-10, но не TNF-α, тогда

как TIM-3⁺ клетки, напротив, характеризовались повышенной продукцией TNF-α, но не отличались от TIM-3⁻ по продукции IL-10.

Ассоциация PD-1 с продукцией IL-10 согласуется с данными о том, что PD-1/PD-L1 путь в миелоидных клетках может способствовать формированию противовоспалительного фенотипа. Так, ранее было показано, что активация PD-1 индуцирует продукцию IL-10 моноцитами [21]. Полученные нами данные указывают на сопряженность экспрессии PD-1 и продукции IL-10 M2(Eff) макрофагами.

В то же время связь TIM-3 с продукцией TNF-α представляется менее ожидаемой, учитывая преимущественно супрессорную роль данной молекулы [19]. Однако ряд исследований указывает на то, что TIM-3



Примечания: А, Б, В – Содержание IL-10⁺ в M2(Eff), оппозитных по экспрессии PD-1, TIM-3 и в клетках с изолированной и сочетанной экспрессией PD-1 и TIM-3. Г, Д, Е – Содержание TNF-α⁺ в M2(Eff), оппозитных по экспрессии PD-1, TIM-3 и в клетках с изолированной и сочетанной экспрессией PD-1 и TIM-3. n=8; * – $p_w < 0,05$. Ж – данные проточной цитометрии (репрезентативный эксперимент).

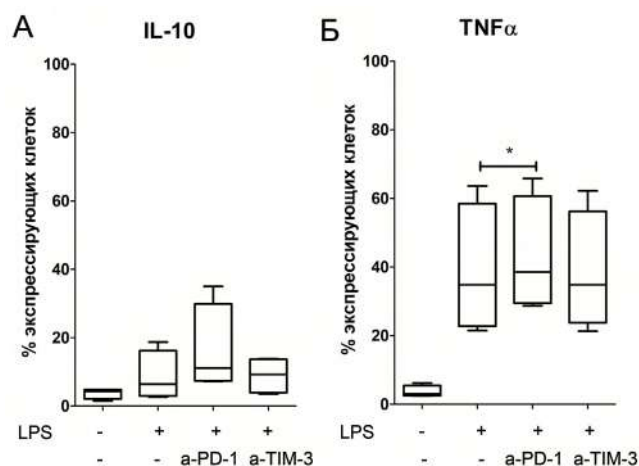
Notes: A, B, C – content of IL-10⁺ in M2(Eff), opposite in expression of PD-1, TIM-3 and in cells with isolated and co-expression of PD-1 and TIM-3. G, D, E – content of TNF-α⁺ in M2(Eff), opposite in expression of PD-1, TIM-3 and in cells with isolated and co-expression of PD-1 and TIM-3. n=8; * – $p_w < 0,05$. Z – flow cytometry data (representative experiment).

РИС. 4.

Содержание IL-10⁺ и TNF-α⁺ клеток (в %) в популяциях LPS-стимулированных M2(Eff) макрофагов

FIG. 4.

Proportion of IL-10⁺ and TNF-α⁺ cells (%) in populations of LPS-stimulated M2(Eff) macrophages



Примечания: $n=5$; * – $p_w < 0,05$.

Notes: $n=5$; * – $p_w < 0.05$.

РИС. 5.

Содержание IL-10+ (А) и TNF-α+ (Б) клеток (в %), в культурах M2(Eff) макрофагов, стимулированных/нестимулированных липополисахаридом (LPS) и обработанных блокирующими антителами к PD-1 (a-PD-1) и TIM-3 (a-TIM-3)

FIG. 5.

Proportion of IL-10+ (A) and TNF-α+ (B) cells (%) in M2(Eff) macrophage cultures stimulated/unstimulated with lipopolysaccharide (LPS) and treated with blocking antibodies against PD-1 (a-PD-1) and TIM-3 (a-TIM-3)

может выполнять контекст-зависимые функции. Так, в моноцитах TIM-3 участвует в регуляции баланса между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами [5]. Возможно, в макрофагах M2(Eff) TIM-3 действует не как классический ингибиторный рецептор, а как молекула, модулирующая внутриклеточные сигнальные пути, ведущие к продукции TNF-α. Не исключен также некоторый механизм обратной связи, то есть, компенсаторно, более высокий уровень экспрессии регуляторной молекулы TIM-3 на клетках с усиленной продукцией TNF-α.

После стимуляции LPS менялось содержание цитокинов в популяции TIM-3⁺ клеток: доля IL-10⁺ была значимо выше по сравнению с TIM-3⁺ клетками, а различия по TNF-α между TIM-3⁺ и TIM-3⁻, обнаруживаемые для не стимулированных клеток, нивелировались. Данная зависимость согласуется с ранее полученными данными, согласно которым активация TIM-3-сигналинга стимулировала моноциты к секреции IL-6, IL-8 и IL-10, но не IL-1β, IL-12p70 или TNF-α в присутствии LPS [22].

Наиболее важные результаты были получены в исследовании блокирования чек-пойнт рецепторов. Блокирование PD-1 приводило к небольшому, но устойчивому повышению продукции TNF-α во всей популяции M2(Eff), что еще раз подчеркивает роль PD-1 как маркера противовоспалительного фенотипа клеток, активация которого ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов в миелоидных клетках, в том числе продукцию TNF-α через подавление STAT1 сигналинга

[23]. В то же время, блокирование TIM-3 не приводило к изменению продукции TNF-α, что согласуется с результатами исследования Zhang Y. et al., продемонстрировавших подобную зависимость на моноцитах [5].

Отсутствие снижения IL-10 при блокировании PD-1 и TIM-3 указывает на то, что данные пути не являются критическими для индукции IL-10 в M2(Eff) в условиях LPS-стимуляции. Вероятно, продукция IL-10 в данных клетках контролируется иными механизмами, например, через рецепторы, распознающие апоптотические клетки, такие как тирозинкиназа Mer [24]. Этот вопрос остается предметом дальнейших исследований. Кроме того, необходима оценка иных цитокинов, продуцируемых макрофагами, для однозначных выводов о какой-либо зависимости PD-1 и TIM-3 и цитокиновым профилем M2(Eff). Функциональные исследования помогут понять, насколько значимую роль играет PD-1 и TIM-3 сигналинг в противовоспалительной и репаративной активности макрофагов M2(Eff).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, макрофаги M2(Eff), индуцированные апоптотическими клетками, характеризуются уникальным профилем экспрессии PD-1 и TIM-3, и эти молекулы ассоциированы с продукцией цитокинов IL-10 и TNF-α. Полученные данные расширяют представления о роли иммунных контрольных точек в регуляции функций миелоидных клеток, а также указывают на необходимость дальнейшего исследования данных путей в функциональной активности M2(Eff) макрофагов и открывают перспективы для поиска новых механизмов противовоспалительной и репаративной активности данных клеток.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках плановой темы НИР ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» Минобрнауки России FGMN-2024-0011 (per. № 124112900022-0).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rezazadeh-Gavgani E, Majidazar R, Lotfinejad P, Kazemi T, Shamekh A. Immune Checkpoint Molecules: A Review on Pathways and Immunotherapy Implications. *Immun Inflamm Dis*. 2025; 13(4): e70196. doi: 10.1002/iid3.70196
2. Chen S, Chen J, Kong Y, Li H, Chen Z, Luo L, et al. Knockdown of TIM3 Hampers Dendritic Cell Maturation and Induces Immune Suppression by Modulating T-Cell Responses. *Int J Mol Sci*. 2025; 26(9): 4332. doi: 10.3390/ijms26094332

3. de Mingo Pulido Á, Hänggi K, Celias DP, Gardner A, Li J, Batista-Bittencourt B, et al. The inhibitory receptor TIM-3 limits activation of the cGAS-STING pathway in intra-tumoral dendritic cells by suppressing extracellular DNA uptake. *Immunity*. 2021; 54(6): 1154–1167.e7. doi: 10.1016/j.immuni.2021.04.019
4. Lim TS, Chew V, Sieow JL, Goh S, Yeong JP, Soon AL, et al. PD-1 expression on dendritic cells suppresses CD8+ T cell function and antitumor immunity. *Oncoimmunology*. 2015; 5(3): e1085146. doi: 10.1080/2162402X.2015.1085146
5. Zhang Y, Ma CJ, Wang JM, Ji XJ, Wu XY, Moorman JP, et al. Tim-3 regulates pro- and anti-inflammatory cytokine expression in human CD14+ monocytes. *J Leukoc Biol*. 2012; 91(2): 189–96. doi: 10.1189/jlb.1010591
6. Dong J, Cheng L, Zhao M, Pan X, Feng Z, Wang D. Tim-3-expressing macrophages are functionally suppressed and expanded in oral squamous cell carcinoma due to virus-induced Gal-9 expression. *Tumour Biol*. 2017; 39(5): 1010428317701651. doi: 10.1177/1010428317701651
7. Li W, Wu F, Zhao S, Shi P, Wang S, Cui D. Correlation between PD-1/PD-L1 expression and polarization in tumor-associated macrophages: A key player in tumor immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2022; 67: 49–57. doi: 10.1016/j.cytogfr.2022.07.004
8. Jiang H, Pang J, Li T, Akofala A, Zhou X, Yi C, et al. PD-1 regulates the anti-tumor immune function of macrophages through JAK2-STAT3 signaling pathway in colorectal cancer tumor microenvironment. *J Transl Med*. 2025; 23(1): 502. doi: 10.1186/s12967-025-06469-4
9. Wang F, Zhou F, Peng J, Chen H, Xie J, Liu C, et al. Macrophage Tim-3 maintains intestinal homeostasis in DSS-induced colitis by suppressing neutrophil necroptosis. *Redox Biol*. 2024; 70: 103072. doi: 10.1016/j.redox.2024.103072
10. Isshiki T, Akiba H, Nakayama M, Harada N, Okumura K, Homma S, et al. Cutting Edge: Anti-TIM-3 Treatment Exacerbates Pulmonary Inflammation and Fibrosis in Mice. *J Immunol*. 2017; 199(11): 3733–3737. doi: 10.4049/jimmunol.1700059
11. Hou N, Jiang N, Zou Y, Piao X, Liu S, Li S, et al. Down-Regulation of Tim-3 in Monocytes and Macrophages in Plasmodium Infection and Its Association with Parasite Clearance. *Front Microbiol*. 2017; 8: 1431. doi: 10.3389/fmicb.2017.01431
12. Шевела Е.Я., Дегтярева В.Г., Сосновская А.В., Воронова Е.В., Кафанова М.Ю., Ращупкин И.М., и др. Корректирующий эффект растворимых факторов макрофагов М2-фенотипа у детей с нарушением речи. *Медицинская иммунология*. 2021; 23(5): 1137–1150. [Shevela EYa, Degtyareva VG, Sosnovskaya AV, Voronova EV, Kafanova MYu, Rashchupkin IM, et al. Therapeutic effect of soluble factors of M2 phenotype macrophages in children with language impairments. *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23(5): 1137–1150. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-TEO-2224
13. Han Z, Wu X, Qin H, Yuan YC, Schmolze D, Su C, et al. Reprogramming of PD-1+ M2-like tumor-associated macrophages with anti-PD-L1 and lenalidomide in cutaneous T cell lymphoma. *JCI Insight*. 2023; 8(13): e163518. doi: 10.1172/jci.insight.163518
14. Sakhno LV, Shevela EY, Tikhonova MA, Ostanin AA, Chernykh ER. The Phenotypic and Functional Features of Human M2 Macrophages Generated Under Low Serum Conditions. *Scand J Immunol*. 2016; 83(2): 151–9. doi: 10.1111/sji.12401
15. Ocaña-Guzman R, Ramon-Luing LA, Vazquez-Bolaños LA, Rodríguez-Alvarado M, Bulhuseñ-Rodríguez F, Torres-Hatem A, et al. Tim-3 Is Differentially Expressed during Cell Activation and Interacts with the LSP-1 Protein in Human Macrophages. *J Immunol Res*. 2023; 2023: 3577334. doi: 10.1155/2023/3577334
16. Nakayama M, Akiba H, Takeda K, Kojima Y, Hashiguchi M, Azuma M, et al. Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation. *Blood*. 2009; 113(16): 3821–30. doi: 10.1182/blood-2008-10-185884
17. Zhao D, Guo M, Liu B, Lin Q, Xie T, Zhang Q, et al. Frontline Science: Tim-3-mediated dysfunctional engulfment of apoptotic cells in SLE. *J Leukoc Biol*. 2017; 102(6): 1313–1322. doi: 10.1189/jlb.3HI0117-005RR
18. Nishi C, Toda S, Segawa K, Nagata S. Tim4- and MerTK-mediated engulfment of apoptotic cells by mouse resident peritoneal macrophages. *Mol Cell Biol*. 2014; 34(8): 1512–20. doi: 10.1128/MCB.01394-13
19. Ocaña-Guzman R, Torre-Bouscoulet L, Sada-Ovalle I. TIM-3 Regulates Distinct Functions in Macrophages. *Front Immunol*. 2016; 7: 229. doi: 10.3389/fimmu.2016.00229
20. Yu A, Zhang X, Li M, Ye P, Duan H, Zhang T, et al. Tim-3 enhances brain inflammation by promoting M1 macrophage polarization following intracerebral hemorrhage in mice. *Int Immunopharmacol*. 2017; 53: 143–148. doi: 10.1016/j.intimp.2017.10.023
21. Said EA, Dupuy FP, Trautmann L, Zhang Y, Shi Y, El-Far M, et al. Programmed death-1-induced interleukin-10 production by monocytes impairs CD4+ T cell activation during HIV infection. *Nat Med*. 2010; 16(4): 452–9. doi: 10.1038/nm.2106
22. Wang Z, Yin N, Zhang Z, Zhang Y, Zhang G, Chen W. Upregulation of T-cell Immunoglobulin and Mucin-Domain Containing-3 (Tim-3) in Monocytes/Macrophages Associates with Gastric Cancer Progression. *Immunol Invest*. 2017; 46(2): 134–148. doi: 10.1080/08820139.2016.1229790
23. Roy S, Gupta AK, Banerjee M, Das PK, Ukil A. PD-1 negatively tunes macrophage immune activation by turning off JNK and STAT1 signaling: Exploited by Leishmania for its intra-macrophage survival. *Cell Immunol*. 2023; 391–392: 104758. doi: 10.1016/j.cellimm.2023.104758
24. Ubil E, Zahid KR. Structure and functions of Mer, an innate immune checkpoint. *Front Immunol*. 2023; 14: 1244170. doi: 10.3389/fimmu.2023.1244170

Сведения об авторах

Макимова Александра Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: parkinson.dses@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0884-0226>

Тыринова Тамара Викторовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: tyrinova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7987-2017>

Сахно Людмила Васильевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: lsahno53@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3290-7910>

Тихонова Марина Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: martix-59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2366-1667>

Шевела Екатерина Яковлевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: shevelak@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8997-3586>

Останин Александр Анатольевич – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: ostanin62@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6895-938X>

Черных Елена Рэмовна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; e-mail: ct_lab@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2346-6279>

Information about the authors

Aleksandra A. Maksimova – Cand. Sc. (Med.), researcher at the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: parkinson.dses@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0884-0226>

Tamara V. Tyrinova – Dr. Sc. (Biol.), lead researcher at the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: tyrinova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7987-2017>

Ludmila V. Sakhno – Cand. Sc. (Biol.), senior researcher at the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: lsahno53@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3290-7910>

Marina A. Tikhonova – Cand. Sc. (Biol.), senior researcher at the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: martix-59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2366-1667>

Ekaterina Ya. Shevela – Dr. Sc. (Med.), lead researcher at the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: shevelak@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8997-3586>

Aleksandr A. Ostanin – Dr. Sc. (Med.), chief researcher at the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: ostanin62@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6895-938X>

Elena R. Chernykh – Dr. Sc. (Med.), head of the Laboratory of Cellular Immunotherapy in the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; e-mail: ct_lab@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2346-6279>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

ЛУЧЕВЫЕ ПРИЗНАКИ ДЕГРАДАЦИИ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ НА ИМПЛАНТАТЫ Mg–2Zn–2Ga И ТИТАНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

Кунижев К.А.¹,
Редько Н.А.¹,
Иванов А.А.¹,
Невская Е.Е.¹,
Комиссаров А.А.²,
Баженов В.Е.²,
Дробышев А.Ю.¹

¹ ФГБОУ ВО «Российский университет
медицины» Минздрава России (127473,
Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1, Россия)

² ФГАОУ ВО «Национальный
исследовательский технологический
университет «МИСИС» (119049, Москва,
Ленинский пр-кт, д. 4, стр. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кунижев Кантемир Анатольевич
e-mail: kunizhevka@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Клинический потенциал магниевых имплантатов определяется характером деградации и реакцией окружающих тканей. Для Mg–2Zn–2Ga недостаточно изучено соответствие лучевых и морфологических изменений в парной подкожной модели с титановым контролем.

Цель. Сопоставить МСКТ-признаки деградации Mg–2Zn–2Ga и газообразования с морфологической реакцией мягких тканей в сравнении с титаном в сроки 1–11 недель.

Методы. Исследование выполнено на 20 самцах крыс линии Wistar. Каждому животному подкожно над лопатками устанавливались диски Mg–2Zn–2Ga слева и титана справа диаметром 7 мм и толщиной 4 мм. На сроках 1, 2, 3, 4 и 11 недель (по 4 животных) проводились МСКТ, макроскопическая оценка и гистологическое исследование обеих зон имплантации.

Результаты. Через 1 неделю вокруг Mg–2Zn–2Ga выявлялась газовая полость и отмечалось небольшое снижение рентгеноплотности. На сроках 2–4 недели лучевые изменения становились заметнее; к 4-й неделе магниевый образец визуально был меньше стабильного титанового имплантата. На 11-й неделе сохранялись остаточная газовая полость, снижение рентгеноплотности и размеров Mg–2Zn–2Ga. Морфологически ранняя полость с тонкой фиброзной капсулой и лимфогистиоцитарной инфильтрацией сменялась клеточным валом и множественными полостями с фрагментацией прилежащих мышечных волокон; к 11-й неделе выявлялись единичные гигантские клетки инородных тел. Вокруг титана преобладала последовательная соединительнотканная организация. Крепитация над магниевым имплантатом отмечалась у 3 из 20 животных (15 %).

Заключение. Сопоставление МСКТ и морфологии выявило согласованную временную последовательность признаков деградации Mg–2Zn–2Ga и перестройки окружающих тканей, отличающуюся от реакции на титан. Сроки 2–4 недели характеризовали развитие ранних изменений, а 11 недель — их сохранение. Эти сроки и признаки могут использоваться в последующей количественной доклинической оценке.

Ключевые слова: магниевые сплавы, Mg–2Zn–2Ga, коррозионная деградация, мультиспиральная компьютерная томография, газовая полость, мягкие ткани, гистологическое исследование, титан

Статья поступила: 14.05.2026
Статья принята: 23.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Кунижев К.А., Редько Н.А., Иванов А.А., Невская Е.Е., Комиссаров А.А., Баженов В.Е., Дробышев А.Ю. Лучевые признаки деградации и морфологическая реакция мягких тканей на имплантаты Mg–2Zn–2Ga и титана в эксперименте *in vivo*. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 215–224. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.22

RADIOLOGICAL SIGNS OF DEGRADATION AND SOFT-TISSUE RESPONSE TO Mg–2Zn–2Ga AND TITANIUM IMPLANTS *IN VIVO*

Kunizhev K.A.¹,
Redko N.A.¹,
Ivanov A.A.¹,
Nevskaya E.E.¹,
Komissarov A.A.²,
Bazhenov V.E.²,
Drobyshev A.Yu.¹

¹ Russian University of Medicine, Ministry of Health of the Russian Federation (Delegatskaya St., 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation)

² National University of Science and Technology "MISIS" (Leninsky Prospekt, 4, Bldg. 1, Moscow 119049, Russian Federation)

Corresponding author:
Kantemir A. Kunizhev
e-mail: kunizhevka@gmail.com

ABSTRACT

Background. The clinical potential of magnesium implants depends on their degradation behavior and the response of surrounding tissues. For Mg–2Zn–2Ga, the correspondence between radiological and morphological changes in a paired subcutaneous model with a titanium control has not been adequately studied.

Aim. To compare MSCT signs of Mg–2Zn–2Ga degradation and gas formation with the morphological response of soft tissues relative to titanium at 1–11 weeks.

Materials and methods. The study was performed on 20 male Wistar rats. Discs measuring 7 mm in diameter and 4 mm in thickness were implanted subcutaneously over the scapulae of each animal: Mg–2Zn–2Ga on the left and titanium on the right. At weeks 1, 2, 3, 4, and 11 (four animals per time point), MSCT, macroscopic assessment, and histological examination of both implantation sites were performed.

Results. At week 1, a gas cavity was detected around Mg–2Zn–2Ga, and a slight reduction in radiodensity was observed. At weeks 2–4, radiological changes became more apparent; by week 4, the magnesium specimen was visually smaller than the stable titanium implant. At week 11, a residual gas cavity and reduced radiodensity and dimensions of Mg–2Zn–2Ga persisted. Histologically, the early cavity with a thin fibrous capsule and lymphohistiocytic infiltration was followed by a cellular rim and multiple cavities with fragmentation of adjacent muscle fibers; occasional foreign-body giant cells were detected by week 11. Orderly connective-tissue organization predominated around titanium. Crepitus over the magnesium implant was observed in 3 of 20 animals (15 %).

Conclusion. Comparison of MSCT and histology revealed a concordant time course of Mg–2Zn–2Ga degradation signs and surrounding tissue remodeling that differed from the response to titanium. Early changes developed at weeks 2–4 and persisted at week 11. These time points and features may be used in subsequent quantitative preclinical assessment.

Keywords: magnesium alloys; Mg–2Zn–2Ga; corrosion degradation; multislice computed tomography; gas cavity; soft tissues; histology; titanium

Received: 14.05.2026
Accepted: 23.09.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Kunizhev K.A., Redko N.A., Ivanov A.A., Nevskaya E.E., Komissarov A.A., Bazhenov V.E., Drobyshev A.Yu. Radiological signs of degradation and soft-tissue response to Mg–2Zn–2Ga and titanium implants *in vivo*. *Acta biomechanica scientifica*. 2026; 11(4): 215–224. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.22

ВВЕДЕНИЕ

Временные имплантаты должны сохранять механическую функцию на этапе заживления, а затем исчезать без повторной операции. Магниево-цинковые сплавы подходят для этой задачи благодаря сочетанию механических свойств и способности к коррозии в биологической среде [1–4]. Современные обзоры показывают, что клинический потенциал таких материалов зависит от контролируемой деградации и тканевой совместимости [5–7]. Преимущество деградируемого материала реализуется только при предсказуемом взаимодействии материала с окружающими тканями.

В зоне деградации магния образуются растворимые продукты коррозии и газ, способные изменять структуру мягких тканей и характер воспалительной реакции [8–10]. Выраженность газообразования и локального ответа зависит от состава сплава, его обработки и условий имплантации [11–13]. Поэтому сопоставление МСКТ и морфологии на одних и тех же сроках представляет самостоятельную исследовательскую задачу, а контрольная зона с титановым имплантатом у того же животного позволяет отличить реакцию на операцию и инородное тело от изменений, ассоциированных с деградацией магниевого образца.

Предшествующие исследования Mg–Zn–Ga показали, что термомеханическая обработка заметно изменяет прочностные характеристики и коррозионное поведение сплава, а результаты *in vitro* зависят от его состава и способа обработки [14–16]. Во внутрикостных экспериментах штифты Mg–2Zn–2Ga у крыс оценивали в сроки 1, 3 и 6 месяцев; была описана деградация материала в сочетании с ремоделированием костной ткани [17, 18]. Эти работы характеризуют поведение сплава в костном окружении на более поздних сроках, но не раскрывают раннюю взаимосвязь лучевых признаков деградации с реакцией мягких тканей в парной подкожной модели.

В настоящем исследовании МСКТ и морфологический анализ объединены в одном экспериментальном дизайне с пятью последовательными временными срезами. Одинаковые исходные размеры дисков и стабильный титановый образец обеспечивали внутренний ориентир для качественной оценки изменений Mg–2Zn–2Ga, а парное размещение позволяло сопоставить локальную тканевую реакцию внутри одного животного.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сопоставить МСКТ-признаки деградации Mg–2Zn–2Ga и образования перимплантатной газовой полости с морфологической реакцией мягких тканей в парной подкожной модели, в которой зона с титановым имплантатом служила контролем, в сроки 1, 2, 3, 4 и 11 недель.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования. Проспективный эксперимент *in vivo* выполнен в учебном виварии Российского университета медицины (Москва, Россия). У каждой крысы формировались два подкожных кармана, в которых размещались дискообразные имплантаты Mg–2Zn–2Ga и титана. Перед забором тканей на каждом запланированном сроке выполнялась МСКТ. Основное сопоставление проводилось между двумя зонами имплантации внутри животного и между независимыми временными группами. Парное размещение образцов использовалось для описательного сравнения местной тканевой реакции при одинаковых условиях имплантации. Данный принцип сравнения исследуемого и контрольного материалов у одного животного предусмотрен п. 5.2.6 ISO 10993-6:2016 при изучении локальных эффектов имплантации.

Животные. В исследовании использовались 20 самцов крыс линии Wistar в возрасте не менее 6 месяцев со средней массой тела 340–350 г. Для каждого срока эвтаназии – 1, 2, 3, 4 и 11 недель – была выделена независимая группа из 4 животных. Mg–2Zn–2Ga во всех случаях размещался слева, титан – справа.

Этические аспекты. Процедуры выполнялись с соблюдением этических принципов медико-биологических исследований и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Исследование одобрено Межвузовским этическим комитетом (протокол № 04 от 15.04.2021 и № 02-22 от 07.02.2022).

Критерии соответствия. В исследование включались самцы Wistar не моложе 6 месяцев, массой 340–350 г и без видимых признаков заболевания. Инфекционное заболевание или аномалия развития были основанием для невключения; расхождение швов, нагноение раны или гибель до планового срока – для исключения. Все 20 животных завершили предусмотренный протокол.

Имплантаты и хирургическая техника. Для каждой операции подготавливались два дискообразных образца – Mg–2Zn–2Ga и титан; оба имели диаметр 7 мм и толщину 4 мм. За 24 часа до вмешательства образцы подвергались электронно-лучевой стерилизации и хранились в стерильной упаковке при комнатной температуре. Анестезия проводилась внутримышечным введением 0,1 мл 0,1 % раствора препарата Медитин® (Апиценна, Россия) на килограмм массы тела в сочетании с препаратом Золетил® 100 (Virbac, Франция) в дозе 20 мг/кг. После бритья и обработки кожи в межлопаточной области выполнялся линейный разрез и формировались карманы над обеими лопатками. Магниевый диск помещался слева, титановый – справа; расстояние между образцами составляло около 1 см (рис. 1).

Рана ушивалась Vicryl™ 3-0 (Ethicon, США) и обрабатывалась спреем Террамицин® (Zoetis, Германия). Для антибиотикопрофилактики однократно вводилась Конвенция® (Zoetis, Италия) внутримышечно



РИС. 1.

Установка дискообразного имплантата из сплава Mg-2Zn-2Ga в левом подкожном кармане



FIG. 1.

Placement of a disc-shaped Mg-2Zn-2Ga alloy implant in the left subcutaneous pocket

в дозе 8 мг/кг. В конце соответствующего срока животные выводились из эксперимента передозировкой препарата Телазол® (Zoetis, Испания); перед забором тканей обе зоны имплантации осматривались макроскопически.

Оцениваемые параметры. По данным МСКТ регистрировались наличие и расположение газовой полости, визуальные изменения рентгеноплотности, контуров и размеров имплантатов. В каждой зоне имплантации морфологически оценивались клеточная инфильтрация, фиброзная капсула, сохранность архитектоники мягких тканей, некроз и наличие полостей.

МСКТ-исследование. Исследование выполнялось на сканере Philips Incisive CT 64 (Philips, Китай) перед забором тканей на сроках 1, 2, 3, 4 и 11 недель. Изображения анализировались визуально с сопоставлением зон Mg-2Zn-2Ga и титана. Поскольку оба диска исходно имели одинаковые размеры, титановый имплантат использовался как внутренний ориентир для относительной оценки размеров Mg-2Zn-2Ga; изменения рентгеноплотности оценивались визуально. Лучевые признаки интерпретировались совместно с макроскопической и морфологической картиной соответствующего срока.

Гистологическое исследование. После МСКТ на каждом сроке отбирались окружающие имплантаты мягкие ткани из обеих зон имплантации. Полученные образцы тканей фиксировались в 10 % нейтральном забуференном формалине. Перед приготовлением гистологических срезов имплантаты извлекались. Срезы толщиной 4 мкм готовились на микротоме Leica RM 2245 (Leica Microsystems GmbH, Вецлар, Германия), окрашивались гематоксилином и эозином и исследовались методом световой микроскопии.

