

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 7
№ 5-2
2022



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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

TOM 7
Nº 5-2
2022

Главный редактор

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

Зам. главного редактора

Рычкова Л.В., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)

Сороковиков В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Шуко 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)

Гржебовский 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)

Сычёв Д.А., академик РАН (РФ, Москва)

Хавинсон В.Х., академик РАН (РФ, Санкт-Петербург)

Шпрах В.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

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); Белокриницкая 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); Ковров Г.В., д.м.н. (РФ, Москва); Колесов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); 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); Огарков О.Б., д.м.н. (РФ, Иркутск); Осипова Е.В., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Петрова А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Плеханов А.Н., д.м.н. (РФ, Улан-Удэ); 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); 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 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, Бескундниковский б-р, д. 59А).

Журнал включён в Реферативный журнал и базу данных ВИНИТИ. 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. 7
N 5-2
2022

Chief Editor

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

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)
Sorokovikov V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
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 RAS (Russia, Irkutsk)
Grzhibovskii A.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Arkhangelsk)
Kolesnikova L.I., Member of 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)
Sychev D.A., Member of RAS (Russia, Moscow)
Khavinson V.Kh., Member of RAS (Russia, Saint Petersburg)
Shprakh V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
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); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Chita); Bokhan N.A., Member of 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 RAS (Russia, Tomsk); Kovrov G.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kolosov V.P., Member of RAS (Russia, Blagoveshchensk); Konstantinov Yu.M., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Krivoshapkin A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Kudlay D.A., Corresponding Member of 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 RAS (Russia, Krasnoyarsk); Ogarkov O.B., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Osipova E.V., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Petrova A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Plekhanov A.N., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Ulan-Ude); Pogodina A.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Protopopova N.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Savchenkov M.F., Member of RAS (Russia, Irkutsk); Suturina 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); Khokhlov A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Yaroslavl); Epshtein O.I., Corresponding Member of 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

Tel. (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 (Print) 2541-9420

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 5-2 (2022)

Колесников
Сергей Иванович
академик РАН

Уважаемые читатели!

Рад видеть Вас за прочтением второго тома № 5 нашего журнала.

Я решил, что уместно в качестве передовых статей номера выделить две фундаментальные работы, связанные с изучением молекулярных механизмов старения эндотелия и формирования кардиомиопатии. Работы выполнены в г. Санкт-Петербурге и г. Москве Д.В. Савицким и соавт. и в г. Томске О.А. Денисенко и соавт. Первая группа учёных доказала, что сиртуины и хемокины играют важную роль в развитии эндотелиальной дисфункции при естественном и индуцированном старении. Второй коллектив исследователей на клиническом материале продемонстрировал, что в патогенезе ишемической кардиомиопатии цитокины и HIF-1 α являются факторами дисрегуляции миграции и дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов, что открывает возможность влияния на эти процессы.

Заранее прошу прощения, что я анализирую работы не по порядку следования в номере, а группируя их по сходству подходов или объекта изучения.

Прежде всего – о как будто постепенно уходящем на второй план COVID-19. Однако сейчас наступает пора тщательного анализа адекватности медицинских вмешательств, оценки медицинских и социально-экономических последствий заболевания. Наряду с постковидным синдромом стало очевидным, что COVID-19 повлиял на резистентность организма человека к инфекциям, и всё чаще наблюдаются микст-инфекции, в том числе – и особенно – у детей. Так, в США резко возросла заболеваемость микст-инфекцией гриппа, респираторно-синцитиального вируса и коронавируса.

Поэтому стоит обратить внимание на статьи данного номера, посвящённые коронавирусной инфекции. Группа хирургов из г. Иркутска под руководством члена-корреспондента РАН Е.Г. Григорьева приводит редкий случай спасения жизни при абдоминальном сепсисе и панкреонекрозе у рожильницы с COVID-19 после кесарева сечения.

Уникальный случай тройной микст-инфекции (болезнь Лайма, клещевой энцефалит и COVID-19) описан Г.Н. Леоновой и соавт. из г. Владивостока, показавшими, что в этом случае *B. burgdorferi* доминирует в организме, вызывая длительное хроническое течение болезни.

Исследования Т.В. Гома, А.Н. Калягина и О.В. Рыжкова из г. Иркутска свидетельствуют об эффективности применения олокизумаба при COVID-19 пневмонии у тяжёлых пациентов с выраженным воспалительными изменениями и нарушением функции дыхания.

Замыкает серию работ о коронавирусе статья В.В. Герасимова и соавт. из г. Якутска и г. Москвы о перспективности применения нового метода IGRA ELISPOT для оценки Т-клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2. Это особенно важно не только для оценки клеточного иммунитета к SARS-CoV-2, но и для оценки иммунного статуса организма.

К сожалению, не уходит на второй план и ВИЧ-инфекция, с которойчество живёт уже два поколения. Об этом свидетельствует статья Т.Л. Манаенковой и соавт. из г. Иркутска по коморбидной патологии у детей и подростков с перинатальной ВИЧ-инфекцией. Авторы выявили, что у таких детей выше распространённость туберкулёза, анемий, болезней желудочно-кишечного тракта, болезней глаза и его придаточного аппарата, заболеваний нервной системы, психических расстройств и расстройств поведения по сравнению с детьми, не подвергшимися воздействию ВИЧ.

Тематически примыкает к данным работам серия исследований из г. Улан-Удэ двух коллективов авторов – под руководством В.Б. Хобраковой и Я.Г. Разуваевой – по коррекции экспериментального иммунодефицита сухими экстрактами и биологически активными веществами, выделенными из растений. По-видимому, следует ожидать их дальнейший трансфер в реальную практику.

Несколько статей посвящены исследованиям центральной нервной системы. Особенно приятно, что у нас впервые появилась совместная работа белорусских и московских авторов А.М. Майбогина, М.К. Недзьведя, Н.В. Корнева, показавших особенности гистологических изменений головного мозга на терминальных стадиях заболевания печени алкогольной и вирусной этиологии.

В работе О.И. Шевченко и О.Л. Лахмана из г. Ангарска выявлены нейропсихологические признаки при вибрационной болезни, свидетельствующие о неполноценности функционирования лобной и теменной областей левого полушария.

Надеюсь, что у специалистов вызовет интерес работа А.А. Волкова и соавт. из г. Ростова-на-Дону и г. Москвы по новому подходу к комбинированной уретропластике при протяжённых структурах переднего отдела уретры туберкулёзного генеза. Методика перспективна для применения и при структурах иного генеза.