Статистический анализ. Исследование носило поисковый описательный характер; единицей анализа было животное, а две зоны имплантации рассматривались как связанные наблюдения. Клинические события представлялись как число животных с соответствующим признаком и доля от общей выборки ($n = 20$). МСКТ- и морфологические изменения описывались по материалам и независимым временным группам без индивидуальных количественных или балльных

оценок. Статистическое сравнение этих изменений не выполнялось, выводы об их временной последовательности основаны на качественном сопоставлении.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническое наблюдение. Все 20 животных (100 %) завершили эксперимент. У 5 крыс (25 %) в первые дни отмечался небольшой отёк операционной раны, который разрешился без лечения. Расхождения швов, нагноения, выраженной гиперемии, системной инфекции и летальных исходов не зарегистрировано.

Макроскопическая картина. На ранних сроках в зоне Mg-2Zn-2Ga определялась полость и локальная реакция окружающих тканей. Возле титанового диска грубых воспалительных изменений и скоплений жидкости не наблюдалось.

Лучевая динамика. Через 1 неделю при качественной оценке МСКТ определялись небольшое снижение рентгеноплотности Mg-2Zn-2Ga и газовая полость вокруг него; титановый имплантат сохранял исходную лучевую картину (рис. 2, а–е). В группе 2-й недели снижение рентгеноплотности магниевого образца было визуально более заметным, газовая полость сохранялась. Пространственное смещение образцов и наложение теней местами затрудняли точное разграничение зон.

На 3-й неделе у одного животного в проекции смещённых к срединной линии образцов визуализировалась относительно крупная газовая полость (рис. 2, f), а рентгеноплотность Mg-2Zn-2Ga была ниже, чем на ранних сроках. На 4-й неделе при одинаковых исходных размерах дисков магниевый образец визуально был меньше стабильного титанового имплантата, вокруг него сохранялась газовая полость. К 11-й неделе отмечались дальнейшее визуальное снижение рентгеноплотности и размеров Mg-2Zn-2Ga и остаточная газовая полость. Титановый имплантат на протяжении наблюдения не демонстрировал видимых структурных изменений.

Mg-2Zn-2Ga, 1 неделя. Магниевый диск располагался в крупной полости с тонкой фиброзной стенкой. В капсуле и прилежащих тканях была выражена

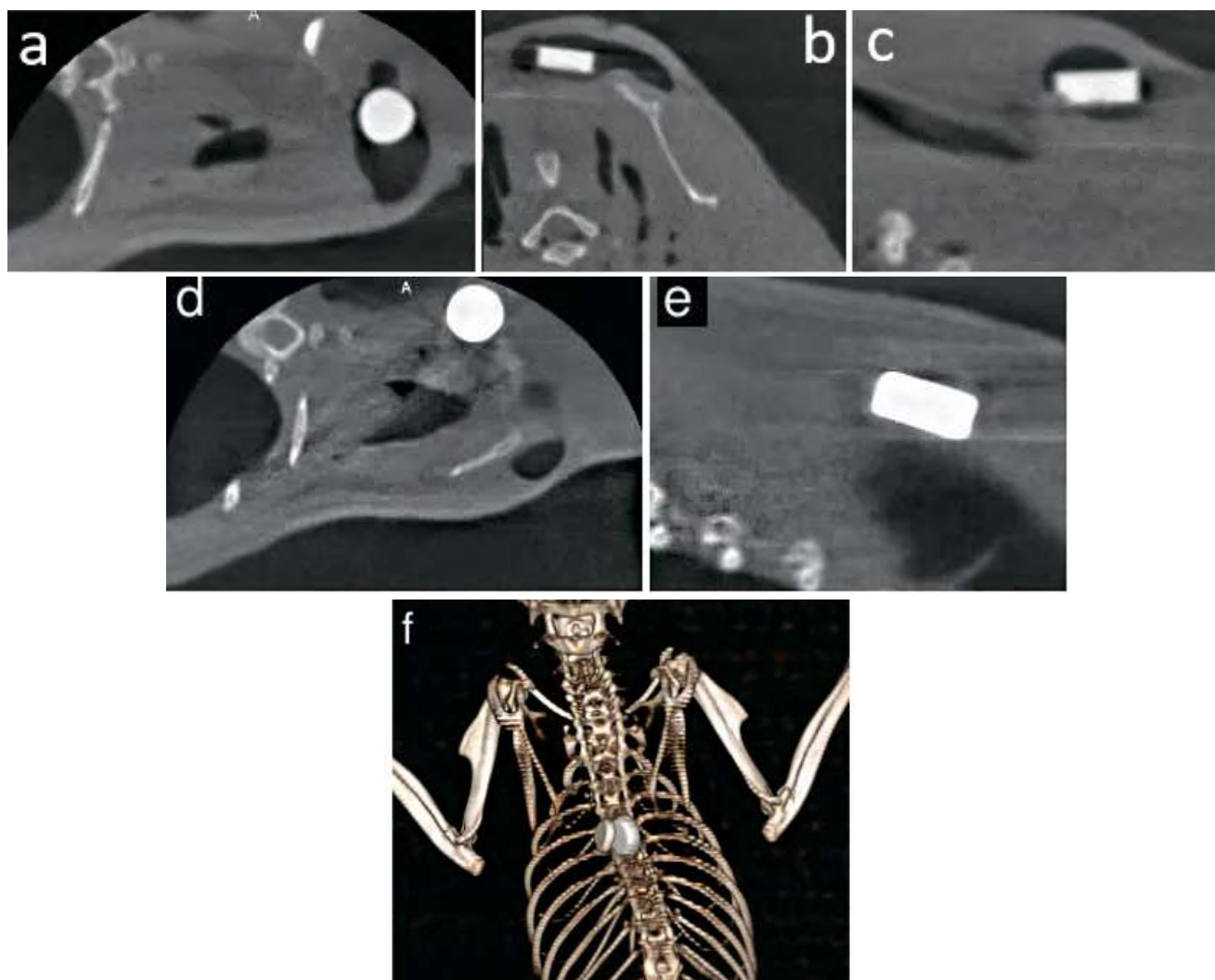


РИС. 2.

Иллюстративные данные МСКТ: а–с — газовые полости вокруг Mg–2Zn–2Ga на 1-й неделе; d, e — отсутствие скопления газа или жидкости вокруг титанового имплантата на 1-й неделе; f — трёхмерная реконструкция положения обоих имплантатов через 3 недели. Изображения использовались только для качественной оценки.

FIG. 2.

Illustrative MSCT data: a–c, gas cavities around Mg–2Zn–2Ga at week 1; d, e, no gas or fluid collection around the titanium implant at week 1; f, three-dimensional reconstruction of the position of both implants at week 3. The images were used for qualitative assessment only.

лимфогистиоцитарная инфильтрация (рис. 3); местами нарушалась обычная архитектура мягких тканей.

Mg–2Zn–2Ga, 2 недели. Полость и тонкая капсула сохранялись. В просвете проходили тонкие коллагеновые волокна, а строение прилежащих тканей оставалось нарушенным.

Mg–2Zn–2Ga, 3 недели. Полость окружал плотный лимфогистиоцитарный вал. Внутри находились клеточный детрит и коллагеновые волокна, по периферии определялись многочисленные полости и единичные эпителиоидные клетки (рис. 4).

Mg–2Zn–2Ga, 4 недели. Лимфогистиоцитарный вал распадался на отдельные фрагменты, его остатки сохранялись среди многочисленных полостей. На границе этой зоны были фрагментированы мышечные волокна. Небольшие скопления клеточного детрита были окружены коллагеновыми волокнами (рис. 5).

Mg–2Zn–2Ga, 11 недель. В зоне диска сохранялись многочисленные полости разного размера с тонким лимфогистиоцитарным ободком. На границе с зоной полостей отмечалась фрагментация мышечных волокон (рис. 6). В отдельных полостях наблюдались фрагменты деградирующих коллагеновых волокон. Среди клеток ободка встречались гигантские клетки инородных тел.

Титан, ранние сроки. Вокруг диска также формировалась тонкая фиброзная капсула с лимфогистиоцитарной инфильтрацией, но архитектура прилежащих тканей сохранялась. К 3-й неделе капсула утолщалась, в ней разрасталась рыхлая соединительная ткань, а клеточная инфильтрация становилась менее выраженной.

Титан, 11 недель. Зону имплантации заполняли рыхлая и плотная соединительная ткань, сосуды и пучки зрелых коллагеновых волокон. Некроза, газовых

полостей и выраженного воспалительного повреждения не было (рис. 7).

Сопоставление морфологических изменений и МСКТ-признаков в разные сроки представлено в таблице.

Нежелательные явления. У 3 из 20 животных (15 %) на 2–3-й неделях при пальпации определялась крепитация над магниевым имплантатом, при лучевой визуализации этой зоне соответствовала газовая полость. Дополнительного лечения не потребовалось.

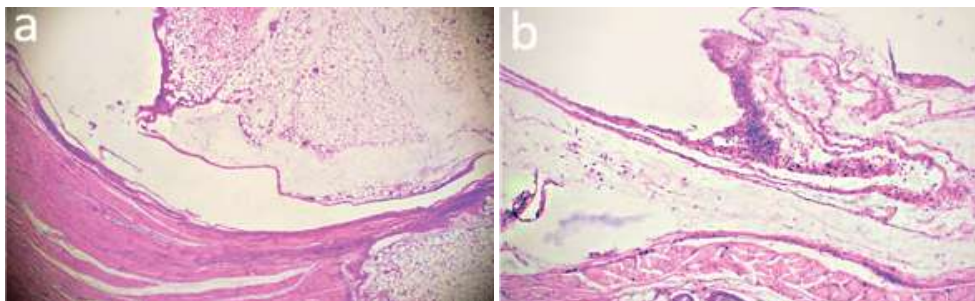


РИС. 3.

Перимплантатные мягкие ткани через 1 неделю после имплантации устройства из Mg–2Zn–2Ga: а — полость, окружённая тонкой фиброзной капсулой; б — лимфогистиоцитарная инфильтрация стенки капсулы и прилежащих тканей. Окраска гематоксилином и эозином; а, б — $\times 20$.

FIG. 3.

Peri-implant soft tissues 1 week after implantation of the Mg–2Zn–2Ga device: а — a cavity surrounded by a thin fibrous capsule; б — lymphohistiocytic infiltration of the capsule wall and adjacent tissues. Hematoxylin and eosin staining; а, б — $\times 20$.

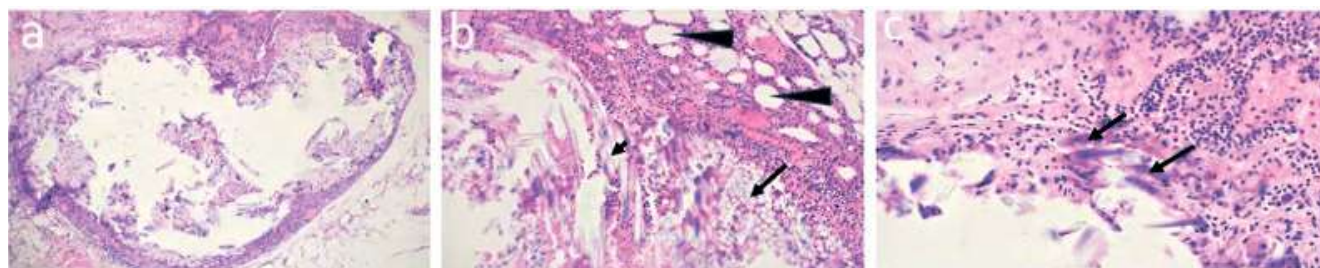


РИС. 4.

Перимплантатные мягкие ткани через 3 недели после имплантации устройства из Mg–2Zn–2Ga: а — полость, окружённая лимфогистиоцитарным валом, $\times 10$; б — длинная стрелка указывает на тени разрушенных клеток, короткая — на коллагеновые волокна, треугольные стрелки — на полости по периферии клеточного вала, $\times 20$; в — стрелками отмечены эпителиоидные клетки на границе с полостью, $\times 40$. Окраска гематоксилином и эозином.

FIG. 4.

Peri-implant soft tissues 3 weeks after implantation of the Mg–2Zn–2Ga device: а — a cavity surrounded by a lymphohistiocytic rim, $\times 10$; б — the long arrow indicates remnants of disrupted cells, the short arrow indicates collagen fibers, and arrowheads indicate cavities at the periphery of the cellular rim, $\times 20$; в — arrows indicate epithelioid cells at the cavity boundary, $\times 40$. Hematoxylin and eosin staining.

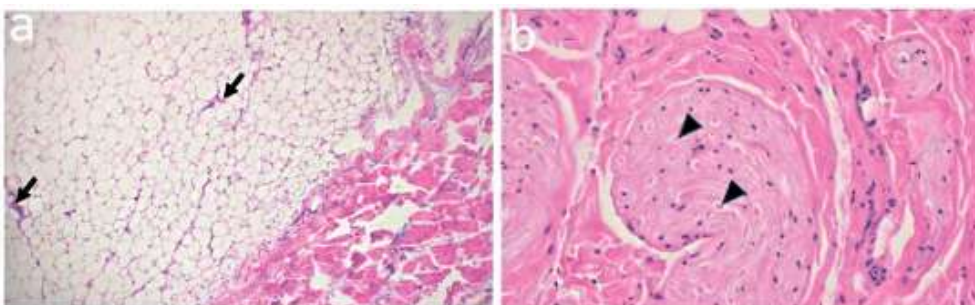


РИС. 5.

Перимплантатные мягкие ткани через 4 недели после имплантации устройства из Mg–2Zn–2Ga: а — стрелками отмечены остатки воспалительного вала среди полостей, $\times 10$; б — треугольными стрелками отмечены скопления отмирающих клеток, окружённые коллагеновой капсулой, $\times 40$. Окраска гематоксилином и эозином.

FIG. 5.

Peri-implant soft tissues 4 weeks after implantation of the Mg–2Zn–2Ga device: а — arrows indicate remnants of the inflammatory rim among cavities, $\times 10$; б — arrowheads indicate clusters of dying cells enclosed by a collagen capsule, $\times 40$. Hematoxylin and eosin staining.

Иных событий, потребовавших вмешательства или досрочного исключения животного, не зарегистрировано.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основной результат исследования — согласованная временная последовательность лучевых и морфологических изменений в зоне Mg–2Zn–2Ga при сопоставлении с контрольной зоной, содержащей титановый имплантат. Через 1 неделю газовая полость и снижение рентгеноплотности сочетались с полостью, тонкой капсулой и выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрацией. На 3–4-й неделях более заметные лучевые изменения сопровождались формированием клеточного вала и множественных полостей с повреждением прилежащих мышечных волокон. На 11-й неделе остаточная газовая полость и визуальное уменьшение магниевого образца сочетались с сохранявшимися полостями и единичными гигантскими клетками инородных тел, тогда как вокруг титана преобладала зрелая соединительная ткань. Одинаковые исходные размеры дисков и стабильность титана усиливают качественную интерпретацию наблюдавшегося уменьшения Mg–2Zn–2Ga как признака потери материала.

Газовая полость является ожидаемым лучевым проявлением коррозионной деградации магниевого сплава [8, 12]. Состав газа в настоящем эксперименте не определялся, поэтому в тексте используется нейтральный термин «газовая полость». Совпадение пальпаторной крепитации у 15 % животных с МСКТ-картиной дополнительно подтверждает реальность локального газообразования. Сохранение газовой полости и участков с множественными полостями к 11-й неделе показывает, что локальная тканевая реакция остаётся значимой и на промежуточном этапе деградации.

Зона с титановым имплантатом служила внутренним контролем реакции на хирургическое вмешательство и присутствие инородного тела. Размещение обоих материалов у одного животного и оценка в одинаковые сроки позволяли уменьшить влияние индивидуальных особенностей при сопоставлении местной

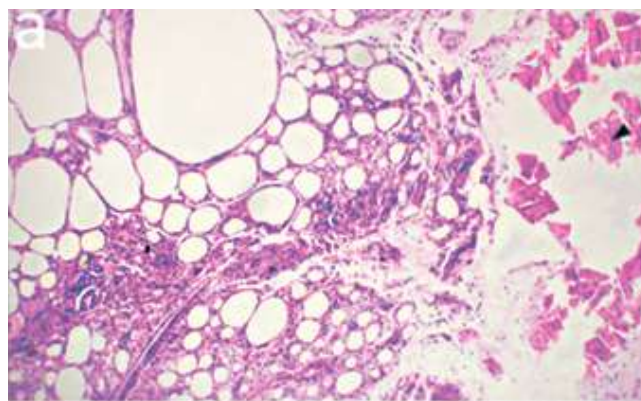


РИС. 6.

Мягкие ткани вокруг Mg–2Zn–2Ga на 11-й неделе: а — полости различного размера с тонким лимфогистиоцитарным ободком; треугольная стрелка указывает на фрагментацию мышечных волокон на границе с зоной полостей. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$.

FIG. 6.

Soft tissues around Mg–2Zn–2Ga at week 11: a — cavities of different sizes surrounded by a thin lymphohistiocytic rim; the arrowhead indicates fragmentation of muscle fibers at the boundary of the cavity-containing area. Hematoxylin and eosin staining, $\times 10$.

тканевой реакции. Стабильная лучевая картина титана и последовательная соединительнотканная организация вокруг него подчёркивали особенности реакции на Mg–2Zn–2Ga: сохранение газовой полости, лимфогистиоцитарной инфильтрации и множественных полостей в окружающих тканях. Полученные результаты характеризуют локальное взаимодействие имплантатов с мягкими тканями; отдельная оценка системных эффектов материалов требует отдельного исследования.

Для Mg–Zn–Ga ранее показано влияние термомеханической обработки на прочность и коррозионное поведение [14–16]. Внутрикостные имплантаты Mg–2Zn–2Ga у крыс исследовали в сроки до 6 месяцев, продемонстрировав деградацию материала в сочетании с ремоделированием кости [17, 18]. Настоящая работа дополняет эти данные характеристикой ранних сроков – 1–11 недель, подкожной локализацией дисков,

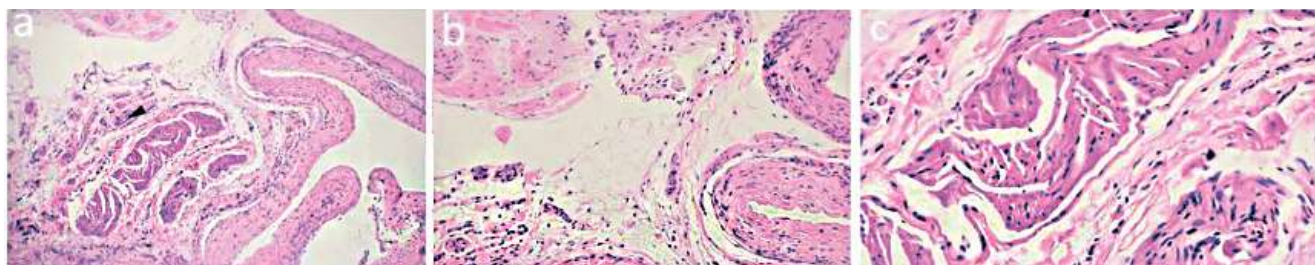


РИС. 7.

Мягкие ткани вокруг титанового имплантата на 11-й неделе: а — треугольной стрелкой отмечена область формирования кровеносных сосудов, $\times 10$; б — рыхлая и плотная соединительная ткань, $\times 20$; в — скопления плотно упакованных зрелых коллагеновых волокон, $\times 40$. Окраска гематоксилином и эозином.

FIG. 7.

Soft tissues around the titanium implant at week 11: a — the arrowhead indicates an area of blood vessel formation, $\times 10$; b — loose and dense connective tissue, $\times 20$; c — bundles of densely packed mature collagen fibers, $\times 40$. Hematoxylin and eosin staining.

ТАБЛИЦА

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ЛУЧЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ
В ЗОНАХ ДВУХ ИМПЛАНТАТОВ

TABLE

MORPHOLOGICAL AND RADIOLOGICAL CHANGES
AT THE TWO IMPLANTATION SITES

Срок	Морфологические изменения		МСКТ-признаки (качественная оценка)
	Mg–2Zn–2Ga	Титан	
1 неделя	Полость, тонкая фиброзная капсула, выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация	Тонкая фиброзная капсула, инфильтрация без нарушения архитектоники тканей	Газовая полость и небольшое снижение рентгеноплотности Mg; титан без видимых изменений
2 недели	Сохранение полости и капсулы, коллагеновые волокна внутри полости, нарушение архитектоники	Утолщение капсулы, сохранение инфильтрации без деструкции тканей	Более заметное снижение рентгеноплотности Mg, сохраняющаяся газовая полость; оценку местами затрудняло смещение образцов
3 недели	Плотный лимфогистиоцитарный вал, полости, единичные эпителиоидные клетки	Фибробласты, зрелые коллагеновые волокна, умеренная инфильтрация	Относительно крупная газовая полость в проекции смещённых имплантатов у одного животного; более выраженное снижение рентгеноплотности Mg
4 недели	Фрагментация воспалительного вала, множественные полости, участки клеточного детрита	Преобладание соединительнотканной организации	При одинаковых исходных размерах Mg визуально меньше стабильного Ti; сохраняющаяся газовая полость
11 недель	Множественные полости, лимфогистиоцитарный ободок, гигантские клетки инородных тел	Зрелая соединительная ткань, сосуды, коллагеновые волокна	Дальнейшее визуальное снижение рентгеноплотности и размеров Mg, остаточная газовая полость; Ti без видимых изменений

контрольной зоной с титановым имплантатом у каждого животного и непосредственным сопоставлением МСКТ-картин с морфологией мягких тканей. Именно эта интеграция определяет самостоятельный вклад исследования.

Практическая значимость. Совместное применение МСКТ и морфологического анализа позволило предложить интервал 2–4 недели для количественной оценки раннего газообразования, изменения размеров имплантата и тканевой реакции, а срок 11 недель – как контрольную точку сохранения этих изменений. Такая схема может использоваться при сравнении составов сплава, режимов обработки поверхности и защитных покрытий перед переходом к функциональным костным моделям временной фиксации в травматологии и стоматологии.

Ограничения исследования. Исследование имело поисковый характер, по 4 животных на каждый срок. МСКТ- и морфологическая оценка были качественными: не определялись состав и объём газа, калиброванная рентгеноплотность, потеря массы или объёма имплантата и морфометрические показатели. Фиксированная сторона установки, небольшое расстояние между образцами и их смещение могли влиять на локальное сопоставление; взаимное влияние зон имплантации не исключено. Полости на гистологических срезах сами по себе не подтверждают наличие газа и могут отражать особенности подготовки материала. Срок 11 недель характеризует ранний

и промежуточный этапы, но не полную деградацию материала, выявленные закономерности требуют количественного подтверждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В сроки от 1 до 11 недель МСКТ-признаки деградации Mg–2Zn–2Ga и перимплантатная газовая полость были временно согласованы с последовательной перестройкой окружающих мягких тканей – от ранней фиброзной капсулы и лимфогистиоцитарной инфильтрации к образованию множественных полостей и появлению единичных гигантских клеток инородных тел. При одинаковых исходных размерах дисков магниевый образец визуально уменьшался относительно стабильного титанового имплантата, вокруг которого формировалась зрелая соединительная ткань. Интервал 2–4 недели и контрольная точка 11 недель образуют практическую основу для последующей количественной оценки деградации и тканевого ответа в функциональной костной модели.

Благодарности

Авторы выражают благодарность профессору Шин Кван Сону из Центра инноваций магниевых технологий, кафедры материаловедения и инженерии Сеульского национального университета, за консультационную поддержку.

Финансирование

Исследование было поддержано Министерством здравоохранения Российской Федерации в рамках Государственного задания № 05600052-26-02.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Staiger MP, Pietak AM, Huadmai J, Dias G. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review. *Biomaterials*. 2006; 27(9): 1728–1734. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.10.003
2. Zhao D, Witte F, Lu F, Wang J, Li J, Qin L. Current status on clinical applications of magnesium-based orthopaedic implants: a review from clinical translational perspective. *Biomaterials*. 2017; 112: 287–302. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.017
3. Herber V, Okutan B, Antonoglou G, Sommer NG, Payer M. Bioresorbable magnesium-based alloys as novel biomaterials in oral bone regeneration: general review and clinical perspectives. *J Clin Med*. 2021; 10 (9): 1842. doi: 10.3390/jcm10091842
4. Gareb B, van Bakelen NB, Vissink A, Bos RRM, van Minnen B. Titanium or biodegradable osteosynthesis in maxillofacial surgery? *In vitro* and *in vivo* performances. *Polymers (Basel)*. 2022; 14 (14): 2782. doi: 10.3390/polym14142782
5. Vujović S, Desnica J, Stanišić D, Ognjanović I, Stevanović M, Rosić G. Applications of biodegradable magnesium-based materials in reconstructive oral and maxillofacial surgery: a review. *Molecules*. 2022; 27(17): 5529. doi: 10.3390/molecules27175529
6. Wang JL, Xu JK, Hopkins C, Chow DHK, Qin L. Biodegradable magnesium-based implants in orthopedics — A general review and perspectives. *Adv Sci (Weinh)*. 2020; 7(8): 1902443. doi: 10.1002/advs.201902443
7. Nasr Azadani M, Zahedi A, Bowoto OK, Oladapo BI. A review of current challenges and prospects of magnesium and its alloy for bone implant applications. *Prog Biomater*. 2022; 11(1): 1–26. doi: 10.1007/s40204-022-00182-x
8. Witte F, Kaese V, Haferkamp H, Switzer E, Meyer-Lindenberg A, Wirth CJ, et al. *In vivo* corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*. 2005; 26(17): 3557–3563. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.09.049
9. Amerstorfer F, Fischerauer SF, Fischer L, Eichler J, Draxler J, Zitek A, et al. Long-term *in vivo* degradation behavior and near-implant distribution of resorbed elements for magnesium alloys WZ21 and ZX50. *Acta Biomater*. 2016; 42: 440–450. doi: 10.1016/j.actbio.2016.06.025
10. Byun SH, Lim HK, Cheon KH, Lee SM, Kim HE, Lee JH. Biodegradable magnesium alloy (WE43) in bone-fixation plate and screw. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2020; 108(6): 2505–2512. doi: 10.1002/jbm.b.34582
11. Guo Y, Yu Y, Han L, Ma S, Zhao J, Chen H, et al. Biocompatibility and osteogenic activity of guided bone regeneration membrane based on chitosan-coated magnesium alloy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019; 100: 226–235. doi: 10.1016/j.msec.2019.03.006
12. Sun Y, Helmholz H, Willumeit-Römer R. Peri-implant gas accumulation in response to magnesium-based musculoskeletal biomaterials: reframing current evidence for preclinical research and clinical evaluation. *Journal of Magnesium and Alloys*. 2024; 12(1): 59–71. doi: 10.1016/j.jma.2024.01.023
13. Ben Amara H, Martinez DC, Shah FA, Loo AJ, Emanuelsson L, Norlindh B, et al. Magnesium implant degradation provides immunomodulatory and proangiogenic effects and attenuates peri-implant fibrosis in soft tissues. *Bioact Mater*. 2023; 26: 353–369. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.02.014
14. Bazhenov VE, Kolytgin AV, Komissarov AA, Li A, Bautin V, Khasanova R, et al. Gallium-containing magnesium alloy for potential use as temporary implants in osteosynthesis. *Journal of Magnesium and Alloys*. 2020; 8(2): 352–363. doi: 10.1016/j.jma.2020.02.009
15. Bazhenov VE, Li A, Iliasov A, Bautin V, Plegunova S, Kolytgin A, et al. Corrosion behavior and biocompatibility of hot-extruded Mg–Zn–Ga–(Y) biodegradable alloys. *J Funct Biomater*. 2022; 13(4): 294. doi: 10.3390/jfb13040294
16. Rogachev SO, Bazhenov VE, Komissarov AA, Li AV, Munzaferova NE, Plegunova SV, et al. Microstructure, mechanical, and corrosion properties of Mg–Zn–Ga alloy after hot rolling. *Journal of Materials Engineering and Performance*. 2025; 34(5): 3970–3978. doi: 10.1007/s11665-024-09361-2
17. Drobyshev A, Gurganchova Z, Redko N, Komissarov A, Bazhenov V, Statnik ES, et al. An *in vivo* rat study of bioresorbable Mg–2Zn–2Ga alloy implants. *Bioengineering (Basel)*. 2023; 10(2): 273. doi: 10.3390/bioengineering10020273
18. Drobyshev A, Komissarov A, Redko N, Gurganchova Z, Statnik ES, Bazhenov V, et al. Bone remodeling interaction with magnesium alloy implants studied by SEM and EDX. *Materials (Basel)*. 2022; 15(21): 7529. doi: 10.3390/ma15217529