В этом номере А.Е. Медведчиков и соавт. из г. Новосибирска представили разработанную ими и применимую в ЛПУ различного уровня схему диагностики и алгоритмов лечения пациентов с разрывом дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча, а С.С. Смирнов и соавт. из г. Санкт-Петербурга представили результаты исследования разработанной модели нормотрофического ложного сустава большеберцовой кости кролика, которая необходима для дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

Среди фундаментальных исследований с несомненными перспективами трансляции в практику, я бы рекомендовал обратить внимание на статью Л.С. Клюшовой и соавт. из г. Новосибирска, показавших на модели сфероидов HepG2, что комплексы Cu(II) с производными енамина и тетразола на CYP2C и CYP3A обладают цитотоксическими и антиплиферативными свойствами, а комплекс $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{FT})_4]$ можно использовать как основу для создания противоопухолевого соединения.

Для реабилитации пациентов актуально и экспериментальное исследование А.Е. Кима и соавт. из г. Ярославля, г. Москвы и г. Санкт-Петербурга по взаимодействию гипоксии и физической нагрузки.

Данный том журнала также богат обзорами научной литературы по разным аспектам медицины: офтальмологии (Бойко Э.В. и соавт., г. Санкт-Петербург), коморбидности функциональных расстройств кишечника и ожирения и роли микробиома (Клименко Е.С. и соавт., г. Иркутск), стоматологии (Сабирова А.И., Кыргызско-Российский Славянский университет, г. Бишкек), пульмонологии (Чулков В.С. и соавт., г. Челябинск), ортопедии (Карапетян Г.С., Шуйский А.А., г. Москва). Думаю, они найдут заинтересованного читателя.

Для цитирования: Колесников С.И. Предисловие главного редактора к № 5-2 (2022). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.1

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 5-2, 2022

Sergey I. Kolesnikov

Academician of RAS

Dear readers!

I am very glad to see you reading second part of Issue 5 of our journal.

I decided that it is appropriate to name the editorials for the second part of the issue two fundamental works related to the studying the molecular mechanisms of endothelial senescence and the formation of cardiomyopathy. The researches were carried out in Saint Petersburg and Moscow by D.V. Savitskiy et al. and in Tomsk by O.A. Denisenko et al. The first group of scientists proved that sirtuins and chemokines play an important role in the development of endothelial dysfunction in natural and induced senescence. The second group of researchers using clinical material showed that in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy, cytokines and HIF-1 α are the factors for the migration dysregulation and the differentiation of monocytic progenitor cells that opens up the possibility of influencing these processes.

I apologize in advance that I am analyzing the articles not in order, but grouping them by similarity of approaches or studied object.

First let's get back to the topic of COVID-19, which seems to be gradually fading into the background. However, now is the time to carefully analyze the adequacy of medical interventions, to assess the medical and socio-economic consequences of the disease. Along with the post-COVID syndrome, it has become obvious that COVID-19 has affected the resistance of a human body to infections, and mixed infections are increasingly registered in patients recovered from COVID-19 including (and especially) in children. In the USA, the incidence of mixed infection of influenza, respiratory syncytial virus and coronavirus has sharply increased.

Therefore, it is worth paying attention to the articles of this part concerning coronavirus infection. A group of surgeons led by Corresponding Member of RAS E.G. Grigoriev (Irkutsk) presents a rare case of saving a life of puerperal woman with COVID-19 and after a caesarean section in abdominal sepsis and pancreatic necrosis.

A unique case of triple mixed infection (Lyme disease, tick-borne encephalitis and COVID-19) is described by G.N. Leonova et al. (Vladivostok); they showed the predominance of *B. burgdorferi* in this case which caused a long-term chronic course of the disease.

Researches of T.V. Goma, A.N. Kalyagin and O.V. Ryzhkov (Irkutsk) testify to the effectiveness of olokizumab in COVID-19 pneumonia in severe patients with expressed inflammatory changes and impaired respiratory function.

The article by V.V. Gerasimov et al. from Yakutsk and Moscow on the prospects of using the new IGRA ELISPOT method for assessing T cell immunity to the SARS-CoV-2 virus closes the series of works on the coronavirus. This is especially important not only for assessing cellular immunity to SARS-CoV-2, but also for assessing the immune status of the body.

Unfortunately, the problem of HIV infection which has been accompanying mankind for two generations does not lose its relevance. This is showed by the article by T.L. Manaenkova et al. (Irkutsk) on comorbid pathology in children and adolescents with perinatal HIV infection. The authors found that these children had a higher prevalence of tuberculosis, anemia, diseases of the gastrointestinal tract, of the eye and adnexa, of the nervous system, mental and behavioral disorders compared to children not exposed to HIV.

A series of studies of two teams of authors from Ulan-Ude (Khobrakova V.B. et al. and Razuvaeva Ya.G. et al.) on the correction of experimental immunodeficiency with dry extracts and biologically active substances isolated from plants thematically adjoins to the beforementioned works. Apparently, we should expect their further transfer to clinical practice.

Several articles are devoted to studies of the central nervous system. It is especially pleasant that for the first time we have a joint work of Belarusian and Moscow authors (Maibogin A.M., Nedzevedz M.K., Kornev N.V.) who showed the features of histological changes in the brain in the terminal stages of liver disease of alcoholic and viral etiology.

The work of O.I. Shevchenko and O.L. Lakhman (Angarsk) describes the revealed neuropsychological signs in vibration disease, indicating the inferiority of the functioning of the frontal and parietal regions of the left hemisphere

I hope that specialists will be interested in the work of A.A. Volkov et al. (Rostov-on-Don, Moscow) on a new approach to combined urethroplasty for extended tuberculous urethral strictures. The technique is promising for use in strictures of a different genesis.

In this issue, A.E. Medvedchikov et al. (Novosibirsk) presented the scheme of diagnostics and algorithms for treating patients with rupture of the distal tendon of the biceps brachii, developed by them and applicable in hospitals of various levels. S.S. Smirnov et al. (Saint Petersburg) presented the results of a study of the developed model of normotrophic pseudoarthrosis of a rabbit's tibia, which is highly necessary for further experimental and clinical studies.

Among fundamental researches with undoubtedly prospects for their translation into practice, I would recommend paying attention to the article by L.S. Klyushova et al. (Novosibirsk), who showed on the hepG2 spheroids that Cu(II) complexes with enamine and tetrazole derivatives on CYP2C и CYP3A have cytotoxic and antiproliferative properties, and the $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{TF})_4]$ complex can be used as a basis for the creation of an antitumor compound.

The experimental study by A.E. Kim et al. (Yaroslavl, Moscow, Saint Petersburg) on the interaction of hypoxia and physical activity is also relevant for the rehabilitation of patients.

This issue is also rich in reviews on various aspects of medicine: ophthalmology (Boyko E.V. et al., Saint Petersburg), comorbidity of functional disorders of the intestine and obesity and the role of the microbiome (Klimenko E.S. et al., Irkutsk), dentistry (Sabirova A.I., Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek), pulmonology (Chulkov V.S. et al., Chelyabinsk), orthopedics (Karapetyan G.S., Shuyskiy A.A., Moscow). I think they will find an interested reader.