Сведения об авторах

Кунижев Кантемир Анатольевич – аспирант кафедры челюстно-лицевой и пластической хирургии; сотрудник лаборатории медицинской биорезорбции и биорезистентности ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; e-mail: kunizhevka@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-9077-6528>

Редько Николай Андреевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры челюстно-лицевой и пластической хирургии; ведущий научный сотрудник лаборатории медицинской биорезорбции и биорезистентности ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; e-mail: dr.redko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7807-9351>

Иванов Алексей Алексеевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией клеточной и молекулярной патологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; e-mail: butivanov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5722-6922>

Невская Елена Евгеньевна – сотрудник лаборатории медицинской биорезорбции и биорезистентности ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; e-mail: nevskaya_ee@rosunimed.ru

Комиссаров Александр Александрович – кандидат технических наук, доцент, директор Института «Материаловедение, аддитивные и сквозные технологии», заведующий лабораторией «Гибридные наноструктурные материалы» ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»; e-mail: Komissarov.alex@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5125-9870>

Баженов Вячеслав Евгеньевич – кандидат технических наук, доцент кафедры литейных технологий и художественной обработки материалов; старший научный сотрудник отдела компьютерных технологий и лабораторного обеспечения ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»; e-mail: v.e.bagenov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3214-1935>

Дробышев Алексей Юрьевич – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, заведующий кафедрой челюстно-лицевой и пластической хирургии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; e-mail: dr.drobyshev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1710-6923>

Information about the authors

Kantemir A. Kunizhev – postgraduate student of the Department of Oral and Maxillofacial and Plastic Surgery; researcher at the Laboratory of Medical Bioresorption and Bioresistance, Russian University of Medicine, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: kunizhev@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-9077-6528>

Nikolai A. Redko – Cand. Sc. (Med.), associate professor of the Department of Oral and Maxillofacial and Plastic Surgery; leading researcher at the Laboratory of Medical Bioresorption and Bioresistance, Russian University of Medicine, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: dr.redko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7807-9351>

Alexey A. Ivanov – Dr. Sc. (Med.), head of the Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Russian University of Medicine, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: butivanov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5722-6922>

Elena E. Nevskaya – researcher at the Laboratory of Medical Bioresorption and Bioresistance, Russian University of Medicine, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: nevskaya_ee@rosunimed.ru

Alexander A. Komissarov – Cand. Sc. (Engineering), director of the Institute of Materials Science, Additive and End-to-End Technologies; head of the Laboratory of Hybrid Nanostructured Materials, National University of Science and Technology MISIS; e-mail: Komissarov.alex@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5125-9870>

Vyacheslav E. Bazhenov – Cand. Sc. (Engineering), associate professor of the Department of Foundry Technologies and Artistic Processing of Materials; senior researcher, National University of Science and Technology MISIS; e-mail: v.e.bagenov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3214-1935>

Alexey Yu. Drobyshev – Dr. Sc. (Med.), corresponding member of the RAS, professor, head of the Department of Oral and Maxillofacial and Plastic Surgery, Russian University of Medicine, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: dr.drobyshev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1710-6923>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЕСТАЦИОННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА У ЖИВОТНЫХ: ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМА ВВЕДЕНИЯ СТРЕПТОЗОТОЦИНА НА ФОНЕ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ

**Бороздина Н.А.¹,
Горячева Н.А.¹,
Слащева Г.А.¹,
Павлов В.М.^{1,2},
Попкова Д.В.³,
Гладких И.Н.³,
Дьяченко И.А.^{1,2}**

¹ Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биохимической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (142290, Московская область, г. Пущино, проспект Науки, д. 6, Россия)

² Пущинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» (142290, Московская обл., г. Пущино, г. Пущино, проспект Науки, д. 3, Россия)

³ ФГБУН Тихоокеанский институт биохимической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения РАН (690022, Приморский край, г. Владивосток, пр-кт 100-летия Владивостока, д.159, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бороздина Наталья Андреевна
e-mail: borozdina@bibch.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Гестационный сахарный диабет (ГСД) представляет собой серьезную и широко распространенную проблему здравоохранения. Анализ существующих животных моделей ГСД, индуцированного высокожировой диетой (ВЖД) и введением стрептозотоцина, разрушающего β -клетки поджелудочной железы, выявляет значительные расхождения в режимах дозирования и продолжительности введения препарата.

Цель исследования. Оптимизация протокола введения стрептозотоцина (СТЗ) самкам C57BL/6 для моделирования ГСД, сопровождающегося устойчивой гипергликемией и нарушением толерантности к глюкозе во время беременности, для дальнейшего тестирования сахароснижающих препаратов.

Материалы и методы. Самок мышей линии C57BL/6 на протяжении всего эксперимента содержали на высокожировой диете (ВЖД). Перед беременностью самкам трижды или четырежды вводили СТЗ в дозе 60 мг/кг. Оценивали изменения массы тела, потребления корма и воды, уровня глюкозы в крови у самок, проведен глюкозотолерантный тест (ГТТ), патоморфологический анализ поджелудочной железы, оценена репродуктивная способность и выживаемость потомства.

Результаты. Четыре последовательных введения стрептозотоцина в дозе 60 мг/кг способствуют развитию гипергликемии и повышению концентрации глюкозы в крови у самок в глюкозотолерантном тесте не только во время беременности, но и в период лактации. У животных наблюдается более выраженная полидипсия, атрофические изменения в инкреторном аппарате поджелудочной железы, а также тенденция к снижению размера помета и выживаемости потомства. Применение трех доз стрептозотоцина вызывает гипергликемию и приводит к повышению площади под графиком концентрации глюкозы в глюкозотолерантном тесте только во время беременности.

Заключение. Для достижения гипергликемии и нарушения утилизации глюкозы у беременных самок мышей линии C57BL/6, находящихся на ВЖД, оптимально использование трех инъекций стрептозотоцина в дозе 60 мг/кг, что вызывает временные метаболические нарушения и не оказывает влияния на репродуктивную функцию животных. Это позволяет использовать данную модель для исследования эффективности гипогликемических препаратов при ГСД.

Ключевые слова: гестационный сахарный диабет, высокожировая диета, стрептозотоцин, гипергликемия, животная модель

Статья поступила: 31.03.2026
Статья принята: 17.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Бороздина Н.А., Горячева Н.А., Слащева Г.А., Павлов В.М., Попкова Д.В., Гладких И.Н., Дьяченко И.А. Моделирование гестационного сахарного диабета у животных: оптимизация режима введения стрептозотоцина на фоне высокожировой диеты. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 225-239. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.23

MODELING OF GESTATIONAL DIABETES MELLITUS IN ANIMALS: OPTIMIZATION OF THE STREPTOZOTOCIN ADMINISTRATION REGIMEN AGAINST THE BACKGROUND OF A HIGH-FAT DIET

**Borozdina N.A.¹,
Goryacheva N.A.¹,
Slashcheva G.A.¹,
Pavlov V.M.^{1, 2},
Popkova D.V.³,
Gladkikh I.N.³,
Dyachenko I.A.^{1, 2}**

¹ Branch of the Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Prospekt Nauki, 6, Pushchino 142290, Russian Federation)

² Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University (BIOTECH University) (Prospekt Nauki, 3, Pushchino 142290, Russian Federation)

³ G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences (100-letiya Vladivostoka Prospekt, 159, Vladivostok 690022, Russian Federation)

Corresponding author:

Natalya A. Borozdina

e-mail: borozdina@bibch.ru

ABSTRACT

Background. Gestational diabetes mellitus (GDM) is a serious and widespread health problem. Analysis of existing animal models of GDM induced by a high-fat diet (HFD) and administration of streptozotocin, which destroys pancreatic β -cells, reveals significant differences in dosage and duration of drug administration.

Aim. Optimization of the protocol for administering streptozotocin to female C57BL/6 mice to model GDM accompanied by persistent hyperglycemia and impaired glucose tolerance during pregnancy for testing drugs.

Materials and Methods. Female C57BL/6 mice were kept on a HFD throughout the experiment. Before pregnancy, the mice were injected three or four times with STZ at a dose of 60 mg/kg. Body weight, feed and water intake, and blood glucose levels in the females were assessed, glucose tolerance test and pathomorphological analysis of the pancreas were performed, and the reproductive capacity of dams and survival of the offspring were assessed.

Results. Four consecutive injections of streptozotocin at a dose of 60 mg/kg contribute to the development of hyperglycemia and lead to an increase in blood glucose concentration in females in a glucose tolerance test during pregnancy and lactation. Animals exhibit more pronounced polydipsia, atrophic changes in the pancreatic endocrine system, as well as a tendency to reduce litter size and offspring survival. The use of three streptozotocin doses causes hyperglycemia, leading to an increase in the area under the curve in the glucose tolerance test only during pregnancy.

Conclusion. Three injections of streptozotocin at a dose of 60 mg/kg are sufficient to induce hyperglycemia and impaired glucose utilization in pregnant C57BL/6 mice fed a HFD. This administration regimen causes temporary metabolic disturbances and does not affect the reproductive function of animals, making it suitable for use as a model to assess the efficacy of hypoglycemic drugs that could be used in GDM treatment.

Key words: gestational diabetes mellitus, high-fat diet, streptozotocin, hyperglycemia, animal model.

Received: 31.03.2026

Accepted: 17.08.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Borozdina N.A., Goryacheva N.A., Slashcheva G.A., Pavlov V.M., Popkova D.V., Gladkikh I.N., Dyachenko I.A. Modeling of gestational diabetes mellitus in animals: optimization of the streptozotocin administration regimen against the background of a high-fat diet. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 225-239. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.23

ВВЕДЕНИЕ

Наблюдается устойчивый рост заболеваемости гестационным сахарным диабетом (ГСД) во всем мире. По оценкам на 2024 год, около 15,6 % женщин столкнулись с гипергликемией во время беременности [1]. В России, по данным Росстата, этот показатель составил 13,6 % [2, 3]. У женщин, беременность которых сопровождалась гипергликемией, ГСД диагностировали в 83,6 % случаев [4]. Гестационный сахарный диабет характеризуется инсулинорезистентностью и повышением пиковой концентрации глюкозы в крови, как правило, во втором или третьем триместре беременности [5]. Гипергликемия оказывает негативное влияние не только на здоровье женщины, ее состояние в период беременности и во время родов, но также является фактором риска развития краткосрочных и долгосрочных осложнений как для матери, так и для ребенка, воздействуя на их жизнь на протяжении многих лет. Поэтому своевременное выявление, точное определение характера нарушений углеводного обмена во время беременности и выбор эффективной стратегии терапии являются ключевыми задачами для лечения ГСД и его последствий.

Экспериментальные животные модели сахарного диабета, применяемые для изучения метаболических нарушений у беременных и тестирования перспективных терапевтических соединений, немногочисленны, и имеют существенные недостатки, такие как нестабильная гипергликемия, не проходящая после родов, снижение репродуктивной функции животных, необратимое нарушение функций поджелудочной железы [5, 6]. Модель ГСД, индуцированная содержанием самок мышей C57BL/6 на высокожировой диете (ВЖД) до и во время беременности, имитирует патологию, связанную с избыточным весом у женщин, поэтому является наиболее приближенной к клинической практике [7–10]. Однако если у самцов мышей линии C57BL/6 удастся смоделировать метаболический синдром по типу сахарного диабета 2 типа с достижением гипергликемии лишь посредством содержания на ВЖД, то применение такого же подхода для самок мышей может быть недостаточным для нарушения метаболизма глюкозы, даже при кратном увеличении массы жировой ткани [11, 12]. Поэтому большинство исследований базируется на экспериментальных моделях ГСД, индуцированного только химическими соединениями, аллоксаном и стрептозотоцином (СТЗ), либо в сочетании с пищевыми нагрузками. Однако, применение высоких доз СТЗ (75 мг/кг) для достижения метаболических нарушений у беременных самок [10] приводит к необратимой гибели β -клеток поджелудочной железы [13], что не соответствует патофизиологии ГСД, который в большинстве случаев разрешается после родов. Кроме того, данные о концентрации глюкозы у самок после разрешения родов в экспериментах на мышах и крысах, а также о состоянии их потомства ограничены, хотя данные параметры являются важными при оценке релевантности экспериментальных моделей.

Предполагается, что эффективной стратегией для воспроизведения моделей гестационного диабета у животных может стать последовательное применение умеренных доз стрептозотоцина в комбинации с высокожировой диетой [10, 14]. В экспериментальном исследовании важно использовать именно такой режим и дозу введения СТЗ, чтобы достичь выраженной гипергликемии и инсулинорезистентности у животных, при условии отсутствия персистирующих метаболических нарушений после окончания беременности. Такой подход позволит воспроизвести физиологические особенности, характерные для ГСД [15]. Выбор режима введения СТЗ напрямую влияет на определение эффективности потенциальных гипогликемических препаратов: выраженное повреждение инкреторного аппарата поджелудочной железы может привести к ложноотрицательным результатам, тогда как недостаточное – к невозможности достижения необходимых метаболических нарушений [16, 17]. Таким образом, требуется более длительное и последовательное наблюдение за животными с метаболическими нарушениями не только во время беременности, но и после родов.

Предполагается, что введение самкам более низких доз СТЗ перед беременностью позволит создать модель, воспроизводящую физиологические и морфологические аспекты метаболических нарушений, характерных для ГСД, не переходящего в персистирующий сахарный диабет.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение оптимального режима введения СТЗ самкам C57BL/6 на фоне ВЖД для достижения гестационного сахарного диабета с сопутствующей гипергликемией и нарушением толерантности к глюкозе. В рамках исследования будет проведено сравнение патофизиологических механизмов развития у самок мышей линии C57BL/6 метаболических нарушений, индуцированных введением стрептозотоцина в трех или четырех дозах, на фоне беременности и после родов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоэтическая комиссия

Все процедуры с животными в исследовании были рассмотрены и утверждены Институциональной биоэтической комиссией ФИБХ РАН на предмет соответствия регулирующим документам (Протокол № 1030/25 от 11.04.2025). Исследование на лабораторных животных было выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации, а также Рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении Доклинических (неклинических) исследований». За стандарты содержания животных приняты

стандарты, определенные Директивой 2010/63/EU по защите животных, используемых в научных целях.

Животные

В исследовании использовали 21 самку мышей линии C57BL/6 со статусом Specific Pathogen Free, возрастом 6 недель и средней массой тела $17,3 \pm 1,2$ г, а также 10 самцов мышей C57BL/6 со статусом Specific Pathogen Free, возрастом 6 недель. Животные были получены из НПП Питомника лабораторных животных ФИБХ РАН [18].

После формирования групп, животных размещали индивидуально в клетках Тип-2 (370 см²), в комнате содержания животных барьерной зоны 2 в контролируемых условиях окружающей среды: температура 21,2–25,2°C, относительная влажность 35,0–70,0 %, 12-часовой цикл освещения (08:00–20:00 – «день», 20:00–08:00 – «ночь») и 12-ти кратная смена объема воздуха комнаты в час. Температуру и влажность постоянно контролировали с помощью компьютеризированной системы Eksis Visual Lab (EVL, ОАО «Практик-НЦ»). Гранулированный автоклавированный корм, полнораационный, для содержания крыс и мышей Velaz FORTI 1324 Maintenance Diet (Altromin Spezialfutter GmbH & Co KG, Im Seelenkamp 20, D-32791 Lage, Germany) или высокожировой корм, приготовленный на основе полнораационного корма Velaz FORTI 1324 Maintenance Diet, а также фильтрованная водопроводная вода (MilliRO, Millipore) давались *ad libitum*. Животным в клетки содержания помещали домики из красного прозрачного поликарбоната (Tecniplast S.P.A) и волокна для гнездования Lignocel Nesting Ball (JRS Germany), ежедневно проводили клинический осмотр на наличие серьезных отклонений в здоровье и определение смертности.

Дизайн эксперимента

Перед проведением эксперимента животных на 14 дней помещали в комнату содержания животных барьерного типа для акклиматизации к лабораторным условиям. Перед началом эксперимента проводили общий клинический осмотр всех животных с целью исключения из эксперимента особей с клиническими отклонениями.

Перед исследованием самок мышей распределяли на 3 группы (табл. 1). Распределение проводили методом блочной рандомизации, в качестве критерия использовали массу тела. Пять здоровых животных контрольной группы № 1 на протяжении всего эксперимента содержали на стандартной диете (СТД); в группах № 2 и 3 (по 8 животных в каждой) гипергликемию индуцировали путем комбинации высокожировой диеты и последовательного введения трех (группа СТЗ-3) или четырех (группа СТЗ-4) доз СТЗ соответственно.

Размер выборки ($n = 5$) был рассчитан с использованием статистической программы ClinCalc (ClinCalc LLC, США). Расчет проводился при заданном уровне статистической мощности 80 % и допустимом уровне значимости $\alpha = 0,05$. В группы СТЗ-3 и СТЗ-4 было взято по 3 запасных животных в связи с введением стрептозотоцина.

Через шесть недель (42 день исследования) к самкам подсаживали самцов в соотношении 2:1. На следующий день беременность самок подтверждали по наличию вагинальной пробки. Всем самкам давали выносить и родить потомство. Еженедельно производили измерение массы тела животных, концентрации глюкозы в крови, уровней потребления корма и воды. Глюкозотолерантный тест проводили на 14-й день беременности и 7-й день лактации. У потомства регистрировали массу тела и выживаемость. Через 6 недель (85 день исследования) родивших самок подвергали эвтаназии.

Моделирование метаболических нарушений

На протяжении всего исследования животных групп № 2 и 3 содержали на высокожировой диете. Для приготовления 1 кг корма использовали 700 г перемолотого полнораационного корма Velaz FORTI 1324 Maintenance Diet, 300 г свиного растопленного лярда, воду (350 мл) с добавлением пищевой соли (10 г) и глутамата натрия (28,5 г). Сформированные пищевые гранулы подсушивали при температуре 50–60°C в течение 10–12 часов и хранили при 4°C.

Начиная с 29 дня исследования, животным групп № 2 и 3 внутрибрюшинно вводили СТЗ в дозе 60 мг/кг однократно в течение 3–4 дней соответственно.

ТАБЛИЦА 1
ГРУППЫ ЖИВОТНЫХ

№	Группа	Моделирование метаболических нарушений	Диета	Введение СТЗ	Кол-во животных
1	Контроль	-	Стандартная	-	5
2	СТЗ-3	+	Высокожировая	Высокожировая диета + внутрибрюшинное введение СТЗ в дозе 60 мг/кг на 29, 30, 31 день исследования	8
3	СТЗ-4	+	Высокожировая	Высокожировая диета + внутрибрюшинное введение СТЗ в дозе 60 мг/кг на 29, 30, 31 и 32 день исследования	8

TABLE 1
ANIMAL GROUPS

Раствор СТЗ готовили непосредственно перед введением, в качестве носителя использовали 0,1 М цитратный буферный раствор, pH 4,5. Носитель готовили за день до приготовления раствора СТЗ и хранили при 4°C.

Масса тела

Массу тела самок регистрировали еженедельно в течение всего периода исследования (84 дня). Исключение составил 63 день, когда у самок регистрировали роды, поэтому взвешивание проводили на 62 день исследования.

Потребление корма и воды

Потребление корма и воды регистрировали еженедельно в течение всего исследования посредством взвешивания решетки с кормом (кормушки) и поилки с водой в начале дня и через 24 часа. Потребление корма рассчитывали из значений массы тела, начальной массы кормушки и конечной массы кормушки, результаты выражали в г/кг массы тела/сутки и ккал/кг массы тела/сутки. Потребление воды рассчитывали аналогично, исходя из массы тела животного, начальной массы поилки и конечной массы поилки, в мл/кг массы тела/сутки. Индивидуальное потребление корма и воды не регистрировали при спаривании самок с самцами (на 42 день исследования) и в день родов у самок.

Измерение концентрации глюкозы в крови

Глюкометрию проводили еженедельно в течение всего исследования, а также во время глюкозотолерантного теста, за исключением 63 дня исследования, когда у самок регистрировали роды. Перед измерением концентрации глюкозы животных лишали корма на 4 часа, доступ к воде не ограничивали. Концентрацию глюкозы измеряли в образце капиллярной крови из надрезанного кончика хвоста с помощью глюкометра Сателлит Экспресс® (ЭЛТА, Россия) и соответствующих тест-полосок.

Глюкозотолерантный тест

Глюкозотолерантный тест проводили на 14 день беременности самок и через 7 дней после родов. Перед тестом мышей лишали корма на 4 часа, доступ к воде не ограничивали. Животным перорально вводили раствор глюкозы в дозе 2 г/кг. Концентрацию глюкозы в крови определяли непосредственно до введения глюкозы и после введения глюкозы через 15, 30, 60, и 120 мин.

Наблюдения в постнатальном периоде

В день родов и на следующий день новорожденных в помете осматривали на наличие внешних аномалий развития, оценивали количество живорожденных и мертворожденных, а также количество живого потомства у каждой родившей самки.

Потомство взвешивали через 1, 2 и 3 недели после рождения. Оценивали постнатальную выживаемость потомства и массу тела на помет как на экспериментальную единицу.

Некропия

Через 6 недель (84 день исследования) самки и их потомство подвергали эвтаназии посредством внутримышечной анестезии смесью Телазол® в дозе

30 мг/кг и «Ксила» в дозе 10 мг/кг, с последующим взвешиванием и терминальным взятием крови из каудальной полой вены. Смерть животного наступала от обескровливания в состоянии анестезии. Головной мозг, поджелудочную железу и висцеральную перигонадальную жировую ткань извлекали, взвешивали и фиксировали в 10 % формалине. Жировую ткань нарезали на срезы толщиной 5 мкм, производили окрашивание гематоксилином и эозином. Коэффициент массы висцерального жира рассчитывали относительно массы тела и головного мозга.

Гистологический анализ

Поджелудочную железу обезживали в спиртах восходящей концентрации, заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 3–5 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином, изучали с помощью прямого микроскопа AxioScope.A1 (Carl Zeiss). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью камеры AxioCam 305 color (Carl Zeiss) и программного обеспечения ZEN 2.6 lite (Carl Zeiss). Для оценки выраженности гистологических изменений применяли полуколичественную балльную шкалу [19]. Для подсчета площади островков Лангерганса использовали программу ImageJ (США). Подсчет площади островков Лангерганса производили у всех животных в 10 различных полях зрения, для каждого животного рассчитывалась средняя площадь в мм².

Статистический анализ

Для всех данных была проведена описательная статистика, все данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего (Mean $\pm$ SEM). При статистическом анализе данных после наступления беременности из групп СТЗ-3 и СТЗ-4 были исключены животные с концентрацией глюкозы в крови менее 8 ммоль/л на 42 день исследования. Статистической обработке подлежали данные, полученные только от беременных и родивших животных. Распределение данных проверяли на нормальность с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для установления межгрупповых различий применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим тестом Tukey. Внутригрупповое сравнение начального значения показателей в 1 день исследования со значениями в других временных точках проводили для массы тела, концентрации глюкозы, потребления калорий и воды с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA для повторяющихся значений с последующим тестом Dunnett и с применением коррекции Greenhouse – Geisser. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Prism v10 (GraphPad, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Масса тела

В течение первых 28 дней содержания самок мышей на ВЖД каких-либо значимых отличий в массе

тела между группами животных выявлено не было (рис. 1). Через 35 дней, после четырех последовательных инъекций СТЗ, в группе СТЗ-4 наблюдали резкое снижение массы тела самок на 6 % относительно группы СТЗ-3. Через 42 дня масса тела в группе СТЗ-3 была значительно выше на 6,3 % по сравнению с группой СТЗ-4. Через 49 дней средняя масса тела в группе СТЗ-3 увеличилась на 7,9 % по сравнению с контрольной группой и СТЗ-4, а через 56 дней наблюдали значительное (более 6 %) увеличение массы тела мышей относительно контроля в обеих группах с применением СТЗ. Через 63 дня (19–20 дни беременности) значительных различий в массе тела между группами выявлено не было. Через неделю после родов, на 70 день исследования, масса тела самок группы СТЗ-3 была на 9,5 % выше, чем в контроле (рис. 1).

Потребление корма и воды

Потребление корма у самок в первые сутки содержания на ВЖД было значительно выше, в среднем на 33 %, по сравнению с контрольной группой (рис. 2а). В последующие дни исследования, в том числе в период беременности, родов и лактации, значительных различий между группами выявлено не было. В группах на ВЖД потребление корма значительно снизилось в период до беременности, начиная с 7-го дня исследования, а также во время беременности по сравнению с 1 днем исследования, однако после родов у животных из групп СТЗ-3 и СТЗ-4 потребление корма повысилось и уже значительно не отличалось от начального уровня.

Потребление воды также было значительно выше в первые сутки, через 7 и 21 день после начала применения ВЖД у самок групп СТЗ-3 и СТЗ-4 по сравнению с контрольной группой. Через 35 дней, после инъекций стрептозоцина, в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 наблюдали выраженное повышение потребления воды на 32,7 % и 44,7 % соответственно. Значительное повышение потребления воды в группах животных СТЗ-3 и СТЗ-4, в среднем на 24 % по сравнению с контрольными значениями, также наблюдали через 84 дня от начала эксперимента (3 недели после родов) (рис. 2б).

Концентрация глюкозы в крови

С 1-го по 42-й день исследования для статистического анализа концентрации глюкозы брали по 8 животных на группу СТЗ-3 и СТЗ-4. Критерием исключения животных в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 из эксперимента являлась концентрация глюкозы менее 8 ммоль/л непосредственно после последнего введения СТЗ. Критерием исключения животных из всех групп являлось отсутствие беременности.

Концентрация глюкозы значительно повышалась только в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 относительно начальных значений в данных группах в 1 день исследования. Через 21 день от начала эксперимента в группах на ВЖД наблюдали достоверное повышение концентрации глюкозы в крови животных: в группе СТЗ-3 – в среднем до 8,1 ммоль/л, а в группе СТЗ-4 – до 8,4 ммоль/л (рис. 3). На 35 день исследования концентрация глюкозы в крови контрольных животных в среднем составляла

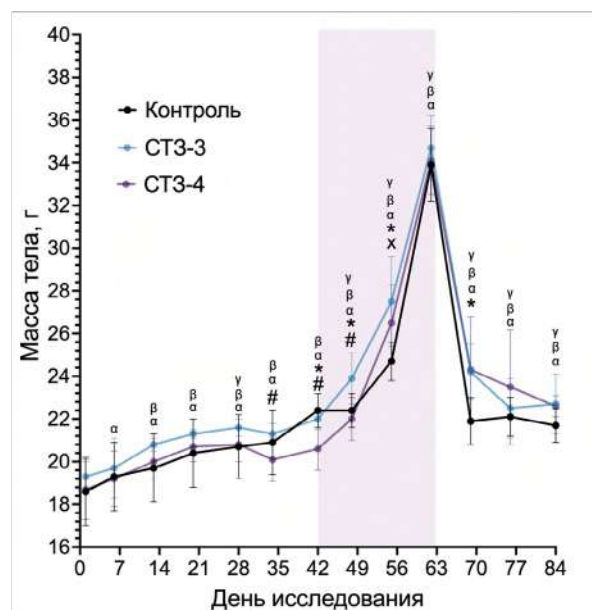


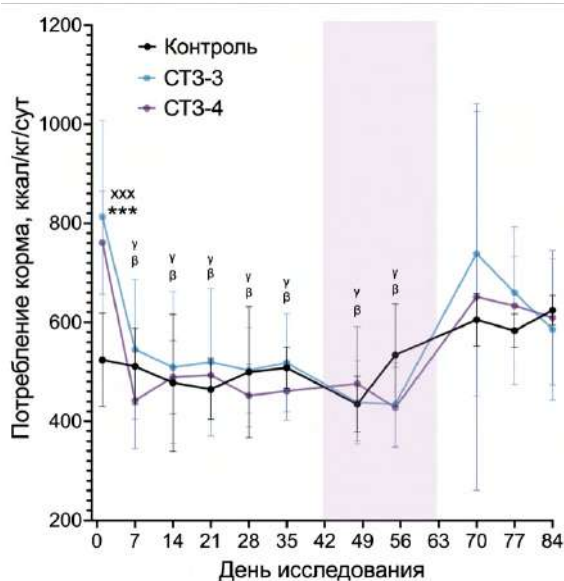
РИС. 1.

Динамика изменения массы тела самок животных на стандартной диете (СТД) и ВЖД. Здесь (и далее) розовым полем обозначен период беременности. Измерения в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 статистически достоверны относительно контрольной группы (* $p < 0,05$, * $p < 0,05$) и между группами (* $p < 0,05$), $n = 5-8$. Здесь (и далее на рисунках 2 и 3) статистически значимые внутригрупповые отличия относительно начального уровня на 1 день исследования отмечены для контрольной группы ($^{\alpha}p < 0,05$), группы СТЗ-3 ($^{\beta}p < 0,05$) и группы СТЗ-4 ($^{\gamma}p < 0,05$).

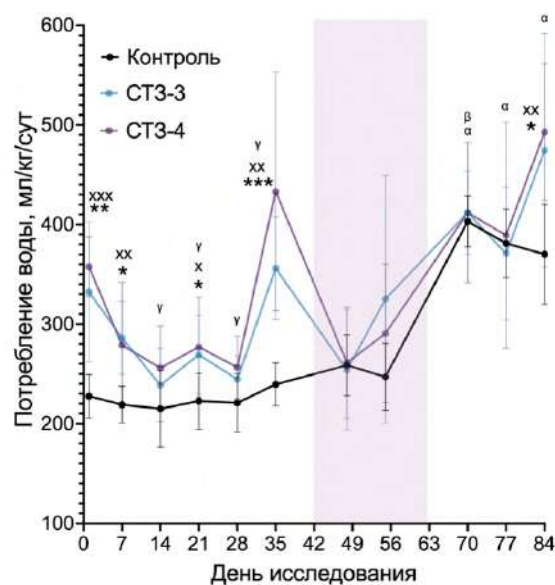
FIG. 1.

Dynamics of body weight changes in female animals on STD and HFD. Here and below, pink area indicates the pregnancy period. Measurements in STZ-3 and STZ-4 groups were statistically significant relative to the control group (* $p < 0.05$ and * $p < 0.05$) and between groups (* $p < 0.05$), $n = 5-8$. Here and throughout (for Figs. 2 and 3), statistically significant intragroup differences relative to the baseline level on study day 1 were noted for the control group ($^{\alpha}p < 0.05$), the STZ-3 group ($^{\beta}p < 0.05$), and the STZ-4 group ($^{\gamma}p < 0.05$).

$6,9 \pm 0,8$ ммоль/л, в группе СТЗ-3 после трехкратного введения СТЗ – $9,3 \pm 1,4$ ммоль/л, а в группе СТЗ-4 после четырех инъекций СТЗ – $10,3 \pm 1,1$ ммоль/л. Максимально высокий уровень глюкозы в крови ($9,4 \pm 1,2$ ммоль/л в группе СТЗ-3 и $10,9 \pm 0,7$ ммоль/л в группе СТЗ-4) регистрировали на 49 день исследования, по окончании первой недели беременности (табл. 2). При этом, в течение всей беременности (42, 49 и 56 дни исследования) гипергликемия у самок группы СТЗ-4 была выше в среднем на 15,7 %, чем у животных группы СТЗ-3. В течение трех недель после родов (70–84 дни исследования) в группе СТЗ-4 повышенные значения концентрации глюкозы в крови относительно контрольных животных сохранялись, кроме того, на 70-й и 77-й дни значения глюкозы в крови у самок данной группы значительно превышали параметры группы СТЗ-3. Только в группе СТЗ-4 концентрация глюкозы после родов была значительно выше начальных показателей на 1 день



a



b

РИС. 2.

Потребление корма (а) и потребление воды (б) самками животных на STD и ВЖД. Измерения в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 статистически достоверны относительно контрольной группы (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ и $x^p < 0,05$, $xx^p < 0,01$, $xxx^p < 0,001$), $n = 5-8$.

FIG. 2.

Feed consumption (a) and water consumption (b) by female animals on STD and HFD. Measurements in the STZ-3 and STZ-4 groups were statistically significant relative to the control group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and $x^p < 0.05$, $xx^p < 0.01$, $xxx^p < 0.001$), $n = 5-8$.

исследования, в группе СТЗ-3 уровень глюкозы после родов значительно не отличался от показателей в 1 день исследования, до начала моделирования метаболических нарушений. Так, в группе СТЗ-3 концентрация глюкозы в крови через одну и две недели после родов составляла $7,2 \pm 0,8$ ммоль/л и $7,9 \pm 1,5$ ммоль/л соответственно, а в группе СТЗ-4 – $9,6 \pm 1,2$ ммоль/л и $10,0 \pm 1,1$ ммоль/л (табл. 2).

Глюкозотолерантный тест

Глюкозотолерантный тест проводили через 14 дней от начала беременности и через 7 дней после родов (рис. 4). В группе СТЗ-4 наблюдали значительное повышение концентрации глюкозы в крови относительно контрольных животных во всех временных точках, в то время как в группе СТЗ-3 уровень глюкозы в крови был незначительно выше через 15, 60 и 120 минут после введения раствора глюкозы (рис. 4а). Через неделю после родов только в группе СТЗ-4 концентрация глюкозы во всех временных точках теста была значительно выше, чем у контрольных животных, при этом в группе СТЗ-3 показатели были близки к контрольным значениям (рис. 4 б). Площадь под графиком концентрации глюкозы в группе СТЗ-4 была значительно выше относительно контрольной группы (на 25,8 % на 14-й день беременности и 20,2 % через неделю после родов), а также группы СТЗ-3 (рис. 4с).

Масса висцерального жира

Через 3 недели после родов в процессе некропсии (85 день исследования), извлекали и взвешивали висцеральную перигонадальную жировую ткань каждой

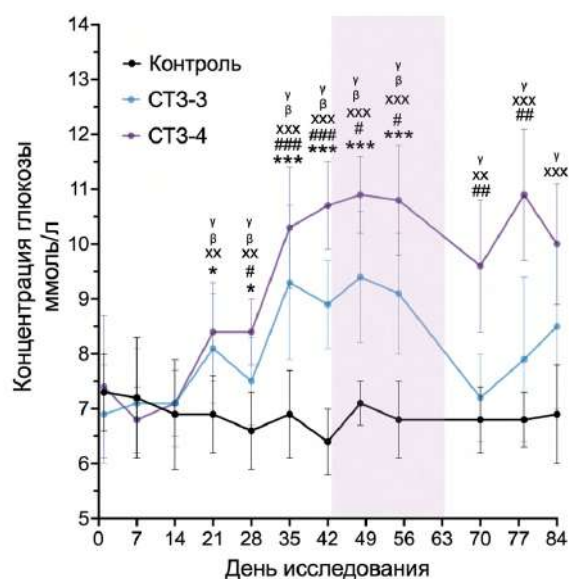


РИС. 3.

Динамика изменения концентрации глюкозы в капиллярной крови самок животных. Измерения в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 статистически достоверны относительно контрольной группы (* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ и $xx^p < 0,01$, $xxx^p < 0,001$) и между группами (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$), $n = 5-8$.

FIG.3.

Dynamics of glucose concentration in the capillary blood of female animals. Measurements in the STZ-3 and STZ-4 groups were statistically significant relative to the control group (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, and $xx^p < 0.01$, $xxx^p < 0.001$) and between groups (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$), $n = 5-8$.

ТАБЛИЦА 2

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ ДО ВВЕДЕНИЯ СТЗ (21 ДЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ), ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ СТЗ (35 ДЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ), ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ (49 И 56 ДНИ ИССЛЕДОВАНИЯ) И ПОСЛЕ РОДОВ (70 И 77 ДНИ ИССЛЕДОВАНИЯ), $n = 5-8$

TABLE 2

INDIVIDUAL DATA ON BLOOD GLUCOSE CONCENTRATION BEFORE STZ ADMINISTRATION (21st DAY OF THE STUDY), AFTER STZ ADMINISTRATION (35th DAY), DURING PREGNANCY (49th AND 56th DAYS OF THE STUDY), AND POSTPARTUM (70th AND 77th DAYS OF THE EXPERIMENT), $n = 5-8$

	21 день исследования (до введения СТЗ)			35 день исследования (после введения СТЗ)			49 день (7 день беременности)		
	Контроль	СТЗ-3	СТЗ-4	Контроль	СТЗ-3	СТЗ-4	Контроль	СТЗ-3	СТЗ-4
	7,4	9,3	7,7	7,7	9,7	8,70	6,8	-	10,5
	6,8	8,6	9,7	6,8	10,5	9,00	7,3	8,6	-
	6,5	7,2	9,5	5,6	7,2	11,90	6,5	-	9,9
	7,8	8,8	8	7,1	9,6	9,80	7,6	9,7	11,4
	6,2	9,5	9,1	7,3	11,6	10,50	7,1	11,2	10,8
		6,8	7,7		8,4	10,40		8	-
		7,7	7,4		8,2	11,00		8,6	11,8
		7,2	8,3		9,5	10,90		10,1	10,7
MEAN	6,9	8,1	8,4	6,9	9,3	10,3	7,1	9,4	10,9
SD	0,7	1,0	0,9	0,8	1,4	1,1	0,4	1,2	0,7
N	5	8	8	5	8	8	5	6	6
	56 день (14 день беременности)			70 день (7 день после родов)			77 день (14 день после родов)		
	Контроль	СТЗ-3	СТЗ-4	Контроль	СТЗ-3	СТЗ-4	Контроль	СТЗ-3	СТЗ-4
	6,9	-	10,4	7,4	-	9,7	7,3	-	9,5
	6,4	9,6	-	6,2	7,7	-	7,1	9,7	-
	7,7	8,3	9,4	6,8	5,8	7,9	6,4	-	9,6
	7,1	7,8	11,2	6,3	7,2	8,5	6,8	9,4	11,1
	5,9	-	11,5	7,5	-	10,9	6,2	-	12,7
		8,6	-		7,5	-		7,1	-
		9,2	12,1		8,1	10,5		6,5	11,7
		10,8	10,3		7	9,8		6,9	10,5
MEAN	6,8	9,1	10,8	6,8	7,2	9,6	6,8	7,9	10,9
SD	0,7	1,1	1,0	0,6	0,8	1,2	0,5	1,5	1,2
N	5	6	6	5	6	6	5	6	6

самки (рис. 5). Значительное повышение абсолютной массы висцерального перигонадального жира на 35,2 % относительно контрольной группы наблюдали в группе СТЗ-3 (рис. 5a). При этом значительных отличий в коэффициенте массы висцерального перигонадального жира относительно массы головного мозга у самок всех групп отмечено не было (рис. 5b).

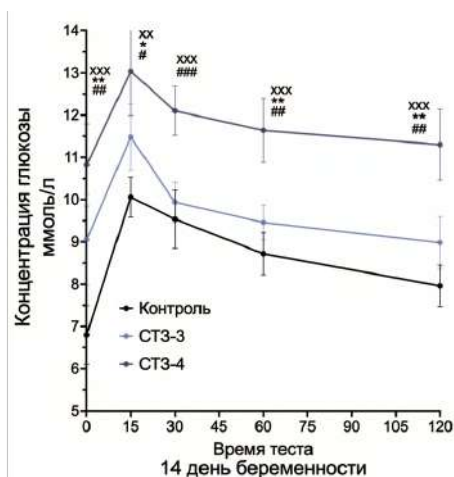
Гистологический анализ

В результате гистологического анализа поджелудочной железы у животных групп СТЗ-3 и СТЗ-4 обнаружена редукция числа островков Лангерганса относительно мышей контрольной группы (рис. 6). В сравнении с контрольной группой (рис. 6a), площадь островков Лангерганса у животных из групп

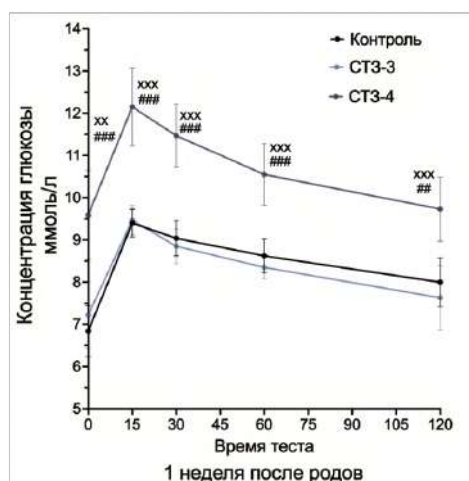
СТЗ-3 (рис. 6b) и СТЗ-4 (рис. 6c) были значительно снижены на 35 % и 57 %, соответственно (рис. 6d). В группе СТЗ-3, на каждом поле зрения при увеличении в 100 раз встречалось по 1–2 островка, в то время как в группе СТЗ-4 при аналогичном увеличении островки в поле зрения могли отсутствовать. В поджелудочной железе самок группы СТЗ-3 была отмечена компенсаторная гипертрофия β -клеток. Кроме того, в обеих группах животных, получавших инъекции СТЗ, была отмечена вакуолизация и гибель β -клеток.

Постнатальные наблюдения

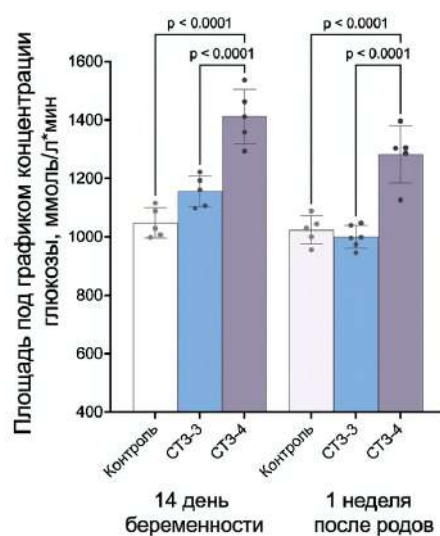
Значительных отличий в массе тела потомства между группами не наблюдали при рассмотрении



a



b



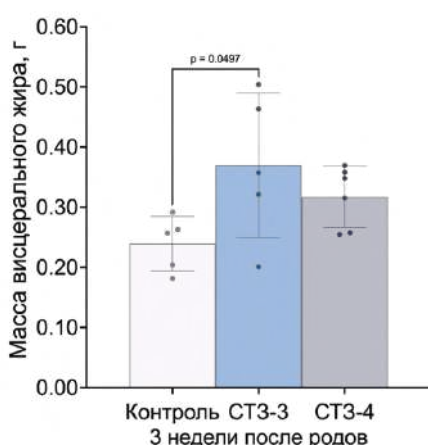
c

РИС. 4.

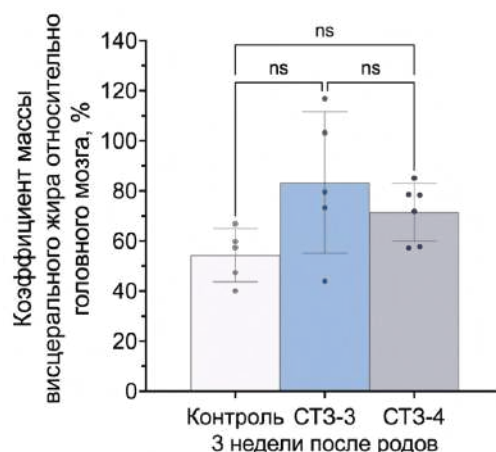
Динамика изменения концентрации глюкозы в капиллярной крови самок животных в ГТТ: через две недели беременности (a) и через неделю после родов (b); площадь под графиком концентрации глюкозы (c). Измерения в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 статистически достоверны относительно контрольной группы (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и $^{xx}p < 0,01$, $^{xxx}p < 0,001$) и между группами ($^{\#}p < 0,05$, $^{\#\#}p < 0,01$, $^{\#\#\#}p < 0,001$), $n = 5$ контрольной группы, $n = 8$ в группах СТЗ-3 и СТЗ-4.

FIG.4.

Dynamics of glucose concentration in the capillary blood of female animals during the GTT: after two weeks of pregnancy (a) and one week postpartum (b); the area under the glucose concentration curve (c). Measurements in the STZ-3 and STZ-4 groups were statistically significant relative to the control group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and $^{xx}p < 0.01$, $^{xxx}p < 0.001$) and between groups ($^{\#}p < 0.05$, $^{\#\#}p < 0.01$, $^{\#\#\#}p < 0.001$), $n = 5$ in the control group, $n = 8$ in the STZ-3 and STZ-4 groups.



a



b

РИС. 5.

Абсолютная масса висцерального перигонадального жира (a) и коэффициент массы висцерального перигонадального жира относительно массы головного мозга (b) у самок через 3 недели после родов. Статистически значимые отличия указаны в виде значения p ; ns – нет статистически значимой разницы между группами. $n = 5$ контрольной группы, $n = 6$ в группах СТЗ-3 и СТЗ-4.

FIG. 5.

The absolute mass of visceral perigonadal fat (a) and the mass coefficient of visceral perigonadal fat relative to brain mass (b) in females 3 weeks postpartum. Statistically significant differences are indicated as p values; ns – no statistically significant difference between the groups. $n = 5$ in the control group, $n = 6$ in the STZ-3 and STZ-4 groups.

в качестве экспериментальной единицы как отдельной особи (рис. 7а), так и помета в целом (рис. 7б).

Ни один из новорожденных не имел аномалий развития. Выживаемость потомства в контрольной группе и СТЗ-3 составляла 100 % на протяжении всего периода наблюдения (рис. 7с). В группе СТЗ-4 количество новорожденных в пометах было меньше, чем в контрольной группе и группе СТЗ-3 (рис. 7д). Кроме того, в первые сутки после родов у одной самки из данной группы было зарегистрировано два случая частичного каннибализма, что привело к снижению выживаемости до 88,9 %. Однако статистически значимых отличий в выживаемости потомства и размерах пометов между группами обнаружено не было.

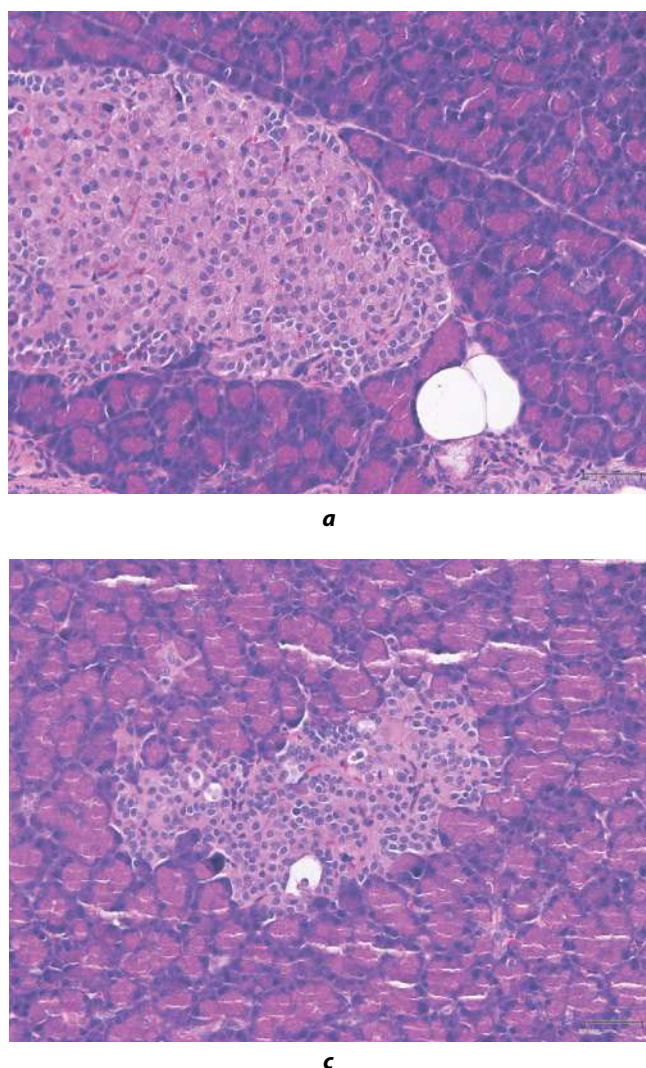


РИС. 6. Гистологический анализ поджелудочной железы. Фрагменты островкового аппарата поджелудочной железы животных контрольной группы (а), группы СТЗ-3 (б) и группы СТЗ-4 (с). Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение в 200 раз. Площадь островков Лангерганса, мм² (д). Измерения в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 статистически достоверны относительно контрольной группы (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$), $n = 5$ контрольной группе, $n = 6$ в группах СТЗ-3 и СТЗ-4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Физиологические процессы, лежащие в основе возникновения гестационного сахарного диабета, гетерогенны: у части женщин гипергликемия связана с развитием инсулинорезистентности, тогда как у других – с нарушением функционирования β -клеток поджелудочной железы [20]. При этом ГСД часто возникает на фоне уже имеющихся избыточного веса и нарушений утилизации глюкозы. Физиологические гормональные изменения, происходящие во время беременности, могут усугублять метаболические дисфункции, что приводит к развитию стойкой гипергликемии и манифестации клинических проявлений, характерных для сахарного диабета [21]. Отсутствие

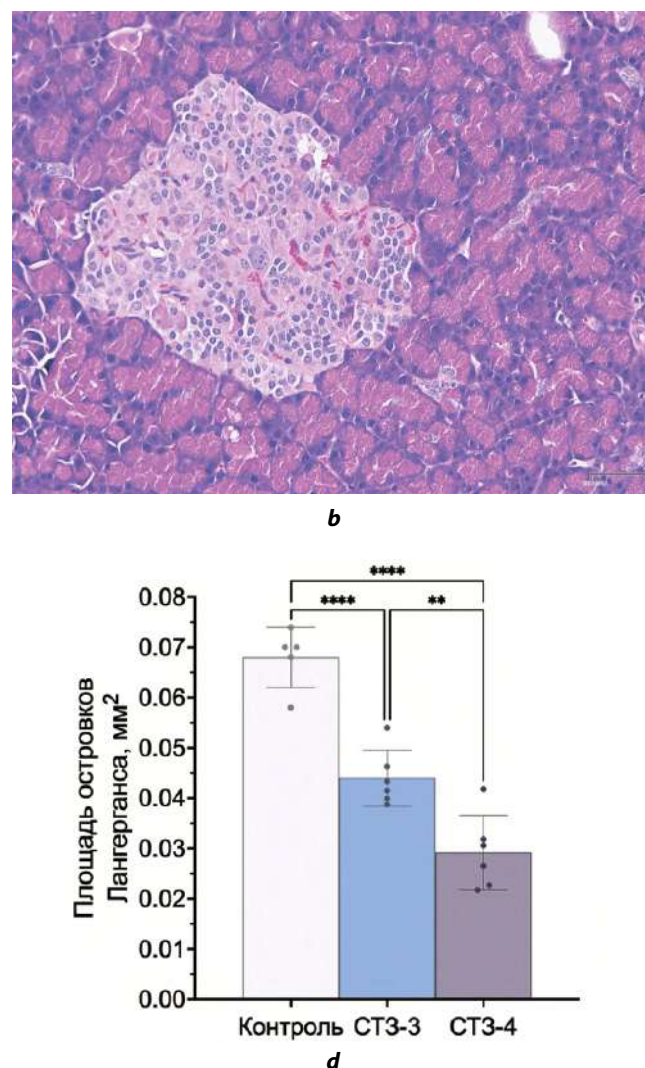


FIG. 6. Histological analysis of the pancreas. Fragments of the pancreatic islet apparatus of animals of the control group (a), STZ-3 group (b), and STZ-4 group (c). Hematoxylin and eosin staining, 200x magnification. Area of the pancreatic islets, mm² (d). Measurements in the STZ-3 and STZ-4 groups were statistically significant relative to the control group (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$), $n = 5$ in the control group, $n = 6$ in the STZ-3 and STZ-4 groups.

универсальной животной модели ГСД обусловлено разным происхождением заболевания, в связи с чем имеет место тестирование фармакологически активных веществ в моделях ГСД, индуцированного с применением разных методик.

Для воспроизведения экспериментальных моделей ГСД в лабораторных условиях чаще всего применяют комбинацию высокожировой диеты и введения низких доз диабетогенного агента стрептозотоцина. Такой подход позволяет индуцировать нарушение секреторной функции β -клеток поджелудочной железы с сохранением их функционального резерва, что способствует развитию гипергликемии, усиливающейся в период беременности подобно тому, как это происходит у человека. Последовательное введение низких доз стрептозотоцина в течение нескольких дней предпочтительнее однократного, так как позволяет избежать

одновременной гибели β -клеток поджелудочной железы с последующим массивным выбросом инсулина, провоцирующим развитие серьезной гипогликемии, часто с летальным исходом [22]. При этом недостатком некоторых исследований является наблюдение за животными только в период беременности и отсутствие данных о влиянии гестационной гипергликемии на состояние самок после родов, а также новорожденных [10, 14, 23].

В ходе данного исследования сравнивали влияние введения мышам до беременности двух общих доз СТЗ (180 и 240 мг/кг) на массу тела, потребление калорий и воды, массу висцерального перигонадального жира, концентрацию глюкозы в крови натощак и в ГТТ, а также массу тела и выживаемость потомства мышей. В связи с высоким риском гибели самок и их потомства, модель, при которой вещество вводят животным во время

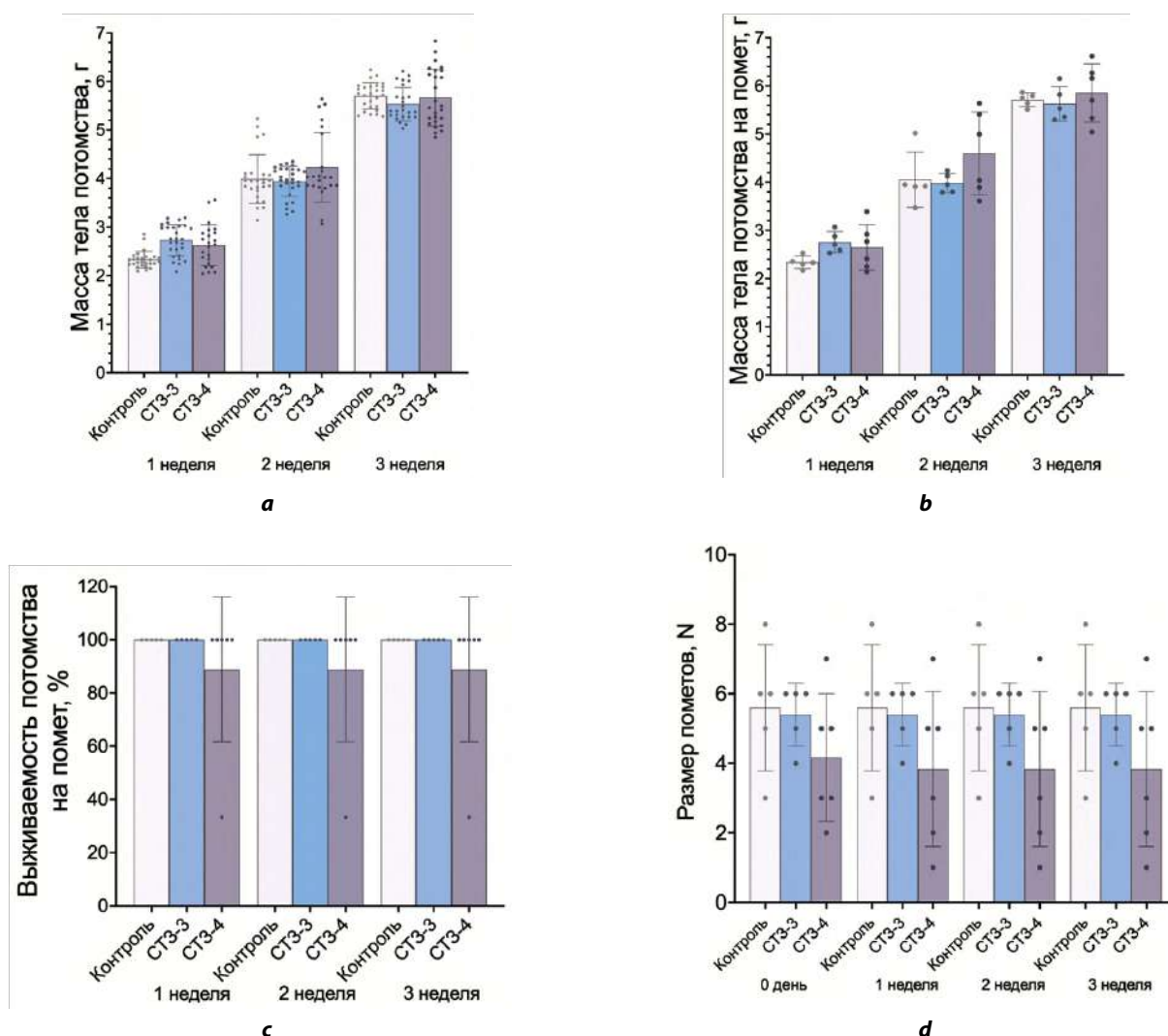


РИС. 7.