For citation: Kolesnikov S.I. Editor-in-Chief's preface to Issue 5-2, 2022. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.1

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие главного редактора к № 5-2 (2022). Колосников С.И.

5

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ,
НОВЫЕ ТRENДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Сиртуины и хемокины – маркеры репликативного и индуцированного старения эндотелиоцитов человека. Савицкий Д.В., Линькова Н.С., Кожевникова Е.О., Козлов К.Л., Пальцева Е.М., Кветная Т.В.

12

Цитокины и HIF-1 α как факторы дисрегуляции миграции и дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов в патогенезе ишемической кардиомиопатии. Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Пряхин А.С.

21

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Модулирующее действие комплексов Cu(II) с производными енамина и тетразола на CYP2C и CYP3A и их цитотоксические и антитроплiferативные свойства в сферах HepG2. Клюшова Л.С., Голубева Ю.А., Вавилин В.А., Гришанова А.Ю.

31

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

Использование в клинической практике метода индуцированной мокроты у пациентов с бронхиальной астмой. Чулков В.С., Минина Е.Е., Медведева Л.В.

42

Коморбидность функциональных расстройств кишечника и ожирения с точки зрения микробиома. Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Погодина А.В., Рычкова Л.В., Даренская М.А.

56

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Верификация случая микст инфекции болезни Лайма, клещевого энцефалита и COVID-19. Леонова Г.Н., Шутикова А.Л., Попов А.Ф., Щелканов М.Ю.

67

Коморбидная патология у детей и подростков с перинатальной ВИЧ-инфекцией: pilotное исследование. Манаенкова Т.Л., Баирова Т.А., Самбялова А.Ю., Парамонов А.И., Беляева Е.В., Бугун О.В., Рычкова Л.В.

74

Эффективность применения препарата олокизумаб у пациентов с COVID-19. Гома Т.В., Калягин А.Н., Рыжкова О.В., Соловьева Н.С.

86

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Editor-in-chief's preface to Issue 5-2, 2022. Kolesnikov S.I.

5

DISCUSSION PAPERS, LECTURES,
NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

Sirtuins and chemokines as markers of replicative and induced senescence of human endotheliocytes. Savitskiy D.V., Linkova N.S., Kozhevnikova E.O., Kozlov K.L., Paltseva E.M., Kvetnaia T.V.

Cytokines and HIF-1 α as dysregulation factors of migration and differentiation of monocyte progenitor cells of endotheliocytes in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy. Denisenko O.A., Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Pryakhin A.S.

21

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Modulating effect of Cu(II) complexes with enamine and tetrazole derivatives on CYP2C and CYP3A and their cytotoxic and antiproliferative properties in HepG2 spheroids. Klyushova L.S., Golubeva Yu.A., Vavilin V.A., Grishanova A.Yu.

INTERNAL DISEASES

Using induced sputum method in clinical practice in patients with bronchial asthma. Chulkov V.S., Minina E.E., Medvedeva L.V.

Comorbidity of functional bowel disorders and obesity in terms of microbiome. Klimenko E.S., Belkova N.L., Pogodina A.V., Rychkova L.V., Darenetskaya M.A.

56

INFECTIOUS DISEASES

Verification of a case of mixed infection with Lyme disease, tick-borne encephalitis and COVID-19. Leonova G.N., Shutikova A.L., Popov A.F., Shchelkanov M.Yu.

Comorbid disease in children and adolescents with perinatal HIV infection: A pilot study. Manaenкова Т.Л., Баирова Т.А., Самбялова А.Ю., Парамонов А.И., Бугун О.В., Рыжкова Л.В.

Efficacy of olocizumab in treatment of COVID-19 patients. Гома Т.В., Калягин А.Н., Рыжкова О.В., Соловьева Н.С.

86

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Оценка иммунного ответа SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток методом ELISPOT. Герасимова В.В., Колесник С.В., Кудлай Д.А., Гольдерова А.С.

96

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Дизайн пролекарств на основе органилфосфатов: сравнительный анализ антибиотического действия алкильных защитных групп разной степени фторирования. Приставка А.А., Михайленко В.Л., Вятчина О.Ф., Юринова Г.В., Верхотурова С.И., Апарчин К.А., Саловарова В.П.

103

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Коррекция экстрактом *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. морфофункциональных изменений в тимусе и селезёнке мышей при циклофосфановой иммuno-супрессии. Разуваева Я.Г., Хобракова В.Б., Тугарина Ю.А., Оленников Д.Н.

114

Морфологические изменения головного мозга при циррозе печени алкогольной и вирусной этиологии. Майбогин А.М., Недзьведь М.К., Корнев Н.В.

122

Оценка морфологических критериев эффективности режимов радиочастотной циркулярной денервации лёгочной артерии в эксперименте (животные, свиньи). Трофимов Н.А., Никольский А.В., Родионов А.Л., Егоров Д.В., Суркова Т.В.

131

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Возможности применения роговичных лентикул в хирургии заболеваний роговицы (обзор литературы). Бойко Э.В., Титов А.В., Масян Я.И., Мирсаитова Д.Р.

143

Комплексная оценка качества жизни пациентов с глаукомой при различных методах лечения. Курбанинов С.А., Габдрахманова А.Ф., Хабибуллаев Ш.Ш.

153

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Нейропсихологические критерии диагностики когнитивных нарушений у пациентов с профессиональными заболеваниями от воздействия физических факторов. Шевченко О.И., Лахман О.Л.

164

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Региональные особенности основных характеристик физического развития жителей Севера в онтогенетическом аспекте. Аверьянова И.В., Лоскутова А.Н., Карапашева В.О.

173

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ELISPOT assay of the SARS-CoV-2 specific T cells immune response. Gerasimova V.V., Kolesnik S.V., Kudlai D.A., Golderova A.S.

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Design of organyl phosphate-based pro-drugs: comparative analysis of the antibiotic action of alkyl protecting groups with different degree of fluorination. Pristavka A.A., Mikhailenko V.L., Vyatchina O.F., Yurinova G.V., Verkhoturova S.I., Apartsin K.A., Salovarova V.P.

103

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Correction of morphofunctional changes in mice thymus and spleen by *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. extract at cyclophosphamide immunosuppression. Razuvayeva Ya.G., Khobrakova V.B., Tugarina Yu.A., Olenikov D.N.

114

Morphological changes in the brain in liver cirrhosis of alcoholic and viral etiology. Maybogin A.M., Nedzvedz M.K., Kornev N.V.

122

Assessment of morphological criteria for the efficiency of radiofrequency circumferential denervation of the pulmonary artery in the experiment (animals, pigs). Trofimov N.A., Nikolskiy A.V., Rodionov A.L., Egorov D.V., Surkova T.V.