Показатели постнатального наблюдения за потомством через 1, 2 и 3 недели после рождения: индивидуальная масса тела (а), масса тела потомства на помет как экспериментальная единица (б), выживаемость потомства на помет, % (в) и размер пометов, количество особей (д). $n = 5$ контрольной группе, $n = 6$ в группах СТЗ-3 и СТЗ-4

FIG. 7.

Postnatal offspring parameters at 1, 2, and 3 weeks after birth: individual body weight (a), offspring body weight per litter as an experimental unit (b), offspring survival per litter, % (c), and litter size, number of individuals (d). $n = 5$ in the control group, $n = 6$ in the STZ-3 and STZ-4 groups

беременности, не позволяет достоверно оценить влияние повышенной концентрации глюкозы на физиологические показатели грызунов [24]. Кроме того, повышенная выработка эстрогена в период беременности снижает диabetогенное действие СТЗ, в связи с чем эффективность воспроизведения модели гестационного сахарного диабета значительно снижается [25].

Согласно литературным данным, у мышей C57BL/6 возраста 6–12 недель при введении стрептозотоцина на фоне содержания на высокожировой диете стабильно развиваются метаболические нарушения [26, 27]. В настоящем исследовании самок мышей C57BL/6 возрастом 6 недель содержали на высокожировой диете в течение шести недель. При этом на 28 день эксперимента у животных наблюдали умеренную гипергликемию (7,5–8,4 ммоль/л), которая усиливалась после трех или четырех введений СТЗ и во время беременности достигала максимальных значений – 9,4 и 10,9 ммоль/л соответственно. Показатели глюкозы в крови отличаются у здоровых мышей разных линий и пола. У самок линии C57BL/6 в возрасте 3 месяцев постпрандиальный уровень глюкозы в крови не превышает 8 ммоль/л, в связи с чем тощаковые значения глюкозы у животных на фоне ВЖД и после инъекций СТЗ в данном эксперименте указывают на развитие нарушений углеводного обмена [28]. Таким образом, в разработанной модели самки имели метаболические нарушения, связанные со снижением функции поджелудочной железы, до наступления беременности. Беременность сопровождается развитием инсулинорезистентности, компенсируемой за счет пролиферации β -клеток поджелудочной железы и увеличения секреции инсулина [10]. В послеродовом периоде, при нормализации чувствительности к инсулину, у мышей группы СТЗ-3 происходило снижение концентрации глюкозы в крови относительно уровня, зарегистрированного до беременности, что может быть обусловлено частичным восстановлением инкреторной функции поджелудочной железы. У животных, получивших четыре инъекции СТЗ, более значительные повреждения массива β -клеток препятствовали восстановлению инсулинсекреторной функции [29]. В подтверждение этого, гистологический анализ выявил более выраженную редукцию количества островков Лангерганса в группе СТЗ-4 и наличие атрофических изменений в β -клетках. У животных группы СТЗ-3, согласно гистологическому анализу, морфологические изменения поджелудочной железы были менее выраженными.

В глюкозотолерантном тесте, проведенном в конце второй недели беременности, самки с ГСД продемонстрировали значительно более высокие показатели глюкозы в крови, чем животные контрольной группы. AUC концентрации глюкозы на 14-й день беременности составляла 1156 ммоль/л*мин в группе СТЗ-3, и 1412 ммоль/л*мин в группе СТЗ-4. Авторы Liu Z. et al. продемонстрировали менее выраженное повышение AUC до 915 ммоль/л*мин в глюкозотолерантном тесте в модели гестационного диабета у мышей, вызванного только высокожировой диетой [30]. На 70-й день

в ГТТ у животных, получавших суммарно 240 мг/кг СТЗ, концентрация глюкозы сохранялась на высоком уровне, тогда как у мышей группы СТЗ-3 уровень глюкозы в крови после родов значительно снижался.

Введение четырех доз СТЗ (суммарная доза 240 мг/кг) привело к временному снижению массы тела животных в первые недели, что свидетельствует о нарушении углеводного обмена и мобилизации жировых и белковых запасов для поддержания энергетического баланса в организме [23]. Аналогичное снижение массы тела мышей наблюдали Ленников А. и др. при введении животным пяти последовательных инъекций СТЗ в дозе 40 мг/кг [31]. При этом масса тела животных группы СТЗ-3 (суммарная доза 180 мг/кг) в течение беременности увеличивалась сильнее, чем у контрольных животных, что согласуется с клиническими проявлениями гестационного сахарного диабета у женщин. В подтверждение этому, абсолютная масса висцерального перигонадального жира у животных группы СТЗ-3 через три недели после родов была значительно выше, чем в контрольной группе, что также коррелирует с клинической картиной ГСД у человека. Результаты исследования авторов Attrill E.H. et al. демонстрируют, что введение 200 мг/кг СТЗ (суммарно за 14 дней) приводило к более значительному приросту массы висцерального перигонадального жира у мышей C57BL/6 в сравнении с животными, получавшими 250 мг/кг СТЗ в течение 14 дней [32]. Таким образом, применение более низкой суммарной дозы СТЗ позволяет животным более успешно набирать массу тела за счет увеличения массы перигонадального жира [33].

Животные групп СТЗ-3 и СТЗ-4 в первые сутки содержания на ВЖД потребили значительно больше калорий, чем животные контрольной группы, что может быть связано с повышенной энергетической ценностью и улучшенными вкусовыми характеристиками корма. В дальнейшем статистически значимых различий в количестве потребляемых калорий обнаружено не было. Высокое содержание жиров и наличие глутамата натрия в составе корма, по-видимому, способствовали увеличению потребления воды в течение первых недель содержания животных на ВДЖ, когда уровень глюкозы и масса тела еще не отличались в значительной степени от показателей контрольных животных. В дальнейшем повышенное потребление жидкости у животных в группах СТЗ-3 и СТЗ-4 можно объяснить увеличением уровня глюкозы в крови, которое у больных сахарным диабетом всегда сопровождается полиурией и полидипсией [29].

Таким образом, применение трех инъекций 60 мг/кг СТЗ на фоне ВЖД у мышей C57BL/6 способствует интенсивному набору веса, развитию гипергликемии только во время беременности, а также выраженному повышению AUC в ГТТ в период беременности без негативного влияния на выживаемость потомства и количество новорожденных, что позволяет использовать данную модель метаболических расстройств для тестирования потенциальных сахароснижающих препаратов.

Стоит отметить, что метаболические нарушения только во время беременности были зафиксированы у группы СТЗ-3, в которой мышам C57BL/6 перед беременностью вводили три дозы СТЗ и содержали на ВЖД в течение всего периода наблюдения. Этот вывод подтверждается нормализацией уровня глюкозы в крови и толерантности к глюкозе в ГТТ, а также обратимостью нарушений функции поджелудочной железы на фоне трехкратного введения СТЗ. В то же время, метаболические нарушения у мышей группы СТЗ-4 совершенно не согласуются с классической клинической картиной гестационного сахарного диабета вследствие сохранения устойчивой гипергликемии после родов, повышенной AUC концентрации глюкозы в ГТТ через неделю после родов, а также необратимых нарушений в инкреторном аппарате поджелудочной железы. Наблюдаемые метаболические нарушения у мышей после введения четырех доз СТЗ относятся к развитию персистирующего сахарного диабета.

Одним из ограничений данного эксперимента является относительно небольшой объем выборок. В дальнейших исследованиях для моделирования гестационного сахарного диабета целесообразно включать в группы самок до 30 % дополнительных животных в связи с риском отсутствия беременности у самок и риском потери потомства. Кроме того, для более достоверной оценки метаболических нарушений в исследовании необходимо включить расчет индексов инсулинорезистентности у животных, а также более длительное наблюдение за самками и их потомством. Другое методологическое ограничение исследования состоит в отсутствии измерения уровня инсулина в крови у животных, что не позволяет судить о развитии инсулинорезистентности напрямую. Использование трех доз СТЗ позволяет наблюдать гипергликемию у животных и нарушение толерантности к глюкозе только во время беременности, но не полностью описывает патофизиологическую картину ГСД вследствие отсутствия оценки инсулинорезистентности. Для дальнейшего исследования эффективности перспективных гипогликемических соединений необходимо в последующем определять уровень инсулина в крови у животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существующие методы моделирования гестационного сахарного диабета с применением инъекций стрептозотоцина на фоне высокожировой диеты зачастую ограничиваются наблюдением за животными только в период беременности, не предоставляя данных о метаболических нарушениях у самок после родов. Суммарные дозы СТЗ, используемого для индукции гипергликемии в период беременности, значительно отличаются в опубликованных литературных источниках, кроме того, остается неизвестным, насколько выраженное воздействие он оказывает на самок после родов. В данном исследовании продемонстрировано,

что четырехкратное введение СТЗ (суммарная доза 240 мг/кг) самкам C57BL/6 на фоне ВЖД способствует развитию устойчивой гипергликемии, нарушению толерантности к глюкозе, снижению активности инкреторного аппарата поджелудочной железы, что сохраняется на протяжении всей беременности и в период лактации. Стабильно высокий уровень глюкозы в крови, не снижающийся после беременности, атрофические изменения β -клеток поджелудочной железы, полидипсия, а также тенденция к негативному влиянию четырехкратного введения СТЗ на выживаемость потомства и размер помета являются существенными недостатками данного режима введения и делают его неподходящим для воспроизведения и тестирования фармакологически активных соединений. При этом, трехкратное введение СТЗ (180 мг/кг) приводит к временной гипергликемии у самок в период беременности, однако, как и в случае с ГСД у женщин, эти метаболические изменения являются менее выраженными и практически исчезают через неделю после родов, однако патофизиологическая картина ГСД остается неполной. В связи с этим режим трехкратного введения СТЗ в дозах 60 мг/кг до беременности на фоне содержания животных на ВЖД вызывает гипергликемию у беременных животных и потенциально позволяет исследовать в такой модели эффективность антидиабетических препаратов.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-74-20147-П, <https://rscf.ru/project/21-74-20147/>.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. International Diabetes Federation. *Gestational diabetes*. 2026. URL: <https://idf.org/about-diabetes/gestational-diabetes/> [date of access: July 1, 2026].
2. Росстат. Состояние здоровья беременных, роженниц, родильниц и новорожденных. 2025. [Rosstat. *Health status of pregnant women, women in labor, women in childbirth, and newborns*. 2025. (In Russ.)]. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721> [date of access: July 1, 2026].
3. Загарских Е.Ю., Курашова Н.А. Гестационный сахарный диабет и акушерские осложнения. *Акушерство и гинекология*. 2019; 5: 144–8. [Zagarskikh EYu, Kurashova NA. Gestational diabetes mellitus and obstetric complications. *Obstetrics and gynecology*. 2019; 5: 144–8 (In Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2019.5.144-148
4. Григорян О.Р., Михеев Р.К., Куринова А.Н., Чернова М.О., Сазонова Д.В., Ахматова Р.Р., и др. Сравнительный анализ влияния факторов риска на течение и исходы беременности при гестационном сахарном диабете.

Проблемы Эндокринологии. 2021; 67(3): 78–86. [Grigoryan OR, Mikheev RK, Kurinova AN, Chernova MO, Sazonova DV, Akhmatova RR, et al. Comparative impact analysis of risk factors on the course and outcomes of pregnancy with gestational diabetes mellitus. *Problems of Endocrinology*. 2021; 67(3): 78–86. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl12756

5. Liang C, DeCourcy K, Prater MR. High-saturated-fat diet induces gestational diabetes and placental vasculopathy in C57BL/6 mice. *Metabolism*. 2010; 59(7): 943–50. doi: 10.1016/j.metabol.2009.10.015

6. Wang YW, Yu HR, Tiao MM, Tain YL, Lin IC, Sheen JM, et al. Maternal Obesity Related to High Fat Diet Induces Placenta Remodeling and Gut Microbiome Shaping That Are Responsible for Fetal Liver Lipid Dysmetabolism. *Front. Nutr*. 2021; 8: 736944. doi: 10.3389/fnut.2021.736944

7. Wang J, Dai L, Yu T, Xiao J. Insights into the progressive impact of high-fat-diet induced insulin resistance on skeletal muscle and myocardium: A comprehensive study on C57BL6 mice. *PLoS One*. 2025; 20(1): e0310458. doi: 10.1371/journal.pone.0310458

8. Siersbæk MS, Ditzel N, Hejbøl EK, Præstholm SM, Markussen LK, Avolio F, et al. C57BL/6J substrain differences in response to high-fat diet intervention. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 14052. doi: 10.1038/s41598-020-70765-w

9. Qi Y, Wang X. The Role of Gut Microbiota in High-Fat-Diet-Induced Diabetes: Lessons from Animal Models and Humans. *Nutrients*. 2023; 15(4): 922. doi: 10.3390/nu15040922

10. Takahashi N, Ichii O, Hiraishi M, Namba T, Otani Y, Nakamura T, et al. Phenotypes of streptozotocin-induced gestational diabetes mellitus in mice. *PLoS ONE*. 2024; 19(4): e0302041. doi: 10.1371/journal.pone.0302041

11. Toniolo L, Gazzin S, Rosso N, Giraudo P, Bonazza D, Concato M, et al. Gender Differences in the Impact of a High-Fat, High-Sugar Diet in Skeletal Muscles of Young Female and Male Mice. *Nutrients*. 2024; 16(10): 1467. doi: 10.3390/nu16101467

12. Maric I, Krieger JP, van der Velden P, Borchers S, Asker M, Vujicic M, et al. Sex and Species Differences in the Development of Diet-Induced Obesity and Metabolic Disturbances in Rodents. *Front Nutr*. 2022; 9: 828522. doi: 10.3389/fnut.2022.828522

13. Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, Szűcs G, Attieh Z, Murlasits Z, et al. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *J Diabetes Res*. 2016; 2016: 9051426. doi: 10.1155/2016/9051426

14. Gong L, Jiang S, Tian J, Li Y, Yu W, Zhang L, et al. STZ-induced gestational diabetes exposure alters PTEN/AKT/mTOR-mediated autophagy signaling pathway leading to increase the risk of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Reprod Toxicol*. 2024; 123: 108494. doi: 10.1016/j.reprotox.2023.108494

15. Российская ассоциация эндокринологов, Российское общество акушеров-гинекологов. Клинические рекомендации. Гестационный сахарный диабет. Диагностика, лечение, акушерская тактика, послеродовое наблюдение. 2020: 6–18. [Russian Association of Endocrinologists, Russian Society of Obstetricians and Gynecologists. *Clinical guidelines. Gestational diabetes mellitus. Diagnosis, treatment, obstetric tactics, postpartum care*. 2020: 6–18. (In Russ.)].

16. Abdul Aziz SH, John CM, Mohamed Yusof NI, Nordin M, Ramasamy R, Adam A, et al. Animal Model of Gestational Diabetes Mellitus with Pathophysiological Resemblance to the Human Condition Induced by Multiple Factors (Nutritional, Pharmacological, and Stress) in Rats. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: 9704607. doi: 10.1155/2016/9704607

17. Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS, Gastineau DA, Hiddinga HJ, Jahangir A, et al. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim*. 201; 45(3): 131–40. doi: 10.1258/la.2010.010090

18. Питомник лабораторных животных «Пушино». [“Pushchino” Laboratory Animal Nursery. (In Russ.)]. URL: www.spf-animals.ru. [date of access: March 1, 2026].

19. Mann PC, Vahle J, Keenan CM, Baker JF, Bradley AE, Goodman DG, et al. International Harmonization of Toxicologic Pathology: Nomenclature: An Overview and Review of Basic Principles. *Toxicologic Pathology*. 2012; 40(4): 75–135. doi: 10.1177/0192623312438738

20. Powe CE, Allard C, Battista MC, Doyon M, Bouchard L, Ecker JL, et al. Heterogeneous Contribution of Insulin Sensitivity and Secretion Defects to Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2016; 39(6): 1052–1055. doi: 10.2337/dc15-2672

21. Neven ACH, Mousa A, Boyle JA, Teede HJ. Endocrine and metabolic interactions in healthy pregnancies and hyperinsulinemic pregnancies affected by polycystic ovary syndrome, diabetes and obesity. *Front. Endocrinol*. 2023; 13: 993619. doi: 10.3389/fendo.2022.993619

22. Talbot SR, Heider M, Wirth M, Jörns A, Naujok O. Comparative analysis of dose-response variability and severity in STZ-induced diabetes: female vs. male NSG mice. *Sci Rep*. 2026; 16(1): 8257. doi: 10.1038/s41598-026-42408-z

23. Tol AJC, Hribar K, Kruit J, Bongiovanni L, Vieira-Lara MA, Koster MH, et al. Hyperglycaemia, pregnancy outcomes and maternal metabolic disease risk during pregnancy and lactation in a lean gestational diabetes mouse model. *J Physiol*. 2023; 601(10): 1761–1780. doi: 10.1113/JP284061

24. Соломина А.С., Родина А.В., Качалов К.С., Захаров А.Д., Дурнев А.Д. Оценка перспективы использования модели гестационного сахарного диабета для поиска средств фармакологической коррекции нарушений у потомства крыс. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2023; (2): 45–53. [Solomina AS, Rodina AV, Kachalov KS, Zakharov AD, Durnev AD. Evaluating the prospects of using gestational diabetes mellitus model to find means of pharmacological correction of the disorders in rat offspring. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2023; (2): 45–53. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2023-2-45-53

25. Kim B, Park E-S, Lee J-S, Suh JG. Sex-specific differences in glucose metabolism and pancreatic function in streptozotocin-induced diabetic mice: the protective role of estrogen, *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2025; 775: 152176. doi: 10.1016/j.bbrc.2025.152176

26. Przygodzki T, Kassassir H, Talar M, Siewiera K, Watala C. Effects of three-month streptozotocin-induced dia-

betes in mice on blood platelet reactivity, COX-1 expression and adhesion potential. *Int J Exp Pathol*. 2019; 100(1): 41–48. doi: 10.1111/iep.12298

27. Zamboni F, Cengiz IF, Barbosa AM, Castro AG, Reis RL, Oliveira JM, et al. Towards the Development of a Female Animal Model of T1DM Using Hyaluronic Acid Nano-coated Cell Transplantation: Refinements and Considerations for Future Protocols. *Pharmaceutics*. 2021; 13(11): 1925. doi: 10.3390/pharmaceutics13111925

28. Jo S, Beetch M, Gustafson E, Wong A, Oribamise E, Chung G, et al. Sex Differences in Pancreatic β -Cell Physiology and Glucose Homeostasis in C57BL/6J Mice. *J Endocr Soc*. 2023; 7(9): bvad099. doi: 10.1210/jendso/bvad099

29. Brachs S, Dall M, Zimbalski LK, Santin Y, Oeing C, Mai K, et al. Robust noninvasive detection of hyperglycemia in mouse models of metabolic dysregulation using the novel Urination Index biomarker. *Lab Anim (NY)*. 2025; 54(12): 379–389. doi: 10.1038/s41684-025-01648-8

30. Liu Z, Yu X, Tong C, Qi H. Renal dysfunction in a mouse model of GDM is prevented by metformin through MAPKs. *Mol Med Rep*. 2019; 19(5): 4491–4499. doi: 10.3892/mmr.2019.10060

31. Lennikov A, ElZaridi F, Yang M. Modified streptozotocin-induced diabetic model in rodents. *Animal Model Exp Med*. 2024; 7(5): 777–780. doi: 10.1002/ame2.12497

32. Attrill EH, Scharapow O, Perera S, Mayne S, Sumargo N, Ross RM, et al. Controlled induction of type 2 diabetes in mice using high fat diet and osmotic-mini pump infused streptozotocin. *Sci Rep*. 2025; 15(1): 8812. doi: 10.1038/s41598-025-89162-2

33. Bauer BM, Bhattacharya S, Bloom-Saldana E, Irimia-Dominguez JM, Fueger PT. Dose-dependent progression of multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice. *Physiol Genomics*. 2023; 55(9): 381–391. doi: 10.1152/physiolgenomics.00032.2023

Сведения об авторах

Бороздина Наталья Андреевна – младший научный сотрудник, Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; e-mail: borozdina@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2320-655x>

Горячева Наталья Александровна – младший научный сотрудник, Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; e-mail: goryachevan@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4004-5214>

Слащева Гульсара Амангалиевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; e-mail: slascheva@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4422-487X>

Павлов Владимир Михайлович – младший научный сотрудник, Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; старший преподаватель Пушкинского филиала ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»; e-mail: v.m.pavlov29@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0003-8949-5600>

Попкова Дарья Владимировна – младший научный сотрудник, ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения РАН; e-mail: daria.vladipo@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7463-5653>

Гладких Ирина Николаевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения РАН; e-mail: irinagladkikh@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9668-319X>

Дьяченко Игорь Александрович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Филиал ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; декан БиомедФармТехнологического факультета, Пушкинского филиала ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»; e-mail: dyachenko@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3053-2804>

Information about the authors

Natalya A. Borozdina – junior research fellow, Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; e-mail: borozdina@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2320-655x>

Natalya A. Goryacheva – junior research fellow, Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; e-mail: goryachevan@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4004-5214>

Gulsara A. Slasheva – Cand. Sc. (Biol.), senior research fellow, Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; e-mail: slascheva@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4422-487X>

Vladimir M. Pavlov – junior research fellow, Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; senior lecturer of the Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University (BIOTECH University); e-mail: v.m.pavlov29@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0003-8949-5600>

Daria V. Popkova – junior research fellow, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry; e-mail: daria.vladipo@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7463-5653>

Irina N. Gladkikh – Cand. Sc. (Chem.), senior research fellow, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry; e-mail: irinagladkikh@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9668-319X>

Igor A. Dyachenko – Dr. Sc. (Biol.), principal research fellow, Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; dean of the faculty, Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University (BIOTECH University); e-mail: dyachenko@bibch.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3053-2804>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПРОТОТИПОВ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ЭНДОВАСКУЛЯРНЫХ ЭМБОЛИЗИРУЮЩИХ СПИРАЛЕЙ ИЗ НЕРЖАВЕЮЩЕЙ СТАЛИ С ПОЛИМЕРНЫМИ ВОЛОКНАМИ

**Чепелева Е.В.,
Докучаева А.А.,
Вавер А.А.,
Владимиров С.В.,
Бородин В.П.,
Козырь К.В.,
Бадоян А.Г.,
Баранов А.А.,
Махмудов М.А.,
Крестьянинов О.В.**

ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр
им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава
России (630055, г. Новосибирск,
ул. Речкуновская, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Чепелева Елена Васильевна
e-mail: e_chepeleva@meshalkin.ru

РЕЗЮМЕ

Эндоваскулярные эмболизирующие спирали являются ключевым инструментом для малоинвазивной окклюзии сосудов, однако их широкое применение в отечественной практике ограничено высокой стоимостью и зависимостью от импортных поставок. Разработка отечественных аналогов требует комплексной оценки биосовместимости конструкций, сочетающих металлический каркас с полимерными волокнами.

Цель исследования. Исследование биосовместимости экспериментальных образцов эмболизирующих спиралей из нержавеющей стали с полимерными волокнами (шёлк, полигликолид-ко-лактид, полипропилен, полиэтилентерефталат, поливинилхлорид с сульфатом бария).

Материалы и методы. Образцы спиралей изготавливали методом механической намотки проволоки из нержавеющей стали с последующей ручной фиксацией полимерных волокон в межвитковых пространствах. Гемолитическую активность оценивали по степени гемолиза эритроцитов человека при контакте с экстрактами образцов. Цитотоксичность экспериментальных образцов спиралей с волокнами по отношению к фибробластам человека линии ФЭЧ-16-2 определяли прямым (совместное культивирование) и непрямым (культивирование в экстрактах материала) способами.

Результаты. Все исследованные образцы соответствовали стандартным критериям биосовместимости: уровень гемолиза не превышал допустимых значений (менее 2 %), цитотоксического действия выявлено не было. Наиболее низкие значения гемолиза зафиксированы для спиралей с шёлковыми волокнами ($0,005 \pm 0,004$ %). Образцы с полигликолид-ко-лактидом показали несколько более высокий уровень гемолиза ($1,184 \pm 0,212$ %), что может быть обусловлено гидролитической деградацией полимера с локальным снижением pH.

Заключение. Шёлк, полипропилен, полиэтилентерефталат и рентгеноконтрастные волокна на основе поливинилхлорида с сульфатом бария являются перспективными материалами для создания отечественных эмболизирующих спиралей, сочетающими гемосовместимость и функциональность. Применение полигликолид-ко-лактида требует дополнительной оценки долгосрочной безопасности. Полученные результаты обосновывают дальнейшие доклинические исследования, включая оценку тромбогенности и стабильности фиксации волокон в условиях моделированного кровотока.

Ключевые слова: эмболизация, эндоваскулярные спирали, биосовместимость, гемолитическая активность, цитотоксичность

Статья поступила: 30.03.2026
Статья принята: 14.08.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Чепелева Е.В., Докучаева А.А., Вавер А.А., Владимиров С.В., Бородин В.П., Козырь К.В., Бадоян А.Г., Баранов А.А., Махмудов М.А., Крестьянинов О.В. Оценка биосовместимости экспериментальных прототипов отечественных эндоваскулярных эмболизирующих спиралей из нержавеющей стали с полимерными волокнами. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 240-250. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.24

BIOCOMPATIBILITY ASSESSMENT OF EXPERIMENTAL PROTOTYPES OF RUSSIAN ENDOVASCULAR EMBOLIZATION COILS MADE OF STAINLESS STEEL WITH POLYMER FIBERS

**Chepeleva E.V.,
Dokuchaeva A.A.,
Vaver A.A.,
Vladimirov S.V.,
Borodin V.P.,
Kozyr K.V.,
Badoian A.G.,
Baranov A.A.,
Makhmudov M.A.,
Krestyaninov O.V.**

Meshalkin National Medical Research
Center, Ministry of Health of the Russian
Federation (Rechkunovskaya Str., 15,
Novosibirsk 630055 Russian Federation)

Corresponding author:
Elena V. Chepeleva
e-mail: e_chepeleva@meshalkin.ru

ABSTRACT

Endovascular embolization coils are a key tool for minimally invasive vessel occlusion; however, their widespread use in Russian practice is limited by high cost and dependence on imported supplies. The development of Russian analogues requires a comprehensive assessment of the biocompatibility of designs that combine a metal frame with polymer fibers.

Aim. To evaluate the biocompatibility of experimental prototypes of embolization coils made of stainless steel with polymer fibers (silk, poly(glycolide-co-lactide), polypropylene, polyethylene terephthalate, polyvinyl chloride with barium sulfate).

Materials and Methods. Coil samples were fabricated by mechanical winding of stainless steel wire followed by manual fixation of polymer fibers in the inter-coil spaces. Hemolytic activity was assessed by the degree of hemolysis of human red blood cells upon contact with sample extracts. Cytotoxicity of the experimental coil samples with fibers was evaluated using human fibroblasts of the FEC-16-2 line by direct (co-culture) and indirect (cultivation in material extracts) methods.

Results. All studied samples met standard biocompatibility criteria: the hemolysis level did not exceed acceptable values (less than 2 %), and no cytotoxic effect was detected. The lowest hemolysis values were recorded for coils with silk fibers (0.005 ± 0.004 %). Samples with poly(glycolide-co-lactide) showed a somewhat higher hemolysis level (1.184 ± 0.212 %), which may be attributed to hydrolytic degradation of the polymer with a local decrease in pH.

Conclusion. Silk, polypropylene, polyethylene terephthalate, and radiopaque fibers based on polyvinyl chloride with barium sulfate are promising materials for the development of Russian embolization coils, offering a combination of hemocompatibility and functionality. The use of poly(glycolide-co-lactide) requires additional evaluation of long-term safety. The obtained results justify further preclinical studies, including the assessment of thrombogenicity and stability of fiber fixation under simulated blood flow conditions.