131

OPHTHALMOLOGY

Possible use of corneal lenticule in surgery of corneal diseases (literature review). Boiko E.V., Titov A.V., Masyan J.I., Mirsaitova D.R.

143

Comprehensive assessment of the quality of life of patients with glaucoma when using various methods of treatment. Kurbanov S.A., Gabdrakhmanova A.F., Khabibullaev Sh.Sh.

153

OCCUPATIONAL DISEASES

Neuropsychological criteria for diagnosing cognitive impairment in patients with occupational diseases caused by physical factors. Shevchenko O.I., Lakhman O.L.

164

PREVENTIVE MEDICINE

Region-related patterns of the main physical development indicators observed in northerners in the ontogenetic aspect. Averyanova I.V., Loskutova A.N., Karandasheva V.O.

173

СТОМАТОЛОГИЯ

Модифицируемые факторы риска развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта. Сабирова А.И.

182

DENTISTRY

Modifiable risk factors for the development and progression of periodontal tissue diseases. Sabirova A.I.

ТРАВМАТОЛОГИЯ

Оказание специализированной помощи пациентам с разрывом дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча: диагностика и алгоритм лечения. Медведчиков А.Е., Анастасиева Е.А., Корыткин А.А., Кирилова И.А.

193

TRAUMATOLOGY

Providing specialized care to patients with a rupture of the distal tendon of the biceps brachii: diagnosis and treatment algorithm. Medvedchikov A.E., Anastasieva E.A., Korytkin A.A., Kirilova I.A.

Особенности реверсивного эндопротезирования плечевого сустава при ортопедической патологии гленоида (обзор литературы). Карапетян Г.С., Шуйский А.А.

207

Features of reverse arthroplasty of the shoulder joint in orthopedic pathology of the glenoid (literature review). Karapetyan G.S., Shuyskiy A.A.

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Влияние индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis* Willd, на состояние основных звеньев иммунитета при экспериментальном иммунодефиците. Хобракова В.Б., Халзанова А.В., Оленников Д.Н., Абидуева Л.Р.

222

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

Effect of individual substances isolated from *Silene jeniseensis* Willd on the state of the main links of immunity at experimental immune deficiency. Khobrakova V.B., Khalzanova A.V., Olennikov D.N., Abidueva L.R.

ХИРУРГИЯ

Одномоментная комбинированная уретропластика при протяжённых структурах переднего отдела уретры туберкулёзного генеза. Волков А.А., Будник Н.В., Зубань О.Н., Решетников М.Н., Плоткин Д.В., Богородская Е.М., Яровая Е.В.

230

SURGERY

Single-stage combined urethroplasty for extended strictures of the anterior urethra of tuberculous origin. Volkov A.A., Budnik N.V., Zuban O.N., Reshetnikov M.N., Plotkin D.V., Bogorodskaya E.M., Yarovaya E.V.

Этапное лечение абдоминального сепсиса у родильницы с COVID-19 и панкреонекрозом после кесарева сечения: клиническое наблюдение. Григорьев Е.Г., Середа Л.В., Аюшинова Н.И.

240

Staged treatment of abdominal sepsis in a puerpera with COVID-19 and pancreatonecrosis after cesarean section: case report. Grigoryev E.G., Sereda L.V., Ayushinova N.I.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние высокобелковой и высокоуглеводной диеты на содержание D-лактата в плазме крови и кишечнике модельного организма – радужной форели. Васильева А.В., Морозов А.А., Матросова С.В., Чечкова Н.А., Арнаутов М.В., Артемов Р.В., Биндюков С.В., Жидко А.В., Суховская И.В.

247

EXPERIMENTAL RESEARCHES

The effect of a high-protein and high-carbohydrate diet on the content of D-lactate in the blood plasma and intestines of a model organism – rainbow trout. Vasileva A.V., Morozov A.A., Matrosova S.V., Chechkova N.A., Arnautov M.V., Artemov R.V., Bindyukov S.V., Zhidko A.V., Sukhovskaya I.V.

Патофизиологические аспекты взаимодействия гипоксии и физической нагрузки (экспериментальное исследование). Ким А.Е., Шустов Е.Б., Ганапольский В.П., Зайцева И.П., Лемещенко А.В.

259

Pathophysiological aspects of the interaction of hypoxia and physical load (experimental study). Kim A.E., Shustov E.B., Ganapolsky V.P., Zaitseva I.P., Lemeshchenko A.V.

Экспериментальная модель нормотрофического ложного сустава большеберцовой кости кролика. Смирнов С.С., Щепкина Е.А., Шиленко Л.А., Самсоненко Е.К., Аникин Н.А., Маметов М.В., Чепурной З.И., Воронин С.Е., Герко М.Д., Ивкин Д.Ю., Карпов А.А.

268

Experimental model of normotrophic pseudarthrosis of a rabbit's tibia. Smirnov S.S., Shchepkina E.A., Shilenko L.A., Samsonenko E.K., Anikin N.A., Mametov M.V., Chepurnoy Z.I., Voronin S.E., Gerko M.D., Ivkin D.Yu., Kararov A.A.

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

СИРТУИНЫ И ХЕМОКИНЫ – МАРКЕРЫ РЕПЛИКАТИВНОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО СТАРЕНИЯ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

РЕЗЮМЕ

Савицкий Д.В.¹,
Линькова Н.С.^{1, 2, 3},
Кожевникова Е.О.¹,
Козлов К.Л.^{1, 4},
Пальцева Е.М.⁵,
Кветная Т.В.¹

¹ АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, Россия)

² Академия постдипломного образования, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России (125371, г. Москва, Волоколамское шоссе, 91, Россия)

³ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия)

⁴ ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России (194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6, Россия)

⁵ ФГБУ «Российская академия наук» (119991, г. Москва, Ленинский пр., 14, Россия)

Обоснование. Одним из факторов патогенеза атеросклероза и других ассоциированных с ним сердечно-сосудистых заболеваний является индуцированное старение эндотелия. В связи с этим актуальной задачей молекулярной биологии и медицины является поиск молекул, влияющих на процесс старения эндотелиоцитов сосудов.

Цель работы. Оценить экспрессию *Sirt-1,3,6* и хемокинов *IL-4*, *CXCL11* при репликативном и индуцированном старении эндотелиоцитов человека.

Методы. Исследование проведено на первичной культуре изолированных эндотелиальных клеток пупочной вены человека (*HUVEC, human umbilical vein endothelial cells*). *HUVEC* культивировали в условиях репликативного (естественного) и индуцированного липополисахаридом старения. Синтез *Sirt-1,3,6*, *IL-4*, *CXCL11* оценивали методом вестерн-блот анализа.