Key words: embolization, endovascular coils, biocompatibility, hemolytic activity, cytotoxicity

Received: 30.03.2026
Accepted: 14.08.2026
Published: 09.10.2026

For citation: Chepeleva E.V., Dokuchaeva A.A., Vaver A.A., Vladimirov S.V., Borodin V.P., Kozyr K.V., Badoian A.G., Baranov A.A., Makhmudov M.A., Krestyaninov O.V. Biocompatibility assessment of experimental prototypes of Russian endovascular embolization coils made of stainless steel with polymer fibers. *Acta biomechanica scientifica*. 2026; 11(4): 240-250. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.24

ВВЕДЕНИЕ

В современной эндоваскулярной хирургии одним из наиболее востребованных инструментов для малоинвазивной окклюзии сосудов являются эмболизирующие спирали, позволяющие достичь селективной облитерации сосудистого русла без необходимости выполнения открытого оперативного вмешательства [1]. По своей конструкции эмболизирующие спирали представляют собой многокомпонентные системы: основу образует сердечник, изготавливаемый, как правило, из платины, вольфрама, хирургической стали или их сплавов, однако могут использоваться и другие биосовместимые металлы с подходящими характеристиками; данный элемент определяет пространственную конфигурацию имплантата, обеспечивает его формоустойчивость после доставки в сосудистое русло и служит гарантией надежной визуализации под рентгеноскопическим контролем на всех этапах вмешательства [2]. Для усиления тромбогенного потенциала на металлическую основу фиксируются эмболизирующие волокна, в качестве которых могут использоваться натуральные (шелк) или синтетические материалы (полиэстер, полилактид) [3]. Благодаря высокой плотности расположения волокон и формированию объёмной сетчатой структуры волокна создают механический каркас, способствующий захвату форменных элементов крови, замедлению локального кровотока и ускорению образования стабильного фибринового сгустка, что сокращает время достижения клинически значимой окклюзии [4].

Несмотря на доказанную высокую эффективность применения эмболизирующих спиралей при лечении аневризм, артериовенозных мальформаций и других сосудистых заболеваний, широкое применение данных изделий в отечественной практике в данный момент сталкивается с существенными ограничениями. Ключевыми проблемами остаются высокая концентрация производства в руках ограниченного числа зарубежных компаний, что создает риски логистической и ценовой

зависимости, а также значительная стоимость конечных изделий, обусловленная как сложностью технологического цикла, так и использованием дорогостоящих материалов [5, 6]. В условиях необходимости обеспечения технологического суверенитета и повышения доступности высокотехнологичной медицинской помощи особую актуальность приобретают разработка отечественных аналогов эмболизирующих спиралей, совершенствование методов их производства и поиск инженерных решений, направленных на снижение себестоимости изделий без потери их функциональных характеристик и безопасности [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью данной работы было исследование биосовместимости эмболизирующих конструкций, состоящих из спиралей, изготовленных из хирургической стали в сочетании с различными полимерными материалами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изготовление экспериментальных образцов спиралей. Исследуемые опытные образцы спиралей изготавливались из проволоки из нержавеющей стали марки AISI 304 (ППК «СТАН», Россия) при помощи приспособления, представляющего собой стальную станину с двумя механически синхронизированными патронами (рис. 1).

Вращение патронов в приспособлении осуществляется путем передачи момента с общего вала, подключенного к внешнему приводу. В патроны жестко закреплялся ровный отрезок проволоки из пружинной стали диаметром 0,4 мм, являющийся сердечником для намотки спирали, после чего патроны разводились в стороны и фиксировались, оставляя сердечник в натянутом состоянии. К одному из концов сердечника

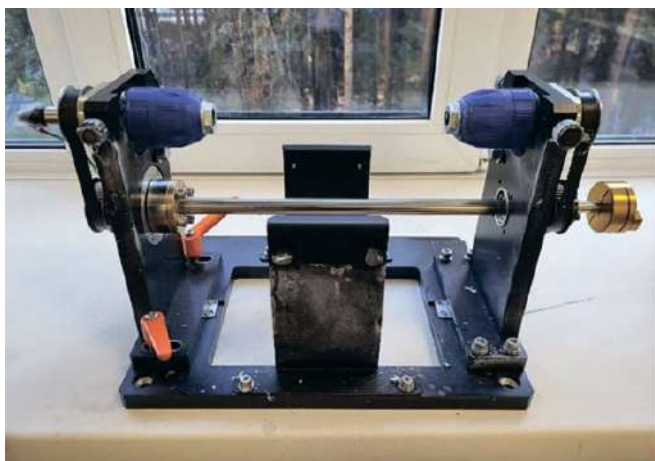


РИС. 1.
Оснастка для намотки прототипов спиралей



FIG. 1.
Winding fixture for coil prototypes

при помощи обжимной гильзы жестко фиксировалась наматываемая проволока диаметром 0,16 мм. Опытные образцы спиралей наматывались с фиксированной частотой вращения 300 оборотов/минуту, равномерное натяжение обеспечивалось подвешиванием груза весом 500 г к свободному концу проволоки. Синхронное перемещение проволоки вдоль оси X осуществлялось вдоль полированного вала и контролировалось вручную для обеспечения нулевого зазора между витками. После окончания намотки спирали длиной 100 мм свободный конец проволоки откусывался, стержень высвобождался из патронов и вытаскивался, закрепленный конец проволоки также откусывался вместе с гильзой и сердечником, острые кромки откусанных кончиков скруглялись вручную при помощи скоростного гравера Dremel 4250 (Dremel®, США).

Крепление полимерных волокон к каркасу спирали осуществлялось методом механической фиксации в межвитковых пространствах (рис. 2). Процесс укладки волокон выполнялся вручную с использованием пинцетов (ПТО «Медтехника», г. Казань, Россия). Спираль предварительно фиксировалась в специализированном держателе Kromatech TE-802 (Кроматек, Россия), обеспечивающем её неподвижность и предотвращающем механическую деформацию в процессе укладки. Контроль обеспечивался с помощью бинокулярной лупы с интегрированной подсветкой, что позволяло визуализировать зону вмешательства с необходимым увеличением и точно позиционировать полимерные волокна в заданных сегментах металлического каркаса. Для проведения исследования было сформировано 6 групп: контрольная (спирали из стали без полимерных компонентов) и экспериментальные — с волокнами из шелка (МедИнж, Россия), полигликоlid-ко-лактида (Medtronic, США), полипропилена (МедИнж, Россия), полиэстера (полиэфирная нить на основе полиэтилентерефталата – лавсан) (Волоть, Россия) и рентгеноконтрастными (из поливинилхлорида с добавлением полиолефина и сульфата бария) волокнами (Jiangyin Most International Trading Co., Китай).

Исследование гемолитической активности. Исследование гемолитической активности экстрактов из образцов стальных спиралей с полимерными волокнами проводили с использованием крови, полученной от трёх условно здоровых доноров, образцы крови от каждого донора анализировались в трех повторностях. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (протокол № 4 от 20.10.2025). Экстракты предварительно были получены выдерживанием тестируемых образцов в физиологическом растворе при 37°C в течение 72 ч согласно ГОСТ ISO 10993-12-2023 [8]. Забор крови осуществляли вакуумной системой (Юнимед, Россия) в пробирки с цитратом натрия в соотношении 1:9 к объёму крови. Для приготовления суспензии эритроцитов кровь центрифугировали при 900 g в течение 10 минут. Надосадочную плазму удаляли, а полученный осадок эритроцитов



РИС. 2.

Крепление полимерных волокон к каркасу прототипа эндоваскулярной спирали

FIG. 2.

Attachment of polymer fibers to the endovascular coil prototype frame

ресуспендировали в 8 мл изотонического раствора хлорида натрия (0,9 %) и повторно центрифугировали в тех же условиях. После второго центрифугирования осадок ресуспендировали в физиологическом растворе для получения 10 % взвеси эритроцитов (1 мл осадка на 9 мл раствора). В пробирки с 0,5 мл 10 % взвеси эритроцитов вносили по 5 мл экстракта из изделия. Отрицательный контроль (0 % гемолиз) готовили путем разведения 0,5 мл 10 % взвеси эритроцитов в 5 мл физиологического раствора. Положительный контроль (100 % гемолиз) получали разведением 0,5 мл 10 % взвеси эритроцитов в 5 мл дистиллированной воды. Контрольные пробы готовили для каждого образца эритроцитарной взвеси. Все пробы (опытные и контрольные) инкубировали в термостате при 37°C в течение 1 часа. После инкубации пробы центрифугировали при 2000 об/мин в течение 20 минут для осаждения нелизированных эритроцитов. Надосадочную жидкость отбирали для последующего измерения оптической плотности. Оптическую плотность измеряли при длине волны 540 нм на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (Экротех, Россия). Степень гемолиза определяли по формуле $((A - A_k) / A_{100}) \times 100 \%$, где A – оптическая плотность экспериментальной пробы; A_k – оптическая плотность контрольной пробы – пробы с физиологическим раствором; A₁₀₀ – оптическая плотность пробы со 100 % гемолизом.

Исследование цитотоксичности. Перед использованием в эксперименте образцы стальных спиралей с полимерными волокнами стерилизовали в автоклаве (Youjo BES-12L-B-LED, Китай) при температуре 121°C, давлении 1,1 атм. в течение 45 мин.

Цитотоксичность конструкций оценивали непрямой методом, исследуя жизнеспособность фибробластов человека линии ФЭЧ-16-2 (коллекция культур

клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора) в экстрактах, полученных выдерживанием тестируемых образцов в культуральной среде DMEM/F12 (Servicebio, Китай) при 37°C во влажной атмосфере с 5 % CO₂ в течение 72 ч согласно ГОСТ ISO 10993-12-2023 [8].

Клетки ФЭЧ-16-2 культивировали в среде DMEM/F12 (Servicebio, Китай) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («ПанЭко», Россия), 100 ЕД/мл пенициллина (Thermo Fisher Scientific, США), 100 ЕД/мл стрептомицина (Thermo Fisher Scientific, США) и 2 ммоль/л L-глутамина («ПанЭко», Россия) при 37°C во влажной атмосфере с 5 % CO₂. Для исследования цитотоксичности экстрактов клетки рассаживали в 96-луночные плоскодонные культуральные планшеты по 20 000 клеток на 200 мкл среды в каждой лунке и инкубировали в течение 24-х часов. Затем среду заменяли на 200 мкл экстракта. После инкубации в экстрактах при 37°C во влажной атмосфере с 5 % CO₂ в течение 24 и 72 ч жизнеспособность клеток измеряли с использованием набора для оценки пролиферации клеток EZcount™ XTT Cell Assay Kit (HiMedia Labs, Индия). Оптическую плотность содержимого лунок измеряли при длине волны 450 нм и референсной длине волны 655 нм с использованием планшетного фотометра iMark (Bio-Rad Laboratories Inc., США). В качестве контроля использовали клетки, культивирующиеся в полной среде DMEM/F12. Число повторностей в каждой группе равнялось 3. Жизнеспособность клеток рассчитывали, как отношение между оптической плотностью в экспериментальных группах и контроле (А) по формуле: Жизнеспособность клеток = (Аэкспериментальная группа/Аконтроль) × 100 %.

Для оценки влияния экспериментальных образцов стальных спиралей в комбинации с полимерными волокнами на морфологию клеток линии ФЭЧ-16-2 в условиях совместного культивирования клетки рассаживали в 24-луночные плоскодонные культуральные планшеты по 50 000 клеток на 1 мл полной культуральной среды DMEM/F12 в каждой лунке и инкубировали в течение 24-х часов при 37°C во влажной атмосфере с 5 % CO₂. Далее в отдельные лунки планшета с клетками помещали стерильные фрагменты спиралей

с волокнами (длина образца спирали составляла 1 см). Морфологию клеток через 24 и 72 ч совместного культивирования с фрагментами спиралей оценивали визуальным методом с помощью микроскопа Nikon Ti-E (Nikon, Япония).

Статистическая обработка. Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для всех сравниваемых групп распределение количественных показателей не противоречило нормальному (достигнутый уровень значимости критерия > 0,05), что позволило использовать методы параметрической статистики. Для выявления различий между группами использовали *t*-критерий Стьюдента, при проведении множественных сравнений применяли поправку Бонферрони. Различия между группами считали достоверными при *p* < 0,05. Количественные данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M ± SD).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе работы были получены опытные образцы эндоваскулярных эмболизирующих спиралей со следующими параметрами: внутренний диаметр спирали 0,4 мм, диаметр намоточной проволоки 0,16 мм, длина навитой части 100 мм. Все образцы характеризовались равномерной плотностью намотки, отсутствием зазоров между витками и сохранением заданной геометрии после снятия натяжения. На рисунке 3 представлены внешний вид изготовленных спиралей после фиксации полимерных волокон. Независимо от типа использованного полимера, механическая фиксация волокон в межвитковых пространствах обеспечивала их стабильное удержание на каркасе без применения дополнительных адгезивов или термической обработки.

Ни один из изготовленных образцов спиралей не продемонстрировал гемолитических свойств, поскольку процент гемолиза во всех пробах составил менее 2 % (согласно ГОСТ ISO 10993-4-2020 [9]) (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1
ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОБРАЗЦОВ
СПИРАЛЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ВОЛОКОН

Тип волокна	Гемолиз эритроцитов человека, %	Кол-во образцов
Контроль (без волокон)	0,020 ± 0,007	9
Шелк	0,005 ± 0,004	9
ПГЛА	1,184 ± 0,212	9
ПП	0,581 ± 0,141	9
ПЭТ	0,061 ± 0,029	9
ПВХ	0,596 ± 0,156	9

Примечание: ПГЛА – полигликолид-ко-лактид; ПП – полипропилен; ПЭТ – полиэтилентерефталат; ПВХ – рентгеноконтрастные волокна из поливинилхлорида с добавлением полиолефина и сульфата бария.

TABLE 1
HEMOLYTIC PROPERTIES OF COIL SAMPLES WITH
DIFFERENT FIBER TYPES

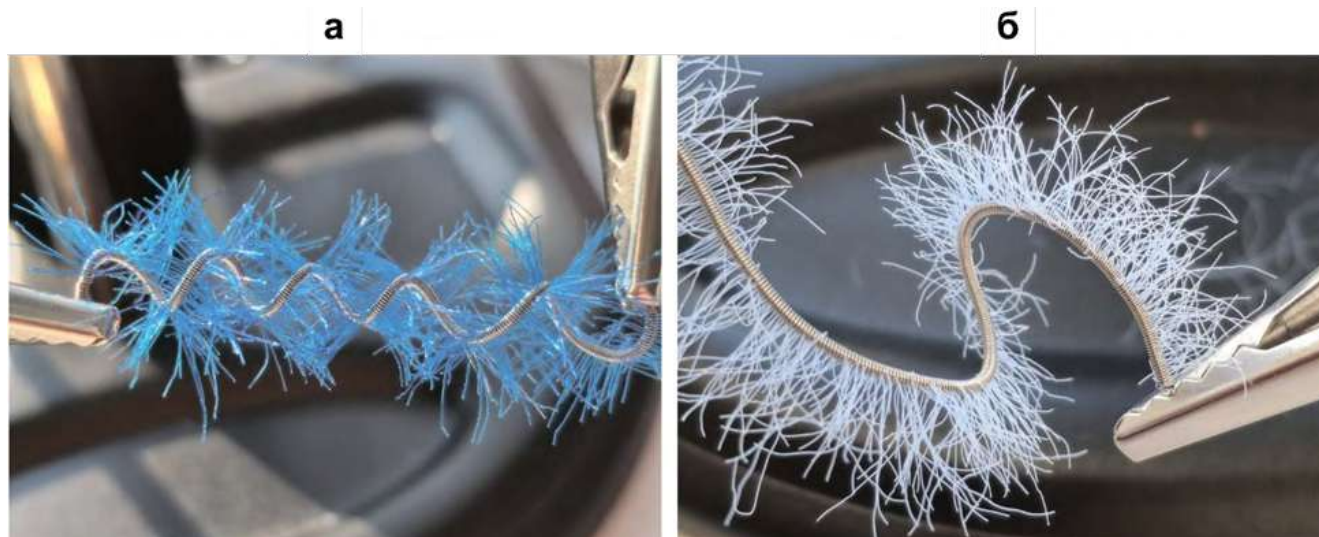


РИС. 3.

Пример экспериментальных образцов спиралей из нержавеющей стали с полимерными волокнами: а – волокна из полипропилена; б – рентгеноконтрастные волокна

FIG. 3.

Examples of experimental stainless steel coil prototypes with polymer fibers: а – polypropylene fibers; б – radiopaque fibers

Для оценки статистической значимости различий между группами провели попарный *t*-критерий Стьюдента для всех шести групп (всего 15 сравнений) с поправкой Бонферрони; критический уровень значимости составил $p < 0,0033$ ($0,05/15$). При попарном сравнении установлено, что все исследованные материалы статистически значимо различаются по уровню гемолитической активности, за исключением пары полипропилен (ПП) и рентгеноконтрастные волокна из поливинилхлорида с добавлением полиолефина и сульфата бария (ПВХ), между которыми различия не достигают уровня значимости ($p = 0,834$).

Наиболее низкий уровень гемолиза зафиксирован для образцов с шёлком ($0,005 \pm 0,004$ %), который достоверно отличается от всех остальных групп: от ПГЛА, ПП, РК – $p < 0,001$, от ПЭТ – $p = 0,000031$. Образцы с ПЭТ ($0,061 \pm 0,029$ %) занимают следующую позицию и также значимо отличаются от всех прочих материалов: от ПГЛА, ПП, РК – $p < 0,001$, от шёлка – $p = 0,000031$. Группы полипропилена ($0,581 \pm 0,141$ %) и рентгеноконтрастных волокон ($0,596 \pm 0,156$ %) показали сопоставимые результаты ($p = 0,834$), однако каждая из них достоверно превосходит по уровню гемолиза шёлк и ПЭТ ($p < 0,001$ для всех пар) и значимо уступает ПГЛА ($p < 0,001$ для обоих сравнений). Самый высокий уровень гемолиза отмечен для ПГЛА ($1,184 \pm 0,212$ %), который статистически значимо превышает показатели всех остальных исследованных групп ($p < 0,001$ для всех попарных сравнений с участием ПГЛА).

Жизнеспособность фибробластов человека линии ФЭЧ-16-2 после культивирования в экстрактах, полученных из образцов в каждой экспериментальной группе, через 24 и 72 часа не отличалась от контрольной группы (рис. 4), таким образом, цитотоксического эффекта в эксперименте выявлено не было.

Также было показано, что экспериментальные образцы спиралей с полимерными волокнами не оказывали влияния на морфологию клеток ФЭЧ-16-2, что согласуется с данными эксперимента, по количественной оценке, цитотоксичности. При микроскопическом анализе через 24 часа совместного культивирования наблюдались отдельные адгезированные клетки, сохранявшие характерную фибробластоподобную морфологию (рис. 5), а к 72 часам во всех экспериментальных группах, включая контроль, сформировался полноценный монослой (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании была проведена оценка биосовместимости экспериментальных образцов эндоваскулярных эмболизирующих спиралей, изготовленных из нержавеющей стали с различными типами полимерных волокон. В качестве источников полимеров использовались волокна, выделенные из пяти типов клинически апробированных хирургических нитей; выбор материалов основывался на критериях биосовместимости, изученности, промышленной и экономической доступности, а также удобстве процессинга.

Натуральный шёлк традиционно применяется в сосудистой хирургии благодаря хорошей биосовместимости и низкой иммуногенности, что подтверждено многочисленными исследованиями *in vitro* и *in vivo* [10]. Уникальная структура фибрина шелка, представленная белковыми фибриллами с вторичной β -складчатой конформацией, обеспечивает механическую прочность и формирует поверхностные свойства, способствующие необходимой адгезии тромбоцитов,

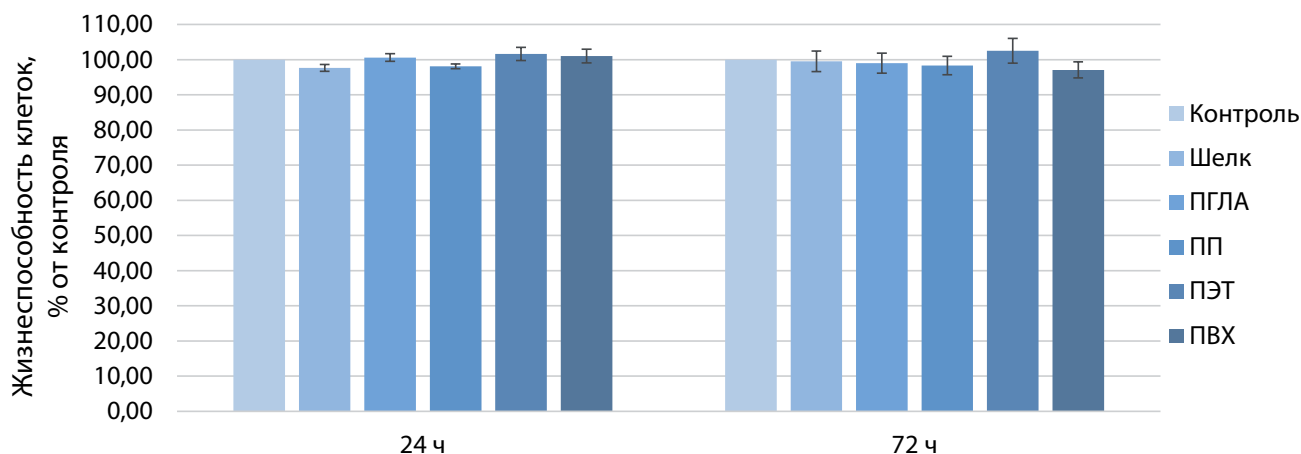


РИС. 4.

Жизнеспособность фибробластов человека линии ФЭЧ-16-2 после культивирования в течение 24 и 72 часов в присутствии экстрактов, полученных из образцов стальных спиралей в сочетании с волокнами из шёлка, полигликолид-ко-лактида (ПГЛА), полипропилена (ПП), полиэтилентерефталата (ПЭТ), поливинилхлорида с добавлением полиолефина и сульфата бария (ПВХ)

FIG. 4.

Viability of human FEC-16-2 fibroblasts after 24 and 72 hours of cultivation in the presence of extracts obtained from steel coil samples combined with fibers of silk, poly(glycolide-co-lactide) (PLGA), polypropylene (PP), polyethylene terephthalate (PET), polyvinyl chloride with the addition of polyolefin and barium sulfate (PVC)

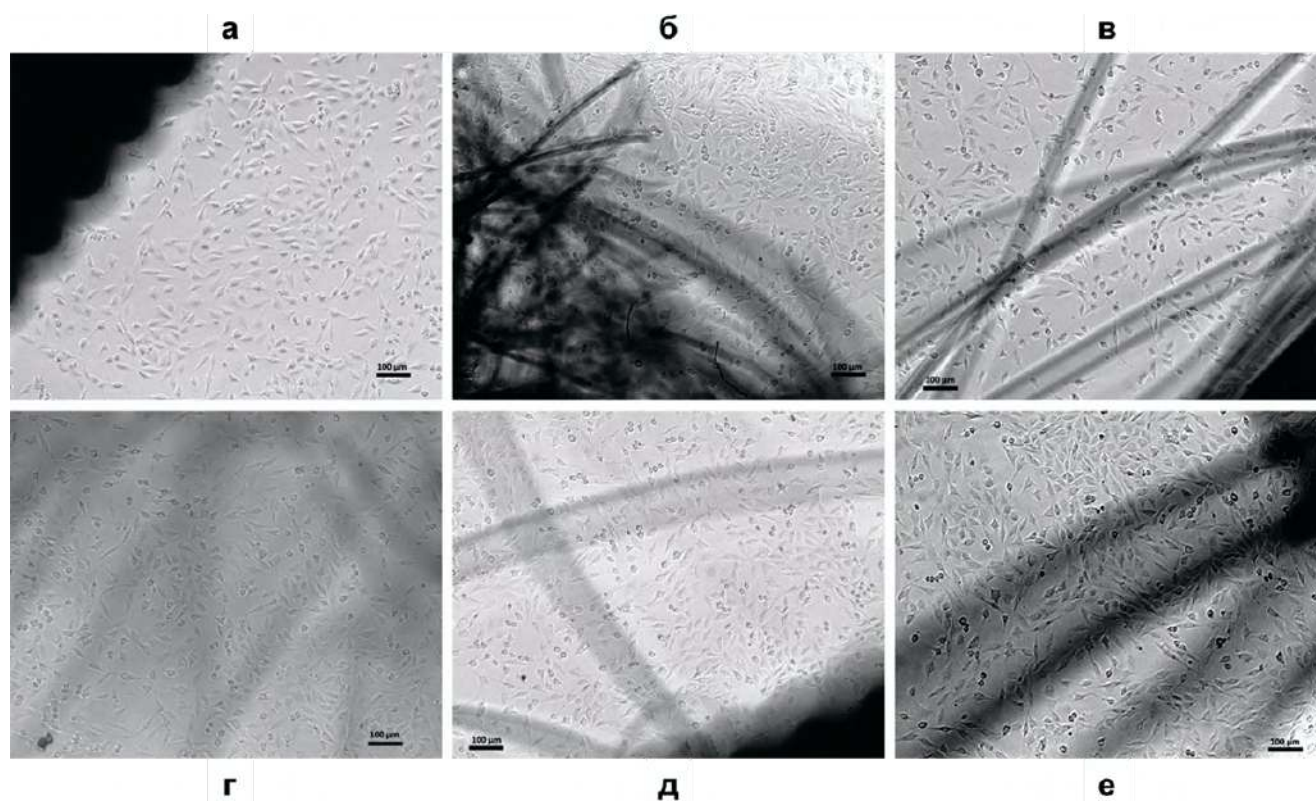


РИС. 5

Морфология клеток линии ФЭЧ-16-2 после культивирования в течение 24-х часов в присутствии фрагментов стальных спиралей в сочетании с полимерными волокнами: а – контрольный образец; б – спираль с волокнами шелка; в – спираль с волокнами из полигликолид-ко-лактида; г – спираль с волокнами из полипропилена; д – спираль с волокнами из полиэтилентерефталата; е – спираль с рентгеноконтрастными волокнами из поливинилхлорида с добавлением полиолефина и сульфата бария. Шкала – 100 мкм

FIG. 5.

Morphology of FEC-16-2 cells after cultivation for 24 hours in the presence of fragments of steel coils combined with polymer fibers: а – control sample; б – coil with silk fibers; в – coil with poly(glycolide-co-lactide) fibers; г – coil with polypropylene fibers; д – coil with polyethylene terephthalate fibers; е – coil with radiopaque fibers of polyvinyl chloride with the addition of polyolefin and barium sulfate. Scale bar – 100 µm

также в отличие от синтетических полиэфиров фиброин не создаёт локального закисления среды при деградации, а продуктами его распада являются аминокислоты, которые могут быть легко и безопасно усвоены организмом человека [10, 11]. Сочетание указанных свойств делает шёлк перспективным материалом для использования в составе эмболизирующих спиралей, где важны как гемосовместимость, так и способность к эффективной тромботической окклюзии. Полипропиленовые нити отличаются высокой жёсткостью, что позволяет сохранять заданную архитектуру волокон после фиксации на спирали [12]. Установлено, что показатели гемолиза для данного материала находятся в диапазоне, характерном для полимеров, применяемых в качестве шовного и сосудистого протезного материала [13], что свидетельствует о его приемлемой гемосовместимости. Полиэфирные материалы на основе полиэтилентерефталата широко применяются в сосудистой хирургии благодаря сбалансированным механическим свойствам, биологической инертности и устойчивости к деградации в условиях сосудистого русла [14], полученные в настоящей работе результаты

подтверждают, что данные волокна обладают уровнем биосовместимости, достаточным для использования в составе эмболизирующих устройств. Особый интерес представляет использование рентгеноконтрастных волокон на основе поливинилхлорида с сульфатом бария. Введение сульфата бария в состав нити позволяет придать волокну рентгеноконтрастные свойства, что открывает возможность отказаться от дорогостоящего платинового сердечника [15]. Гемолитическая активность таких волокон не превышала значений, характерных для полипропилена и полиэстера, а цитотоксическое действие отсутствовало. Таким образом, данный подход может рассматриваться как перспективное направление снижения себестоимости эмболизирующих систем, хотя окончательное суждение о функциональной эффективности требует дополнительной оценки рентгеноконтрастности в условиях, приближенных к клиническим.