Результаты. Выявлено снижение синтеза *Sirt-1,3,6* в 1,6–1,8 раза ($p < 0,05$) в условиях репликативного старения *HUVEC*. Индуцированное старение эндотелиоцитов характеризуется более выраженным уменьшением синтеза *Sirt-1,3,6* – в 1,7–3,4 раза ($p < 0,05$). При репликативном и индуцированном старении *HUVEC* синтез *CXCL11* возрастает соответственно в 1,4 и 3,4 раза ($p < 0,05$). При индуцированном старении *HUVEC* синтез *IL-4* повышается в 4,7 раза ($p < 0,05$), а при репликативном старении эндотелиоцитов этот показатель не изменяется.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что сиртуины и хемокины играют важную роль в развитии эндотелиальной дисфункции, наблюдаемой при естественном и индуцированном старении.

Ключевые слова: *HUVEC*, сиртуины, хемокины, эндотелиальная дисфункция, старение

Автор, ответственный за переписку:
Линькова Наталья Сергеевна,
e-mail: miayy@yandex.ru

Статья поступила: 06.04.2022
Статья принята: 10.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Савицкий Д.В., Линькова Н.С., Кожевникова Е.О., Козлов К.Л., Пальцева Е.М., Кветная Т.В. Сиртуины и хемокины – маркеры репликативного и индуцированного старения эндотелиоцитов человека. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 12-20. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.2

SIRTUINS AND CHEMOKINES AS MARKERS OF REPLICATIVE AND INDUCED SENESCENCE OF HUMAN ENDOTHELIOCYTES

ABSTRACT

Savitskiy D.V.¹,
Linkova N.S.^{1,2,3},
Kozhevnikova E.O.¹,
Kozlov K.L.^{1,4},
Paltseva E.M.⁵,
Kvetnaia T.V.¹

¹ Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology (Dynamo ave. 3, Saint Petersburg 197110, Russian Federation)

² Academy of Postgraduate Education, Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies, FMBA of Russia (Volokolamskoye highway 91, Moscow 125371, Russian Federation)

³ Belgorod State National Research University (Pobedy str. 85, Belgorod 308015, Russian Federation)

⁴ Kirov Military Medical Academy (Akademika Lebedeva str. 6, Saint Petersburg 194044, Russian Federation)

⁵ Russian Academy of Sciences (Leninskiy ave. 14, Moscow 119991, Russian Federation)

Background. One of the factors of the pathogenesis of atherosclerosis and other cardiovascular diseases is induced endothelial senescence. In this regard, the urgent task of molecular biology and medicine is the search for molecules that affect the process of vascular endotheliocytes senescence.

The aim. To assess the expression of Sirt-1,3,6 and chemokines IL-4, CXCL11 in the replicative and induced senescence of human endotheliocytes.

Materials and methods. The study was conducted on the primary culture of isolated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs were cultured under conditions of replicative (natural) and lipopolysaccharide induced senescence.

Results. The synthesis of Sirt-1,3,6, IL-4 and CXCL11 was evaluated using western blot analysis. We revealed a decrease in Sirt-1,3,6 synthesis by 1.6–1.8 times ($p < 0.05$) in the conditions of HUVEC replicative senescence. Induced senescence of endotheliocytes is characterized by a more pronounced decrease (1.7–3.4 times; $p < 0.05$) in the Sirt-1,3,6 synthesis. CXCL11 synthesis increases by 1.4 times ($p < 0.05$) in replicative and by 3.4 times ($p < 0.05$) in induced HUVEC senescence. IL-4 synthesis increases by 4.7 times in conditions of induced HUVEC senescence and doesn't have changes in replicative senescence of endotheliocytes.

Conclusion. These data obtained indicate that sirtuins and chemokines play an important role in the development of endothelial dysfunction observed in natural and induced senescence.

Key words: HUVEC, sirtuins, chemokines, endothelial dysfunction, senescence

Corresponding author:

Natalia S. Linkova,
e-mail: miayy@yandex.ru

Received: 06.04.2022
Accepted: 10.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Savitskiy D.V., Linkova N.S., Kozhevnikova E.O., Kozlov K.L., Paltseva E.M., Kvetnaia T.V. Sirtuins and chemokines as markers of replicative and induced senescence of human endotheliocytes. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 12-20. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.2

ОБОСНОВАНИЕ

Старение является фактором риска, нарушающим сердечно-сосудистый гомеостаз. Выделяют два типа клеточного старения: репликативное и преждевременное, вызванное стрессом. Возрастная эволюция эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов может служить одним из пусковых факторов развития сердечно-сосудистых заболеваний [1–3]. Сенесцентные эндотелиоциты и моциты отличаются по морфологии и паттерну экспрессии генов от клеток молодого организма. Этот процесс характеризуется дисфункциональным фенотипом клеток сосудов, который приводит к развитию воспалительных реакций атеросклеротическому поражению сосудов, нарушению тонуса сосудов, васкулогенеза и эндотелиальной дисфункции. Всё это также может являться причиной сердечно-сосудистых заболеваний [4].

Наиболее распространёнными в мире причинами летальности являются атеросклероз и другие сердечно-сосудистые заболевания, развивающиеся на его фоне: инфаркт миокарда, инсульт, ишемическая болезнь сердца. Основными факторами риска патогенеза атеросклеротического поражения сосудов считают гипертоническую болезнь, сахарный диабет, нарушение обмена холестерина и липопротеидов. В настоящее время в качестве ещё одного фактора риска развития атеросклероза стали выделять старение [5, 6]. В связи с этим атеросклероз можно рассматривать как патологию, характеризующуюся молекулярно-клеточным старением организма. В связи с этим актуальным вопросом молекулярной биологии и медицины является оценка роли сигнальных молекул в старении эндотелия в норме и при патологии.

Известно, что вазопротекторными белками, предотвращающими старение эндотелиоцитов, являются сиртуины-1,3,6 (Sirt-1,3,6) [7–16]. Sirt-1 является одним из факторов, участвующих в поддержании гомеостаза и геропротекции клеток сердечно-сосудистой системы [7], ингибирует NF-кВ и подавляет экспрессию провоспалительных молекул (интерлейкин (IL) 1 β , TNF- α), предотвращая образование атеросклеротических бляшек [8, 9]. Sirt-3 защищает эндотелиальные клетки от окислительного стресса, приводящего к их ускоренному старению [12]. Снижение синтеза Sirt-3 активирует патологическую пролиферацию и дисфункцию митохондрий гладкомышечных клеток сосудов. Этот механизм лежит в основе ремоделирования сосудов при гипертензии [13]. Недостаток экспрессии Sirt-3 может приводить к возникновению метаболического синдрома, который является фактором риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [15]. Уменьшение синтеза Sirt-6 в эндотелиоцитах приводит к их ускоренному старению [16]. Sirt-6 предотвращает образование нестабильных атеросклеротических бляшек у пациентов с сахарным диабетом [15] и обладает антиатерогенными свойствами [11].