На фоне перечисленных материалов несколько обособленно выглядят спирали с волокнами из полигликолид-ко-лактида (ПГЛА). Для этой группы отмечены несколько более высокие значения гемолиза, однако

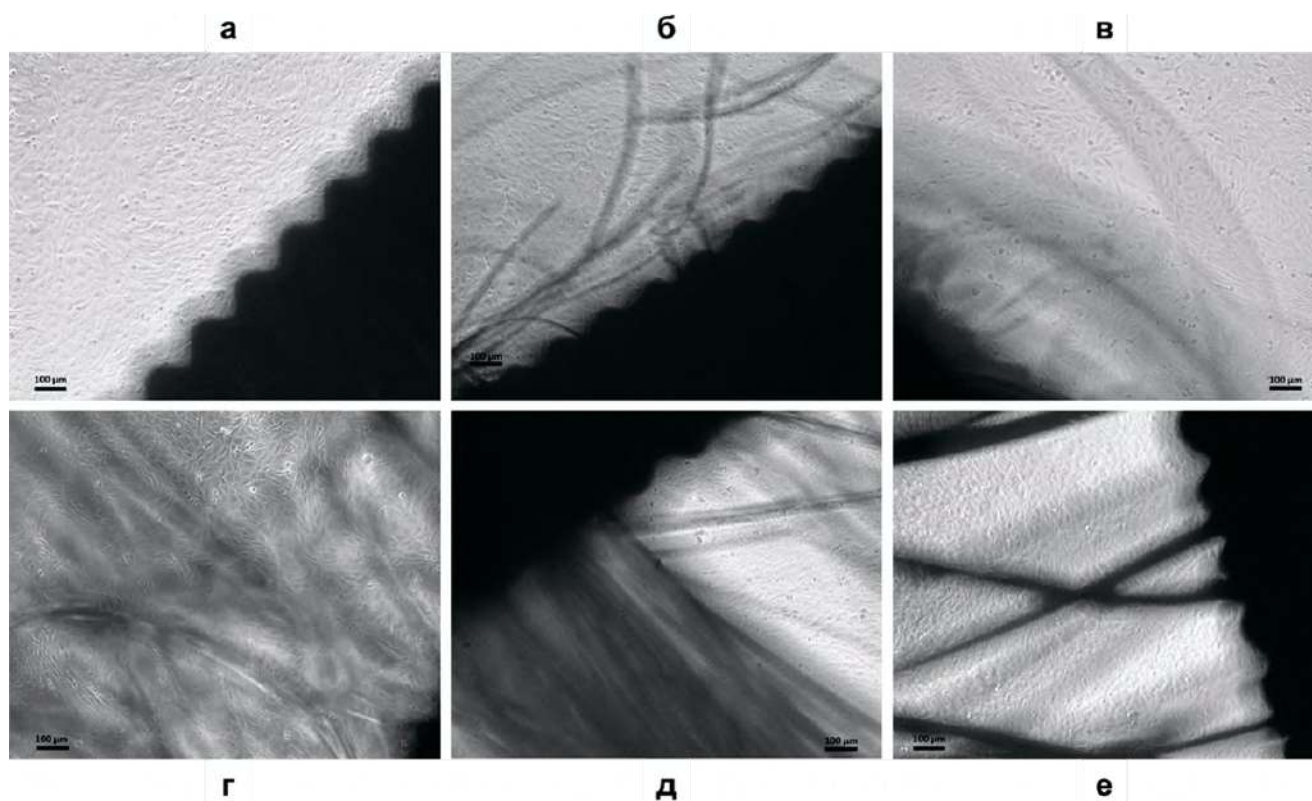


РИС. 6

Морфология клеток линии ФЭЧ-16-2 после культивирования в течение 72-х часов в присутствии фрагментов стальных спиралей в сочетании с полимерными волокнами: а – контрольный образец; б – спираль с волокнами шелка; в – спираль с волокнами из полигликолид-ко-лактида; г – спираль с волокнами из полипропилена; д – спираль с волокнами из полиэтилентерефталата; е – спираль с рентгеноконтрастными волокнами из поливинилхлорида с добавлением полиолефина и сульфата бария. Шкала – 100 мкм

FIG. 6.

Morphology of FEC-16-2 cells after cultivation for 72 hours in the presence of fragments of steel coils combined with polymer fibers: a – control sample; б – coil with silk fibers; в – coil with poly(glycolide-co-lactide) fibers; г – coil with polypropylene fibers; д – coil with polyethylene terephthalate fibers; е – coil with radiopaque fibers of polyvinyl chloride with the addition of polyolefin and barium sulfate. Scale bar – 100 µm

они оставались в пределах допустимого уровня. Этот синтетический полиэфир способен к гидролитической деградации с образованием молочной и гликолевой кислот, что сопровождается локальным снижением pH [16]. Кислая среда, создаваемая в непосредственной близости от волокон, может оказывать повреждающее действие на мембраны эритроцитов, что, вероятно, объясняет наблюдаемое смещение показателей. При этом в 72-часовом эксперименте при сокультивировании с фибробластами человека цитотоксического действия ПГЛА выявлено не было, что, по-видимому, связано с недостаточным временем накопления продуктов деградации до концентраций, способных ингибировать пролиферацию клеток. Данный результат указывает на необходимость дифференцированного подхода к оценке биосовместимости биоразлагаемых полимеров: краткосрочные тесты могут не отражать потенциальные риски, связанные с долгосрочной деградацией.

Таким образом, все исследованные полимеры, будучи изначально разработанными для имплантации, подтвердили свою биосовместимость. Наблюдаемые различия в гемолитической активности не выходили за пределы допустимых значений и, по-видимому, определяются физико-химическими свойствами материалов (гидрофильностью, способностью к деградации и особенностями микроструктуры волокон). Полученные результаты позволяют рассматривать шёлк, полипропилен, полиэстер на основе полиэтилентерефталата и рентгеноконтрастные волокна на основе поливинилхлорида с сульфатом бария как перспективные компоненты для создания отечественных эмболизирующих спиралей, тогда как применение ПГЛА требует более длительных наблюдений для оценки безопасности в условиях биодеградации.

При интерпретации полученных результатов необходимо учитывать ряд ограничений, связанных с дизайном исследования. Использованный метод механической фиксации волокон, хотя и позволяет избежать применения дополнительных адгезивов, нуждается в дальнейшей стандартизации для обеспечения воспроизводимости. Кроме того, изготовление прототипов спиралей выполнено из нержавеющей стали AISI 304 как наиболее доступного и технологичного материала на этапе отработки конструкции, в дальнейшем планируется переход на традиционно применяемые в эмболизирующих устройствах металлы, что требует дополнительной оценки биосовместимости и функциональных характеристик. Оценка гемолитической активности проведена на ограниченной выборке (три донора с тремя повторными измерениями), что не в полной мере учитывает индивидуальную вариабельность человеческой крови. Все эксперименты выполнены в статических условиях *in vitro*, которые не воспроизводят гемодинамические факторы (пульсирующий кровоток, сдвиговые напряжения), способные влиять на взаимодействие материалов с форменными элементами крови. Окончательное суждение о функциональной эффективности разработанных конструкций потребует дополнительных экспериментов,

включая оценку рентгеноконтрастности в условиях, приближенных к клиническим, и подтверждение стабильности фиксации волокон при гемодинамических нагрузках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе были изготовлены экспериментальные образцы эмболизирующих спиралей из нержавеющей стали с различными полимерными волокнами (шёлк, полигликолид-ко-лактид, полипропилен, полиэтилентерефталат, поливинилхлорид с сульфатом бария). С учетом выявленных статистически значимых различий при попарном сравнении, наиболее предпочтительным материалом с наилучшим гемолитическим профилем следует признать шёлк, показавший минимальный уровень гемолиза, статистически значимо отличающийся от всех остальных полимеров. Полиэтилентерефталат (ПЭТ) занимает промежуточное положение, достоверно уступая шёлку, но превосходя полипропилен, рентгеноконтрастные волокна и ПГЛА. Полипропилен и рентгеноконтрастные волокна на основе ПВХ с сульфатом бария статистически сопоставимы между собой и могут рассматриваться как равноценные альтернативы, однако уступают шёлку и ПЭТ по гемосовместимости. Применение биоразлагаемого ПГЛА, несмотря на допустимый уровень гемолиза (< 2 %), ассоциировано с наиболее высокими показателями, статистически значимо превышающими все остальные материалы, что требует осторожности и дополнительных длительных наблюдений при его использовании в эмболизирующих устройствах.

Перспективы дальнейших исследований включают оценку тромбогенности и стабильности фиксации волокон в условиях моделированного кровотока, проведение экспериментов *in vivo* для подтверждения эффективности эмболизации и долгосрочной биосовместимости, а также оптимизацию технологического процесса укладки волокон для повышения воспроизводимости и стандартизации конечного продукта. Реализация этих направлений позволит приблизиться к созданию конкурентоспособных отечественных эмболизирующих спиралей, соответствующих мировым стандартам качества и безопасности.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках проекта Российского Научного Фонда № 25-15-00480.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Oka S, Kohno S, Arizono S, Onishi Y, Fumimoto M, Yoshida A, et al. Enhancing precision in vascular embo-

lization: evaluating the effectiveness of the intentional early detachment technique with detachable coils in complex cases. *CVIR Endovasc.* 2024; 7(1): 40. doi: 10.1186/s42155-024-00453-7

2. Lim CJ, Shahin Y. Emerging Techniques and Treatment Outcomes in Pulmonary Arteriovenous Malformations Embolisation: A Narrative Review. *J Clin Med.* 2025; 14(23): 8455. doi: 10.3390/jcm14238455

3. Lauzier DC, Huguenard AL, Srien AL, Cler SJ, Osbun JW, Chatterjee AR, et al. A review of technological innovations leading to modern endovascular brain aneurysm treatment. *Front Neurol.* 2023; 14: 1156887. doi: 10.3389/fneur.2023.1156887

4. Xiao N, Lewandowski RJ. Embolic agents: coils. *Semin Intervent Radiol.* 2022; 39(1): 113–118. doi: 10.1055/s-0041-1740939

5. Абдикеев Н.М. Реализация планов по импортозамещению в высокотехнологичных отраслях отечественной промышленности в условиях внешних санкций. *Научные труды Вольного экономического общества России.* 2022; (3): 202–214. [Abdikееv NM. Implementation of import substitution plans in high-tech sectors of the domestic industry in the face of external sanctions. *Nauchnye trudy Vol'nogo ekonomicheskogo obshchestva Rossii.* 2022; (3): 202–214. (In Russ.).] doi: 10.38197/2072-2060-2022-235-3-202-214

6. Макаренко Е.Д. Механизмы продвижения российского медицинского оборудования на внутреннем рынке. *Финансовые рынки и банки.* 2024; (3): 24–29. [Makarenko ED. Mechanisms for promoting Russian medical equipment on the domestic market. *Finansovye rynki i banki.* 2024; (3): 24–29. (In Russ.).] doi: 10.24412/2658-3917-2024-3-24-29

7. Наход В.И., Кривенко А.Н., Буткова Т.В. Имплантируемые медицинские изделия: обзор рынка. *Здоровье мегаполиса.* 2024; 5(4): 209–216. [Nakhod VI, Krivenko AN, Butkova TV. Market Review for Implantable Medical Devices. *City Healthcare.* 2024; 5(4): 209–216. (In Russ.).] doi: 10.47619/2713-2617.zm.2024.v.5i4p1;209-116

8. ГОСТ ISO 10993-12-2023. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Отбор и подготовка образцов для проведения исследований. М.: Стандартинформ; 2023. 20 с. [GOST ISO 10993-12-2023. Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 12. Sample preparation and reference materials. Moscow: Standartinform; 2023. 20 p. (In Russ.).]

9. ГОСТ ISO 10993-4-2020. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 4. Исследования изделий, взаимодействующих с кровью. М.: Стандартинформ; 2020. 28 с. [GOST ISO 10993-4-2020. Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 4. Selection of tests for interactions with blood. Moscow: Standartinform; 2020. 28 p. (In Russ.).]

10. Yu Y, Wang J. Recent advances and challenges in silk fibroin-based small-caliber vascular grafts: A review. *Int J Biol Macromol.* 2025; 322(Pt 3): 146930. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.146930

11. Агапова О.И. Биоинженерные конструкции на основе фиброина шелка и спидроина для регенеративной медицины и тканевой инженерии (обзор). *Современные технологии в медицине.* 2017; 9(2): 190–206. [Agapova OI. Silk Fibroin and Spidroin Bioengineering Constructions for Regenerative Medicine and Tissue Engineering (Review). *Sovremennyye tekhnologii v meditsine.* 2017; 9(2): 190-206. (In Russ.).] doi: 10.17691/stm2017.9.2.24

12. Taysi NM, Erten Taysi A, Ercal P, Sismanoglu S. Mechanical Performance of Nonabsorbable Monofilament Suture Materials Tied with Different Suturing Techniques Under Various Knot Configurations: An In Vitro Study. *J Funct Biomater.* 2025; 16(12): 428. doi: 10.3390/jfb16120428

13. Horakova J, Mikes P, Saman A, Svarcova T, Jencova V, Suchy T, et al. Comprehensive assessment of electrospun scaffolds hemocompatibility. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2018; 82: 330–335. doi: 10.1016/j.msec.2017.05.011

14. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д., Короткова Н.В., Никифоров А.А., Суров И.Ю., и др. Сравнение цитотоксичности синтетических сосудистых протезов *in vitro*. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.* 2020; 28(2): 183–192. [Kalinin RE, Suchkov IA, Mzhavanadze ND, Korotkova NV, Nikiforov AA, Surov IYu, et al. Comparison of cytotoxicity of synthetic vascular prostheses *in vitro*. *I.P. Pavlov russian medical biological herald.* 2020; 28(2): 183–192. (In Russ.).] doi: 10.23888/PAV-LOVJ2020282183-192

15. Polaskova M, Sedlacek T, Polasek Z, Filip P. Modification of Polyvinyl Chloride Composites for Radiographic Detection of Polyvinyl Chloride Retained Surgical Items. *Polymers (Basel).* 2023; 15(3): 587. doi: 10.3390/polym15030587

16. Omidian H, Wilson RL. PLGA Implants for Controlled Drug Delivery and Regenerative Medicine: Advances, Challenges, and Clinical Potential. *Pharmaceuticals.* 2025; 18(5): 631. doi: 10.3390/ph18050631

Сведения об авторах

Чепелева Елена Васильевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии Института экспериментальной биологии и медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: e_chepeleva@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0715-4451>

Докучаева Анна Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии Института экспериментальной биологии и медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: a_dokuchaeva@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3260-6491>

Вавер Андрей Александрович – младший научный сотрудник лаборатории биопротезирования Института экспериментальной биологии и медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: vaver_a@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4545-3970>

Владимиров Сергей Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории биопротезирования Института экспериментальной биологии и медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: vladimirov_s@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5902-1442>

Бородин Всеволод Павлович – инженер лаборатории биопротезирования Института экспериментальной биологии и медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: borodin_v@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0009-0009-1725-0499>

Козыр Константин Викторович – младший научный сотрудник лаборатории биопротезирования Института экспериментальной биологии и медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: kozyr_k@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7470-2158>

Бадоян Арам Гозоевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-исследовательского отдела эндоваскулярной хирургии Института патологии кровообращения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: badoian_a@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4480-2585>

Баранов Алексей Алексеевич – научный сотрудник научно-исследовательского отдела эндоваскулярной хирургии Института патологии кровообращения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: baranov_a@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2320-2233>

Махмудов Мамуржон Али Угли – врач по рентгенэндоваскулярной диагностике и лечению ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: makhmudov_m@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7627-4890>

Крестьянинов Олег Викторович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела эндоваскулярной хирургии Института патологии кровообращения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России; e-mail: o_krestyaninov@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5214-8996>

Information about the authors

Elena V. Chepeleva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Researcher at the Laboratory of Experimental Surgery and Morphology, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: e_chepeleva@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0715-4451>

Anna A. Dokuchaeva – junior researcher at the Laboratory of Experimental Surgery and Morphology, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: a_dokuchaeva@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3260-6491>

Andrey A. Vaver – junior researcher at the Laboratory of Bioprosthetics, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: vaver_a@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4545-3970>

Sergey V. Vladimirov – junior researcher at the Laboratory of Bioprosthetics, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: vladimirov_s@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5902-1442>

Vsevolod P. Borodin – engineer at the Laboratory of Bioprosthetics, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: borodin_v@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0009-0009-1725-0499>

Konstantin V. Kozyr – junior researcher at the Laboratory of Bioprosthetics, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: kozyr_k@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7470-2158>

Aram G. Badoian – Cand. Sc. (Med.), researcher at the Research Department of Endovascular Surgery, Institute of Circulation Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: badoian_a@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4480-2585>

Aleksey A. Baranov – researcher at the Research Department of Endovascular Surgery, Institute of Circulation Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: baranov_a@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2320-2233>

Mamurjon A. Makhmudov – endovascular surgeon, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: makhmudov_m@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7627-4890>

Oleg V. Krestyaninov – Dr.Sc. (Med.), professor, leading researcher at the Research Department of Endovascular Surgery, Institute of Circulation Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: o_krestyaninov@meshalkin.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5214-8996>

Статья опубликована в рамках VII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ», 22–24 июня 2026 г.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ТРИПСИН КАК ИНДУКТОР АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* И ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЕЁ РЕАЛИЗАЦИИ

Галак И.Р.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная
медицинская академия» Минздрава
России, (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Галак Иван Русланович
e-mail: vanojan989@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Сериновые протеазы являются наиболее многочисленным каталитическим типом протеолитических ферментов и выполняют в организме разнообразные функции. Они участвуют в процессе пищеварения, являются факторами свёртывания крови, компонентами комплемента и калликреин-кининовой системы и т.д. Наиболее изученным представителем сериновых протеаз является трипсин. Известно, что при некоторых патологических процессах и состояниях, таких как панкреатит и панкреонекроз, трипсин попадает в системный кровоток. Это чревато развитием тромбозов и тромбозмболий, однако механизмы этих нарушений на сегодняшний день изучены недостаточно. Одним из механизмов, предположительно, может быть трипсин-опосредованная активация тромбоцитов с последующей их агрегацией.

Цель исследования. Изучить возможность трипсина индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*.

Методы. Эксперименты проведены на богатой тромбоцитами плазме, полученной от 22 относительно здоровых добровольцев. Методом оптической агрегатометрии исследовали агрегацию тромбоцитов трипсином в конечных концентрациях 0,5, 1, 2,5, 5 и 10 μM . На следующем этапе регистрировали трипсин-индуцированную агрегацию тромбоцитов в дефицитной по протромбину плазме.

Результаты. Трипсин способен индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*. Минимальный эффект был отмечен при добавлении 2,5 μM . Внесение в тромбоцитарную плазму 5 и 10 μM трипсина индуцировало выраженную и необратимую агрегацию тромбоцитов. Трипсин-индуцированная агрегация реализуется как в гепаринизированной, так и в дефицитной по факторам протромбинового комплекса плазме.

Выводы. В ходе исследования выявлены проагрегантные эффекты трипсина, которые являются самостоятельными и могут быть реализованы без участия тромбина.

Ключевые слова: трипсин, тромбоциты, сериновые протеазы, рецепторы, активируемые протеазами

Статья поступила: 08.04.2026
Статья принята: 15.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Галак И.Р. Трипсин как индуктор агрегации тромбоцитов в эксперименте *in vitro* и предположительные механизмы её реализации. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 251-259. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.25

TRYPSIN AS AN INDUCER OF PLATELET AGGREGATION IN AN *IN VITRO* EXPERIMENT AND ITS PUTATIVE MECHANISMS

Galak I.R.

Chita State Medical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation (Gorky Str., 39a, Chita 672000, Russian Federation)

Corresponding author:

Ivan. R. Galak

e-mail: vanojan989@gmail.com

ABSTRACT

Introduction. Serine proteases are the most numerous catalytic type of proteolytic enzymes and perform a variety of functions in the body. They participate in digestion, act as blood clotting factors, are components of complement and the kallikrein-kinin system, among others. Trypsin is the most studied serine protease. It is known that in certain pathological processes and conditions, such as pancreatitis and pancreatic necrosis, trypsin enters the systemic circulation. This can lead to the development of thrombosis and thromboembolism, but the mechanisms underlying these disorders remain poorly understood. One possible mechanism may be trypsin-mediated platelet activation followed by aggregation.

Aim. To investigate the ability of trypsin to induce platelet aggregation *in vitro*.

Methods. Experiments were conducted on platelet-rich plasma obtained from 22 relatively healthy volunteers. Platelet aggregation by trypsin at final concentrations of 0.5, 1, 2.5, 5, and 10 μM was studied using optical aggregometry. Trypsin-induced platelet aggregation was then recorded in prothrombin-deficient plasma.

Results. Trypsin is capable of inducing platelet aggregation *in vitro*. The minimal effect was observed with the addition of 2.5 μM . Addition of 5 and 10 μM trypsin to platelet plasma induced pronounced and irreversible platelet aggregation. Trypsin-induced aggregation occurs in both heparinized plasma and plasma deficient in prothrombin complex factors.

Conclusion. The study revealed proaggregatory effects of trypsin that are thrombin-independent and can occur without its participation.

Keywords: trypsin, platelets, serine proteases, protease-activated receptors

Received: 08.04.2026

Accepted: 15.09.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Galak I.R. Trypsin as an inducer of platelet aggregation in an *in vitro* experiment and its putative mechanisms. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 251-259. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.25

ОБОСНОВАНИЕ

Трипсин (ЕС 3.4.21.4) — сериновая эндопептидаза с молекулярной массой ~24 кДа [1, 2], катализирующая гидролиз пептидных связей, образованными карбоксильной группой аргинина или лизина [3].

Его главная физиологическая функция заключается в гидролизе пептидных связей белков в процессе пищеварения. Существует ряд заболеваний, сопровождающиеся попаданием трипсина в кровоток, например, острый панкреатит и панкреонекроз. Кроме того, трипсин участвует в пролиферации и метастазировании солидных злокачественных новообразований, включая рак яичников, толстой кишки, простаты и др. [4–7]. Трипсин является эволюционным предшественником большого количества ферментов, которые называют трипсиноподобными протеазами [8]. Они являются ключевыми участниками многих процессов как в норме, так и при патологии. Сюда можно отнести систему гемостаза, фибринолитическую, калликреин-кининовую системы, комплемент и многие другие [8]. Кузник Б.И. и соавт. (2023 г.) предполагают, что трипсин, концентрация которого резко возрастает при сепсисе, шоках различной этиологии и т.д., может индуцировать агрегацию тромбоцитов и свёртывание крови, что приводит к развитию массивных тромбозов [9].

Главная эффекторная сериновая протеаза системы гемостаза – тромбин – фермент, обладающий двойной трипсиновой и химотрипсиновой специфичностью. Тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин, активирует фактор XIII, который способствует стабилизации фибрина путём формирования поперечных сшивок. Кроме того, тромбин является самым мощным эндогенным индуктором агрегации тромбоцитов. Трипсин, как и тромбин, катализирует гидролиз пептидных связей, образованными аргинином и лизином. Исходя из этих данных возникает предположение, что трипсин, как и тромбин, способен активировать тромбоциты и индуцировать их агрегацию.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить возможность трипсина индуцировать агрегацию тромбоцитов в эксперименте *in vitro*.

МЕТОДЫ

В исследовании использовали богатую тромбоцитами плазму (Platelet Rich Plasma, PRP), полученную от 22 относительно здоровых добровольцев. В работе также использовались кристаллический трипсин (ООО «Самсон-Мед»), ингибитор трипсина из сои (ООО «ПанЭко»), раствор гепарина 5000 МЕ/мл (ООО «Велфарм»), реагенты для определения тромбинового времени (ТВ), протромбинового времени (ПВ), активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), фибриногена (ООО «Лабораторные решения»),

дефицитная по протромбину плазма (Helena Biosciences), фосфатно-солевой буферный раствор с pH 7.4 (PBS), трис-HCl буфер с pH 7.4, сульфат бария, синтезированный в нашей лаборатории из хлорида бария и сульфата аммония.

Получение богатой и бедной тромбоцитами плазмы. Цитратную кровь центрифугировали при 1500 об/мин в течение 7 минут, после чего снимали 2/3 объёма богатой тромбоцитами плазмы (PRP, Platelet Rich Plasma). После чего, эту же кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут, отбирали обеднённую тромбоцитами плазму (PPP, Platelet Poor Plasma).

Исследование проагрегантных свойств трипсина. К богатой тромбоцитами плазме ($n = 8$) добавляли раствор трипсина в PBS в конечных концентрациях 0,5, 1, 2,5, 5 и 10 μM . В качестве контроля отсутствия индуцированной агрегации к PRP добавляли эквивалентный объём PBS, регистрируя спонтанную агрегацию. Так как трипсин способен активировать протромбин, его внесение в плазму приводит к её свёртыванию в кювете, что делает регистрацию агрегатограммы невозможной. По этой причине, в плазму предварительно добавляли раствор гепарина в конечной концентрации ~150 МЕ/мл, что исключало свёртывание, но не отменяло агрегацию тромбоцитов. Чтобы доказать действие непосредственно трипсина, а не присутствующих примесей, записывали агрегатограммы с аналогичными концентрациями трипсина, но с предварительным добавлением в него ингибитора трипсина из сои в конечной концентрации 1 мг/мл ($n = 5$).

Синтез сульфата бария. Для получения BaSO_4 использовали 36,4 г. дигидрата хлорида бария ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и 20 г. сульфата аммония $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$. К раствору BaCl_2 по каплям добавляли раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при постоянном перемешивании. После полного смешивания растворов реагентов, реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа. По истечению времени, полученный осадок оставляли на ночь, после чего сливали надосадочную жидкость и промывали осадок дистиллированной водой. Процедуру промывки осуществляли до прекращения обнаружения хлорида аммония в надосадочной жидкости. Осадок фильтровали на воронке Бюхнера под вакуумом с дополнительной промывкой. Полученный осадок сушили при комнатной температуре до полного высыхания. Высушенный осадок измельчали в ступке, хранили в плотно закрытой стеклянной таре. Выход конечного продукта составил 27,9 г. (~80 % от теории).

Получение деплетированной по факторам протромбинового комплекса плазмы. Так как трипсин участвует в генерации тромбина, даже небольшие его количества могут индуцировать агрегацию тромбоцитов в гепаринизированной плазме. Для этого, на следующем этапе, получали деплетированную по факторам протромбинового комплекса плазму. Часть порции бедной тромбоцитами плазмы инкубировали с сульфатом бария (200 мг/мл) в термостате при 37°C в течение 40 минут для адсорбции факторов

протромбинового комплекса, по истечению времени, плазму центрифугировали 10 минут при 3000 оборотах в минуту для осаждения сульфата бария. В полученной плазме определяли такие параметры как ПВ, АПТВ, ТВ, фибриноген по Клаусу, а также активность FII методом Сулье–Ларье. Идея состояла в том, чтобы осадить тромбоциты и провести замену плазмы на аутологичную деплетированную с последующим ресуспендированием тромбоцитов в ней. Параллельно центрифугировали еще один образец PRP, после чего ресуспендировали тромбоциты не меняя плазму (для соблюдения одинаковых условий пробоподготовки). В эту пробу перед агрегатометрией добавляли гепарин и параллельно исследовали в тех же условиях в качестве контрольного образца.

Регистрация агрегации тромбоцитов. Запись агрегатограмм проводилась по методу G. Born and J. O'Brien на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов АЛАТ2 (ООО НПФ «БИОЛА»). Калибровку проводили по стандартной методике. В кювету агрегометра добавляли 270 μ l PRP с последующей инкубацией при 37°C в течение 3 минут. По истечении времени, кювету помещали в измерительную ячейку агрегометра и начинали запись. На 30-ой секунде добавляли 30 μ l предварительно разведённого буфером трипсина. Время записи в каждом эксперименте составляло 5 минут. По окончании записи регистрировали следующие параметры:

1. максимальное светопропускание (%);
2. максимальный наклон кривой светопропускания (%/мин);
3. максимальное значение среднего радиуса агрегатов (отн.ед.);

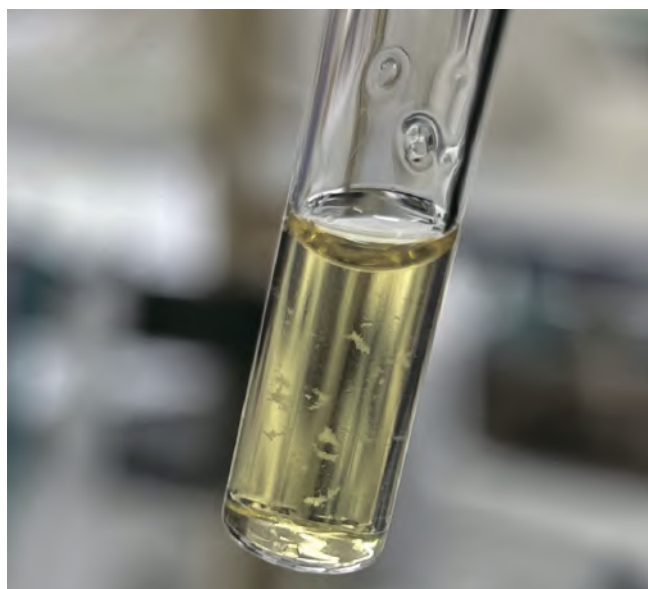


РИС. 1.
Агрегаты тромбоцитов в плазме после внесения трипсина (10 μ M)

FIG. 1.
Platelet aggregates in plasma following the addition of trypsin (10 μ M)

4. максимальный наклон г-кривой (отн.ед/мин).