Хемокины CXCL11 и IL-4 участвуют в патогенезе атеросклероза и другой ассоциированной с возрастом сердечно-сосудистой патологии [17–22]. Известно, что IL-4 присутствует в высоких концентрациях в крови и тканях пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, включая атеросклероз. IL-4 повышает экспрессию IL-6 в эндотелии сосудов посредством NOX-опосредованной генерации активных форм кислорода [20]. Экспрессия IL-4 повышается в крови при инфаркте миокарда, остром коронарном синдроме и нестабильной стенокардии [17, 19]. Таким образом, в литературе имеются данные о том, что хемокины и сиртуины играют важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированных с возрастом. Однако участие этих сигнальных молекул в ускоренном и естественном старении эндотелиоцитов до сих пор не изучено.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить экспрессию Sirt-1,3,6 и хемокинов IL-4, CXCL11 при репликативном и индуцированном старении эндотелиоцитов человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использована первичная культура первичных эндотелиоцитов пупочной вены человека (HUVEC, human umbilical vein endothelial cells). Клетки выращивали в CO₂-инкубаторе (Binder, Германия) при температуре 37 °C в среде, содержащей DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), 10 % фетальной бычьей сыворотки, 1 % смеси пенициллина и стрептомицина. Питательную среду заменяли каждые 2 суток. Когда клетки составляли 85–90 % монослоя, их пассировали в отношении 1:3. Жизнеспособность клеток оценивали с использованием MTS-теста. Репликативное старение клеток проводили с помощью их пассирования до 18-го пассажа. Пассаж, соответствующий «старым» культурам, был определён экспериментально по снижению жизнеспособности клеток в соответствии с ранее описанной методикой [23], что согласуется с данными исследования [24]. Контролем служили «молодые» клетки 3-го пассажа. Индуцированной моделью клеточного старения явилось применение липополисахарида. Липополисахарид повышает активность каспазы-1 в HUVEC и эндотелиальных клетках почечных клубочков [25, 26]. На 3-м пассаже клетки в концентрации 6 × 10⁶ на одну лунку 6-луночного планшета выращивали в течение 12 ч. Затем в течение 6 суток проводили инкубацию с липополисахаридом в концентрации 0,5 мкг/мл [27]. Контрольные культуры клеток выращивали в тех же условиях без добавления липополисахарида.

Для проведения вестерн-блот анализа белок изолировали из клеток HUVEC с использованием RIPA-буфера. Белки экстрагировали из клеток HUVEC с помо-

щью набора Extraction Kit (BestBio BB-3102, Китай). Концентрацию исследуемых белков измеряли с помощью BCA™ Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Белок выделяли методом электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия и переносили на PVDF-мембранны. Неспецифическое связывание белка на PVDF-мембранных блокировали в 5%-м растворе обезжиренного молока в растворе Tris-буфера при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем проводили инкубацию с первичными антителами при 4 °C: anti-CXCL11, anti-IL4, anti-Sirt1, anti-Sirt3, anti-Sirt6 (Abcam, США) и anti-β-actin (Abcam, США). Все первичные антитела разводили в соотношении 1:1000. После этого PVDF-мембранные промывали TBST-буфером (Tris Buffered Saline with Tween-20: 10 mM Трис-HCl, 150 mM NaCl, 0,1% Tween-20, pH = 7,5) 3 раза по 5 минут и проводили инкубацию со вторичными антителами (1:8000, Abcam, США) при комнатной температуре в течение 2 часов. Сигналы белков на полосах визуализировали с помощью хемилюминесценции (Thermo Fisher Scientific, США). Уровни экспрессии белков определяли количественно методом денситометрии с использованием программного обеспечения ImageJ 64 (National Institutes of Health, США) по отношению к экспрессии β-актина. Все данные анализировали с помощью программного обеспечения SPSS 21.0 (IBM Corp., США). Оценивали среднее значение и стандартную ошибку. Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента или с применением одностороннего дисперсионного анализа ANOVA. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В норме в культуре HUVEC экспрессия Sirt-1 составляет $1,59 \pm 0,16$ у. е., Sirt-3 – $1,59 \pm 0,16$ у. е., Sirt-6 – $1,40 \pm 0,17$ у. е., CXCL11 – $0,72 \pm 0,09$ у. е., IL-4 – $0,60 \pm 0,09$ у. е. При репликативном старении происходит снижение экспрессии сиртуинов Sirt-1,3,6 в 1,8, 1,6 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Также при репликативном старении эндотелиоцитов наблюдается увеличение экспрессии хемокина CXCL11 в 1,4 раза ($p < 0,05$). Экспрессия IL-4 в эндотелии сосудов при репликативном старении статистически значимо не изменяется (рис. 1).

При изучении экспрессии сиртуинов и хемокинов в модели индуцированного старения эндотелиоцитов были получены следующие данные. В норме в культуре HUVEC экспрессия Sirt-1 составила $1,45 \pm 0,14$ у. е., Sirt-3 – $1,40 \pm 0,12$ у. е., Sirt-6 – $1,51 \pm 0,13$ у. е., CXCL11 – $0,70 \pm 0,07$ у. е., IL-4 – $0,66 \pm 0,08$ у. е. При индуцированном старении происходит снижение экспрессии Sirt-1 в 3,4 раза, Sirt-3 – в 2,5 раза, Sirt-6 – в 1,7 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Кроме того, в модели индуцированного старения эндотелиоцитов наблюдается увеличение экспрессии хемокина CXCL11 в 3,4 раза и IL-4 – в 4,7 раза ($p < 0,05$; рис. 2).

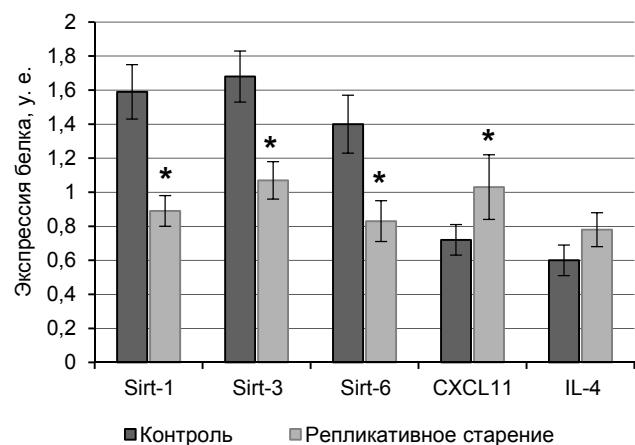


РИС. 1.

Уровень экспрессии сиртуинов и хемокинов в культуре HUVEC в норме и при репликативном старении: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 1.