Этические аспекты. Проведение исследования одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России (24.11.2025 г., протокол № 132). Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Хельсинской декларации. У всех добровольцев было взято письменное информированное добровольное согласие.

Статистическая обработка данных. Анализ полученных данных проводили с помощью программ Jamovi 2.7.6 и OriginPro 2024. Ввиду небольшого количества добровольцев, результаты представлены как медиана, первый и третий квартили (Me ([Q1-Q3])). На первом этапе использовали критерий Фридмана. Так как данный тест показал наличие значимых различий, на следующем этапе проводили попарные сравнения Дарбина – Коновера. Для сравнения результатов, полученных в опытах с дефицитной по протромбину плазмой, использовали парный тест Уилкоксона. Статистически значимые различия принимали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведённых экспериментов отмечено, что трипсин дозозависимо стимулирует агрегацию тромбоцитов (табл. 1).

В нашем случае, минимальная концентрация трипсина, которая приводит к статистически значимому увеличению всех параметров (кроме максимального светопропускания) составила 2,5 μ M. Добавление трипсина в концентрациях 5 и 10 μ M приводит к выраженной и необратимой агрегации тромбоцитов. После извлечения кюветы из прибора, в плазме визуализируются агрегаты тромбоцитов (рис. 1). Внесение трипсина в концентрациях 5 и 10 μ M приводит к увеличению максимального светопропускания в ~15 и в ~19 раз соответственно относительно PBS. Максимальное значение среднего радиуса агрегатов увеличивается приблизительно в 5,5 раз относительно буфера.

Предварительное внесение соевого ингибитора к трипсину полностью блокирует проагрегантный эффект трипсина (рис. 2).

Это подтверждает доводы о том, что проагрегантное действие обусловлено именно трипсином, а не какими-либо примесями.

Агрегация тромбоцитов после внесения трипсина может быть следствием генерации тромбина, так как трипсин способен активировать протромбин [9]. Даже несмотря на то, что в плазму добавлялся гепарин, совсем небольшие концентрации образующегося тромбина могут стимулировать агрегацию посредством активации высокоаффинных рецепторов PAR-1. Для подтверждения или опровержения выше сказанного, на следующем этапе была исследована трипсин-индуцированная агрегация в аутологичной дефицитной по факторам протромбинового комплекса плазме, в частности по протромбину. Её коагуляционные свойства отображены в таблице 2.

Добавление трипсина к дефицитной плазме также приводило к выраженному увеличению светопропускания и среднего радиуса агрегатов.

Отмечено, что в присутствии гепарина максимальное светопропускание и максимальный наклон кривой были несколько выше относительно дефицитной плазмы. Возможно, это связано с прямым действием гепарина на тромбоциты, например, посредством активации PEAR-1 (platelet endothelial aggregation receptor 1,

рецептор агрегации тромбоцитов и эндотелия 1) [10], что могло привести к повышению этих параметров. Статистически-значимой разницы по максимальному значению среднего радиуса агрегатов и максимальному наклону R-кривой не выявлено (рис. 3).

Обсуждение. Полученные результаты говорят о том, что трипсин способен индуцировать агрегацию тромбоцитов как в гепаринизированной, так и в дефицитной по факторам протромбинового комплекса плазме.

ТАБЛИЦА 1

ПАРАМЕТРЫ КРИВЫХ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ВНЕСЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТРИПСИНА В PRP, ME [Q1; Q3]

TABLE 1

PARAMETERS OF PLATELET AGGREGATION CURVES UPON ADDITION OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF TRYPSIN TO PRP, ME [Q1; Q3]

Параметр агрегатограммы	PBS (n=8)	Try 0,5 µM (n=8)	Try 1 µM (n=8)	Try 2,5 µM (n=8)	Try 5 µM (n=8)	Try 10 µM (n=8)
Максимальное светопропускание, %	3,88 [3,47;4,86]	5,82 [3,85;6,64] $p_1=0,09$	3,37 [2,19;5,25] $p_1=0,3$ $p_2=0,008$	4,01 [3,15;9,46] $p_1=0,8$ $p_2=0,1$ $p_3=0,2$	59,5 [31,6;80,0] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$	72,7 [69,7;82,3] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$ $p_5=0,1$
Максимальный наклон кривой светопропускания%/мин	1,42 [1,31;1,61]	2,13 [1,1;2,43] $p_1=0,4$	1,15 [1,02;1,9] $p_1=0,2$ $p_2=0,06$	2,88 [2,11;5,08] $p_1=0,02$ $p_2=0,1$ $p_3=0,001$	38,1 [21,5;52,1] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,001$	47,0 [43,1;54,8] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$ $p_5=0,03$
Максимальное значение среднего радиуса агрегатов, отн.ед	2,24 [1,94;2,56]	2,4 [2,21;2,56] $p_1=0,6$	2,21 [1,98;2,88] $p_1=0,8$ $p_2=0,4$	3,09 [2,42;6,71] $p_1=0,006$ $p_2=0,02$ $p_3=0,003$	12,3 [10,6;14,0] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,002$	12,1 [10,9;14,4] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$ $p_5=0,8$
Максимальный наклон R-кривой	0,17 [0,08;0,28]	0,28 [0,12;0,4] $p_1=0,1$	0,26 [0,12;0,38] $p_1=0,3$ $p_2=0,6$	1,02 [0,67;2,97] $p_1<0,001$ $p_2=0,003$ $p_3<0,001$	5,54 [2,98;7,85] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,002$	4,72 [3,62;5,99] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,009$ $p_5=0,6$

Примечания: p_1 – уровень значимости по сравнению с PBS, p_2 – уровень значимости по сравнению с 0,5 µM трипсина, p_3 – уровень значимости по сравнению с 1 µM трипсина, p_4 – уровень значимости по сравнению с 2,5 µM трипсина, p_5 – уровень значимости по сравнению с 5 µM трипсина

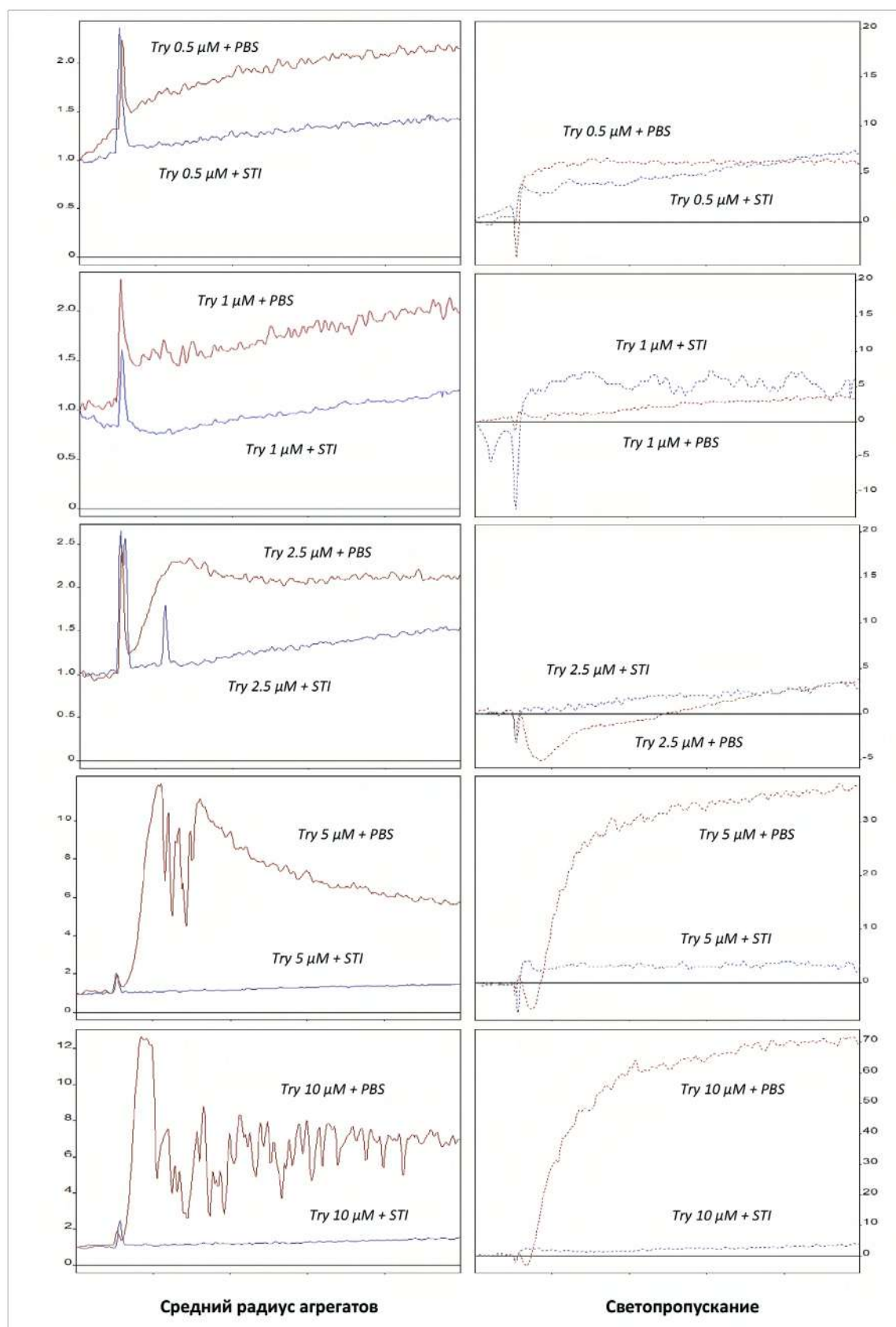
ТАБЛИЦА 2

ИЗМЕНЕНИЕ КОАГУЛЯЦИОННЫХ СВОЙСТВ БЕДНОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ С BASO4 (200 МГ/МЛ, 40 МИНУТ ПРИ 37°C), ME [Q1; Q3]

TABLE 2

CHANGES IN THE COAGULATION PROPERTIES OF PLATELET-POOR PLASMA AFTER INCUBATION WITH BASO4 (200 MG/ML, 40 MINUTES AT 37°C), ME [Q1; Q3]

Исследуемый параметр	До инкубации с BaSO ₄ (n=14)	После инкубации с BaSO ₄ (n=14)
ПВ, сек	12,4 [12,1; 13,1]	Нет свёртывания
АПТВ, сек	41,7 [38,5; 43,6]	Нет свёртывания
ТВ, сек	18,2 [17,4; 18,5]	18,85 [18,2; 18,9]
Фибриноген, г/л	2,25 [2,2; 2,6]	2,3 [2,2; 2,7]
Активность FII, %	108,5 [90,1; 133]	~1



Примечание: PBS – фосфатно-солевой буферный раствор, STI – соевый ингибитор трипсина. Представлены репрезентативные кривые для 5 экспериментов.
Note. PBS – phosphate-buffered saline, STI – soybean trypsin inhibitor. Representative curves for 5 experiments are shown.

РИС. 2.
 Предварительное добавление соевого ингибитора к трипсину полностью блокирует его проагрегантное действие

FIG. 2.
 Preincubation of trypsin with soybean trypsin inhibitor completely blocks its proaggregatory effect

Непосредственное участие тромбина для реализации трипсин-индуцированной агрегации не является обязательным, трипсин способен самостоятельно активировать тромбоциты и стимулировать их агрегацию.

Возможный механизм трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Механизмом трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов, предположительно, является активация PAR-4 (Protease Activated Receptor-4). На поверхности тромбоцитов человека имеется два типа PAR: PAR-1 и PAR-4. (рис. 4.) PAR-1 является высокоаффинным рецептором тромбина, за счёт наличия гирудин-подобного домена. Его активация осуществляется путём гидролиза пептидной связи Arg41-Ser42, что приводит к раскрытию «закрытого» лиганда. За счёт наличия гирудин-подобного домена, PAR-1 способен реагировать на тромбин в самых низких концентрациях. PAR-4, в отличие от PAR-1, не содержит высокоаффинный гирудин-подобный домен, вследствие чего он активируется тромбином в более высоких дозах. Однако интересен тот факт, что его активация может быть осуществлена трипсином. Активация PAR-4 осуществляется за счёт протеолиза связи Arg47-Gly48, кроме того, данная пептидная связь является точкой приложения как для тромбина, так и для трипсина [11, 12].

После расщепления вышеописанной связи, происходит раскрытие последовательности Gly-Tyr-Pro-Gly-Gln-Val, которая выступает в роли лиганда. Далее происходит его связывание со второй внеклеточной петлей (ExtraCellular Loop-2, ECL-2) рецептора, что приводит к изменению его конформации. Конформационные изменения активированного PAR-4 приводит к последующей трансдукции сигнала через Gq и $G_{12/13}$ белки. Дальнейшая внутриклеточная сигнализация способствует активации фосфолипазы C, накоплению инозитолтрифосфата и, как следствие, выраженной мобилизации цитоплазматического Ca^{2+} . Образующийся в ходе расщепления фосфолипидов фосфолипазой C диацилглицерол способствует активации протеинкиназы C, которая катализирует фосфорилирование киназы лёгких цепей миозина в присутствии Ca^{2+} , способствуя активации сократительных белков тромбоцитов. Все вышеуказанные механизмы приводят к изменению формы тромбоцитов и секреции гранул с последующей агрегацией.

Наши догадки подтверждаются исследованием, опубликованным Webb E.M., et al. в 2025 году [13]. Они продемонстрировали, что точкой приложения трипсина на тромбоцитах является только PAR-4. При его активации трипсином, запускаются внутриклеточные

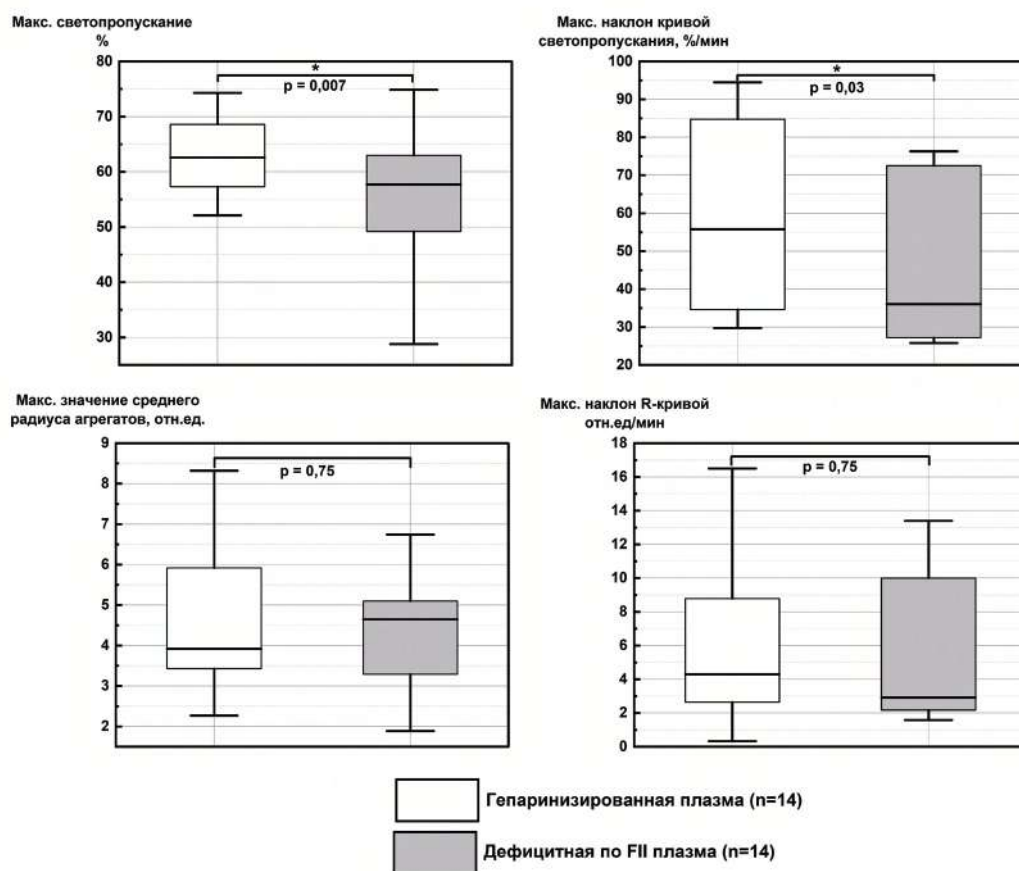


РИС. 3. Параметры кривой светопропускания и R-кривой в гепаринизированной и дефицитной по FII плазме после внесения трипсина в конечной концентрации 10 мкМ, Ме [Q1; Q3]

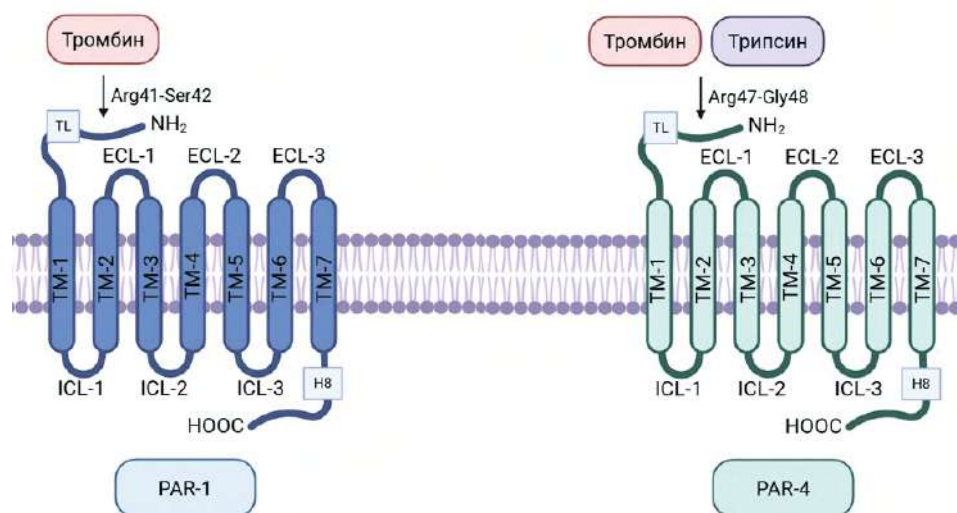
FIG. 3. Parameters of the light transmission curve and R-curve in heparinized and FII-deficient plasma after the addition of trypsin at a final concentration of 10 μ M, Me [Q1; Q3]

сигнальные пути, активируемые белками Gq и $G_{12/13}$ [13]. Более того, авторы заявляют, что активация тромбоцитов трипсином осуществляется не менее эффективно, чем альфа-тромбином. Можно сказать, что трипсин способен активировать тромбоциты косвенно, путём активации протромбина, так и прямо – воздействуя на PAR-4 (рис. 5). Следует обратить внимание, что рассматриваемый механизм активации тромбоцитарного PAR-4 трипсином основан лишь на данных литературы, а собственное экспериментальное

подтверждение описываемого пути активации на данный момент отсутствует.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты данного исследования показывают, что трипсин способен индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*, а участие тромбина в данном процессе не является обязательным. Это исследование может



Примечание: ECL – внеклеточная петля, ICL – внутриклеточная петля, TM – трансмембранный домен, TL – связанный лиганд, H8 – восьмая спираль.
Note. ECL – extracellular loop, ICL – intracellular loop, TM – transmembrane domain, TL – tethered ligand, H8 – 8-th helix.

РИС. 4.

Сравнительная характеристика механизмов активации рецепторов PAR-1 и PAR-4 по данным Peach C.J., et al. (2023) [11]

FIG. 4.

Comparison of the activation mechanisms of PAR-1 and PAR-4 receptors according to Peach C.J., et al. (2023) [11]

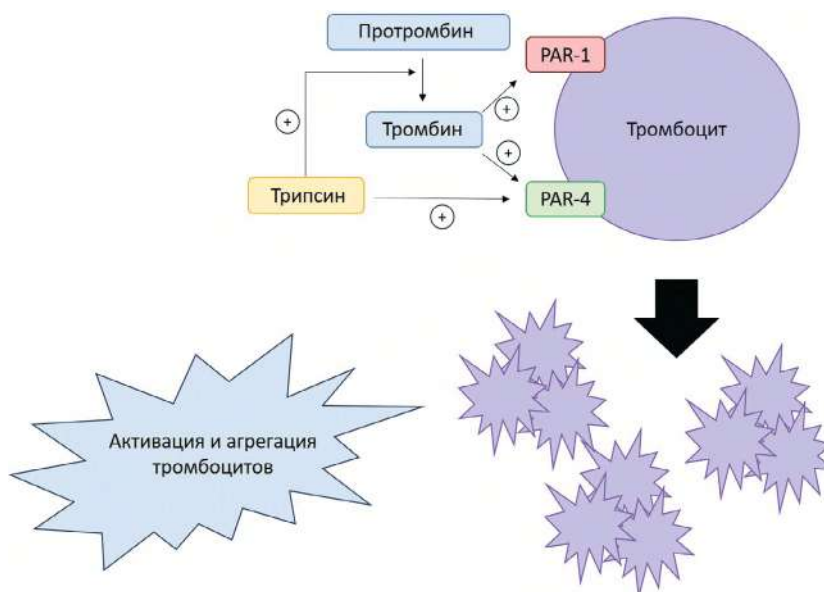


РИС. 5.

Прямой и опосредованный через тромбин механизмы трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов

FIG. 5.

Direct and thrombin-mediated mechanisms of trypsin-induced platelet aggregation

быть полезным в дальнейшем изучении патофизиологических механизмов тромботических и тромбоэмболических осложнений у пациентов с панкреатитом и панкреонекрозом. Несмотря на то, что трипсин один из наиболее изученных ферментов, данных о его влиянии на систему гемостаза *in vivo* на сегодняшний день недостаточно. Кроме того, было бы интересно оценить влияние и других протеолитических ферментов поджелудочной железы на гемостаз. В дальнейшем, данные ферменты могут стать точкой приложения для новых лекарственных препаратов. Ограничением данного исследования является тот факт, что в работе с тромбоцитами человека использовался бычий трипсин, что не позволяет в полной мере экстраполировать полученные результаты на взаимодействие тромбоцитов человека и трипсина. Это должно быть учтено в последующих исследованиях. Механизм активации PAR-4 тромбоцитов трипсином описан в данной работе лишь на основании литературных данных. Кроме того, на сегодняшний день нет информации о влиянии трипсина на тромбоциты *in vivo*. Дальнейшие исследования должны быть направлены на более детальное раскрытие механизма трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов и реализации проагрегантного эффекта в условиях *in vivo*.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Famutimi OG, et al. Trypsin, chymotrypsin and elastase in health and disease. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024; 10: 126. doi: 10.1186/s43094-024-00709-y
2. Зинкевич О.Д., Сафина Н.А., Чикаев В.Ф., и др. Протеолитические ферменты мочи и сыворотки крови у больных острым панкреатитом. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; (11): 86–91. [Zinkevich OD, Safina NA, Chikaev VF, et al. Proteolytic enzymes in urine and blood serum in patients with acute pancreatitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017; (11): 86–91. (In Russ.)].
3. Mousseau CB, et al. Quenching trypsin is unnecessary in filter-based bottom-up proteomics. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2024; 35(8): 2028–2031. doi: 10.1021/jasms.4c00143
4. Liu SH, et al. The expression and significance of protease activated receptor 2 in ovarian epithelial carcinoma. *ZhonghuaZhongliuzazhi[Chinese Journal of Oncology]*. 2023; 45(1): 64–73. doi: 10.3760/cma.j.cn112152-20211214-00928
5. Koistinen H, et al. The roles of proteases in prostate cancer. *IUBMB life*. 2023; 75(6): 493–513. doi: 10.1002/iub.2700
6. Strong AA, Buzza MS, Antalis TM. Protease-Activated Receptor-2 Promotes Metastasis: An Emerging Therapeutic Target. *Molecular Cancer Research*. 2026; 24(4): 207–220. doi: 10.1158/1541-7786.mcr-25-0788
7. Vetvicka D, et al. Proteinase-activated receptor 2: springboard of tumors. *Anticancer Research*. 2024; 44(1): 1–12. doi: 10.21873/anticancer.16782
8. Anitua E, Prado R, Padilla S. Evolutionary insight into immunothrombosis as a healing mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(15): 8346. doi: 10.3390/ijms23158346
9. Кузник Б.И., Ройтман Е.В., Цыбиков Н.Н. и др. Полипотентные механизмы регуляции системы гемостаза и тромбообразования при COVID-19. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2023; 2: 67–89. [Kuznik BI, Roitman EV, Tsybikov NN, et al. Pluripotent mechanisms for regulation of hemostasis and thrombogenesis in COVID-19. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2023; (2): 67–89. (In Russ.)].
10. Peach CJ, et al. Protease-activated receptors in health and disease. *Physiological Reviews*. 2023; 103(1): 717–785. doi: 10.1152/physrev.00044.2021
11. Kardeby C, et al. Heparin and heparin proteoglycan-mimetics activate platelets via PEAR1 and PI3K β . *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2023; 21(1): 101–116. doi: 10.1016/j.jth.2022.10.008
12. Zhao P, Metcalf M, Bunnett NW. Biased Signaling of Protease-Activated Receptors. *Front. Endocrinol*. 2014; 5: 67. doi: 10.3389/fendo.2014.00067
13. Webb EM, Seymour K, Hamm HE. Trypsin Activates Human Platelets via Proteolytic Cleavage of Protease-Activated Receptor 4. *Thrombosis and Haemostasis*. 2025. doi: 10.1055/a-2747-9083

Сведения об авторах

Галак Иван Русланович – аспирант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vanojan989@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-9085-169X>

Information about the authors

Ivan R. Galak – postgraduate student of the Department of Pathological Physiology, Chita State Medical Academy; e-mail: vanojan989@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-9085-169X>

СПИСОК ОПЕЧАТОК ERRATUM

ERRATUM: СОЛОМАТИНА М.В., КАЗАЧКОВА Е.А., ШАРШОВ К.А., ГЛУЩЕНКО А.В, ШЕСТОПАЛОВ А.М. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЦИРКУЛЯЦИИ ПАРАМИКСОВИРУСОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ ДИКИХ ПТИЦ НА ТЕРРИТОРИИ КОНТИНЕНТАЛЬНОЙ ЕВРАЗИИ. ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA. 2026; 11(3): 47-56. DOI: 10.29413/ABS.2026-11.3.6

ERRATUM: SOLOMATINA M.V., KAZACHOVA E.A., SHARSHOV K.A., ALEKSEEV A. YU., SHESTOPALOV A.M. ECOLOGICAL ASPECTS OF PARAMYXOVIRUS CIRCULATION IN WILD BIRD POPULATIONS ON THE TERRITORY OF CONTINENTAL EURASIA. ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA. 2026; 11(3): 47-56. DOI: 10.29413/ABS.2026-11.3.6

Doi оригинальной статьи: <https://doi.org/10.29413/ABS.2026-11.3.6>

Erratum Doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2026-11.4.26>

Настоящим информируем читателей о том, что в статью Соломатина М.В., Казачкова Е.А., Шаршов К.А., Глущенко А.В, Шестопалов А.М «Экологические аспекты циркуляции парамиксовирусов в популяциях диких птиц на территории континентальной Евразии», опубликованную в том 11 № 3 (2026) журнала «Acta biomedica scientifica» (с. 47-56. <https://doi.org/10.29413/ABS.2026-11.3.6>) / Solomatina M.V., Kazachova E.A., Sharshov K.A., Alekseev A.Yu., Shestopalov A.M. Ecological aspects of paramyxovirus circulation in wild bird populations on the territory of continental Eurasia. Acta biomedica scientifica. 2026; 11(3): 47-56. doi: 10.29413/ABS.2026-11.3.6 по просьбе авторов статьи внесены изменения в разделы «Affiliation» и «For citation».

Affiliation

Solomatina M.V., Kazachova E.A., Sharshov K.A., **Glushchenko A.V.**, Shestopalov A.M. Institute of Virology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Timakov str., 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation)

For citation

Solomatina M.V., Kazachova E.A., Sharshov K.A., **Glushchenko A.V.**, Shestopalov A.M. Ecological aspects of paramyxovirus circulation in wild bird populations on the territory of continental Eurasia. Acta biomedica scientifica. 2026; 11(3): 47-56. doi: 10.29413/ABS.2026-11.3.6

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 02.10.2026.
Подписано в печать 06.10.2026, дата выхода в свет 09.10.2026.
Печ. л. 33,25. Усл. печ. л. 32,75. Уч. изд. л. 32,62. Зак.№4810. Тир. 500.

Отпечатано в в типографии ООО «Репроцентр+».
Адрес типографии: 664043, Иркутск, ул.Сергеева 3/1
Тел. +7 (3952) 540-940. E-mail: 540940a1@mail.ru