The level of sirtuins and chemokines expression in HUVEC culture in normal conditions and in replicative senescence: * – $p < 0,05$ compared to the control

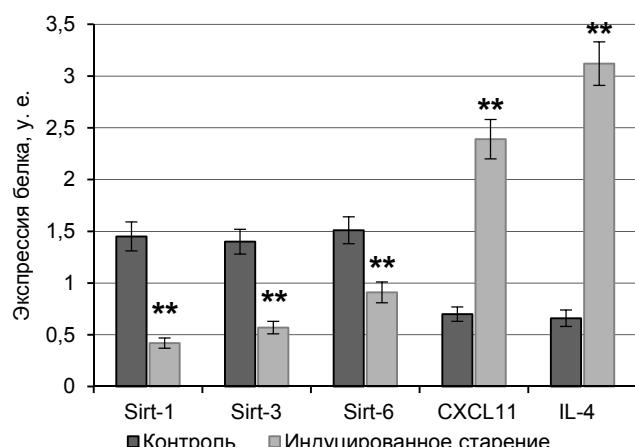


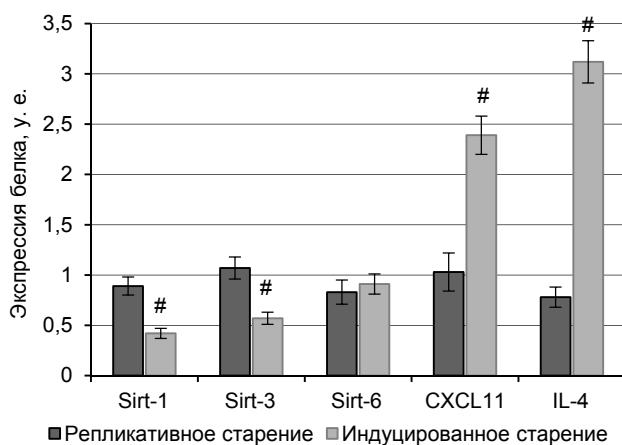
РИС. 2.

Уровень экспрессии сиртуинов и хемокинов культуры HUVEC в норме и при индуцированном старении: ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 2.

The level of sirtuins and chemokines expression in HUVEC culture in normal conditions and in induced senescence: ** – $p < 0,05$ compared to the control

Экспрессия Sirt-1 при репликативном старении в 2,1 раза, а Sirt-3 – в 1,9 раза больше ($p < 0,05$), чем при индуцированном старении. Экспрессия Sirt-6 статистически значимо не отличается при обоих типах старения. Экспрессия хемокинов была, наоборот, больше при индуцированном старении, чем при репликативном: CXCL11 – в 2,3 раза, IL-4 – в 4 раза ($p < 0,05$; рис. 3).

**РИС. 3.**

Сравнение уровня экспрессии сиртуинов и хемокинов в культуре HUVEC при репликативном и индуцированном старении: # – $p < 0,05$ по сравнению с репликативным старением

FIG. 3.

Comparison of the level of sirtuins and chemokines expression in HUVEC culture in replicative and induced senescence: # – $p < 0.05$ compared to replicative senescence

ОБСУЖДЕНИЕ

Сиртуины являются группой гистоновых деацетилаз, замедляющих клеточное старение и увеличивающих продолжительность жизни организма. Sirt-1 и Sirt-6 регулируют экспрессию обратной транскриптазы, поддерживающей длину теломер [28], деацетилируют гистоновые белки, что необходимо для поддержания целостности теломер и репарации ДНК [29–31]. В нашем исследовании установлено, что при репликативном (естественном) старении происходит снижение синтеза Sirt-1,3,6 в эндотелиоцитах человека. Этот результат согласуется с данными других исследователей. Ранее было показано, что синтез Sirt-1 и Sirt-6 снижается в эмбриональных фибробластах мыши при старении *in vitro* [32–34]. Ещё более выраженное уменьшение синтеза Sirt-1,3,6 было выявлено нами в модели ускоренного старения эндотелиоцитов. При индуцированном липополисахаридом старении эндотелиоцитов синтез Sirt-1,3,6 снижается в большей степени, чем при репликативном старении. Сходные данные по снижению синтеза сиртуинов были получены на эпителии лёгких, эндотелии и макрофагах человека при старении, вызванном действием прооксидантов [32–34]. В других исследованиях также отмечено, что уменьшение продукции Sirt-1 и Sirt-6 способствует преждевременному старению эндотелиальных клеток [35, 36]. Сверхэкспрессия Sirt-1 и Sirt-6 замедляет старение эндотелиальных клеток коронарной артерии человека, обработанных ангиотензином II, первичных эндотелиальных клеток аорты свиньи и клеток лёгких, подвергшихся стрессу [36, 37]. Sirt-1 подавляет индуцированное онкогенами или стрессом клеточное старение [38]; снижение его экспрессии приводит к развитию фенотипа старения эндотелиальных клеток-предшественников

[39, 40]. Таким образом, снижение синтеза Sirt-1,3,6 характерно для нормального (репликативного) старения эндотелиоцитов человека. При этом ускоренное старение эндотелиоцитов характеризуется более выраженным уменьшением синтеза указанных сиртуинов.

Хемокины CXCL11 и IL-4 являются маркерами воспалительной реакции и различной сердечно-сосудистой патологии, ассоциированной со старением [18, 20–22]. Нами показано, что при репликативном и индуцированном воспалительной реакцией старении эндотелиоцитов человека синтез CXCL11 возрастает. Это подтверждает ранее описанную взаимосвязь данного хемокина и сердечно-сосудистой патологии [21]. Известно, что CXCL11 экспрессируется в атеросклеротической бляшке на всех стадиях её формирования. Этот хемокин участвует в адгезии активированных Т-клеток на эндотелии [18, 22]. Таким образом, полученные данные указывают на взаимосвязь между старением эндотелия и эндотелиальной дисфункцией. Повышение количества IL-4 выявлено в модели ускоренного старения эндотелиоцитов, индуцированного липополисахаридом. Поскольку IL-4 присутствует в высоких концентрациях в крови и тканях пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, включая атеросклероз [17, 19, 20], можно заключить, что он играет важную роль в старении эндотелия, ассоциированного с воспалением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для репликативного (естественного) и ускоренного старения эндотелиоцитов человека характерно снижение синтеза сиртуинов-1,3,6. Ускоренное старение эндотелиоцитов характеризуется более выраженным уменьшением синтеза указанных сиртуинов по сравнению с репликативным старением этого типа клеток. Этот факт может являться одним из патогенетических звеньев развития ассоциированной с возрастом сердечно-сосудистой патологии. При старении эндотелиоцитов, индуцированном воспалительной реакцией, наблюдается повышение синтеза хемокина CXCL11 и цитокина IL-4, что может лежать в основе развития атеросклероза, и другой, являющейся его следствием, сердечно-сосудистой патологии. Таким образом, сиртуины и хемокины играют важную роль в развитии эндотелиальной дисфункции, наблюдаемой при естественном и индуцированном старении.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Chen J, Goligorsky MS. Premature senescence of endothelial cells: Methusaleh's dilemma. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 290(5): H1729-H1739. doi: 10.1152/ajpheart.01103.2005

2. Gorenne I, Kavurma M, Scott S, Bennett M. Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2006; 72(1): 9-17. doi: 10.1016/j.cardiores.2006.06.004
3. Erusalimsky JD. Vascular endothelial senescence: from mechanisms to pathophysiology. *J Appl Physiol (1985).* 2009; 106(1): 326-332. doi: 10.1152/japplphysiol.91353.2008
4. Van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature.* 2014; 509(7501): 439-446. doi: 10.1038/nature13193
5. Денисова Т.П., Липатова Т.Е., Алипова Л.Н., Егорова А.В. Взаимовлияние атеросклероза и старения: есть ли место для дискуссий? *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2018; 14(2): 322-327.
6. Tyrrell DJ, Goldstein DR. Ageing and atherosclerosis: Vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6. *Nat Rev Cardiol.* 2021; 18(1): 58-68. doi: 10.1038/s41569-020-0431-7
7. Vasko R, Xavier S, Chen J, Lin CH, Ratliff B, Rabadi M, et al. Endothelial sirtuin 1 deficiency perpetuates nephrosclerosis through downregulation of matrix metalloproteinase-14: Relevance to fibrosis of vascular senescence. *J Am Soc Nephrol.* 2014; 25(2): 276-291. doi: 10.1681/ASN.2013010069
8. Schug TT, Xu Q, Gao H, Peres-da-Silva A, Draper DW, Fessler MB, et al. Myeloid deletion of SIRT1 induces inflammatory signaling in response to environmental stress. *Mol Cell Biol.* 2010; 30(19): 4712-4721. doi: 10.1128/MCB.00657-10
9. Stein S, Lohmann C, Schafer N, Hofmann J, Rohrer L, Besler C, et al. SIRT1 decreases Lox-1-mediated foam cell formation in atherogenesis. *Eur Heart J.* 2010; 31(18): 2301-2309. doi: 10.1093/eurheartj/ehq107
10. Donato AJ, Magerko KA, Lawson BR, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. SIRT-1 and vascular endothelial dysfunction with ageing in mice and humans. *J Physiol.* 2011; 589(Pt 18): 4545-4554. doi: 10.1113/jphysiol.2011.211219
11. Tao R, Xiong X, DePinho RA, Deng CX, Dong XC. FoxO3 transcription factor and Sirt6 deacetylase regulate low density lipoprotein (LDL)-cholesterol homeostasis via control of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (Pcsk9) gene expression. *J Biol Chem.* 2013; 288(41): 29252-29259. doi: 10.1074/jbc.M113.481473
12. Tseng AH, Shieh SS, Wang DL. SIRT3 deacetylates FOXO3 to protect mitochondria against oxidative damage. *Free Radic Biol Med.* 2013; 63: 222-234. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.002
13. Paulin R, Dromparis P, Sutendra G, Gurtu V, Zervopoulos S, Bowers L, et al. Sirtuin 3 deficiency is associated with inhibited mitochondrial function and pulmonary arterial hypertension in rodents and humans. *Cell Metab.* 2014; 20(5): 827-839. doi: 10.1016/j.cmet.2014.08.011
14. Lin CH, Chen J, Ziman B, Marshall S, Maizel J, Goligorsky MS. Endostatin and kidney fibrosis in aging: a case for antagonistic pleiotropy? *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014; 306(12): H1692-H1699. doi: 10.1152/ajpheart.00064.2014
15. Balestrieri ML, Rizzo MR, Barbieri M, Paolisso P, D'Onofrio N, Giovane A, et al. Sirtuin 6 expression and inflammatory activity in diabetic atherosclerotic plaques: effects of incretin treatment. *Diabetes.* 2015; 64(4): 1395-1406. doi: 10.2337/db14-1149
16. Maksin-Matveev A, Kanfi Y, Hochhauser E, Isak A, Cohen HY, Shainberg A. Sirtuin 6 protects the heart from hypoxic damage. *Exp Cell Res.* 2015; 330(1): 81-90. doi: 10.1016/j.yexcr.2014.07.013
17. Оганов Р.Г., Закирова Н.Э., Закирова А.Н., Салахова Г.М., Плотникова М.Р. Иммуновоспалительные реакции при остром коронарном синдроме. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2007; 5: 15-19. doi: 10.20996/1819-6446-2007-3-5-6-8
18. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, Sukhova GK, Neote K, Libby P, et al. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest.* 1999; 104(8): 1041-1050. doi: 10.1172/JCI6993
19. Szodoray P, Timar O, Veres K, Der H, Szomjak E, Lakos G, et al. Th1/Th2 imbalance, measured by circulating and intra cytoplasmic inflammatory cytokines-immunological alterations in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Scand J Immunol.* 2006; 64(3): 336-344. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.01816.x
20. Lee YW, Lee WH, Kim PH. Oxidative mechanisms of IL-4-induced IL-6 expression in vascular endothelium. *Cytokine.* 2010; 49(1): 73-79. doi: 10.1016/j.cyto.2009.08.009
21. Altara R, Gu YM, Struijker-Boudier HA, Thijss L, Staessen JA, Blankenstein WM. Left ventricular dysfunction and CXCR3 ligands in hypertension: From animal experiments to a population-based pilot study. *PloS One.* 2015; 10(10): e0141394. doi: 10.1371/journal.pone.0141394
22. Chalubinski M, Wojdan K, Luczak E, Gorzelak P, Borowiec M, Gajewski A, et al. IL-33 and IL-4 impair barrier functions of human vascular endothelium via different mechanisms. *Vascul Pharmacol.* 2015; 73: 57-63. doi: 10.1016/j.vph.2015.07.012
23. Хохлов А.Н. Тестирование геропротекторов в экспериментах на клеточных культурах: выбор оптимальной модельной системы. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология.* 2014; 1: 13-18.
24. Yi S, Lin K, Jiang T, Shao W, Huang C, Jiang B, et al. NMR-based metabonomic analysis of HUVEC cells during replicative senescence. *Aging.* 2020; 12(4): 3626-3646. doi: 10.18632/aging.102834
25. Schumann RR, Belka C, Reuter D, Lamping N, Kirschning CJ, Weber JR, et al. Lipopolysaccharide activates caspase-1 (interleukin-1-converting enzyme) in cultured monocytic and endothelial cells. *Blood.* 1998; 91: 577.
26. Messmer UK, Briner VA, Pfeilschifter J. Tumor necrosis factor- α and lipopolysaccharide induce apoptotic cell death in bovine glomerular endothelial cells. *Kidney Int.* 1999; 55(6): 2322. doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00473.x
27. Pan X, Wu B, Fan X, Xu G, Ou C, Chen M. YAP accelerates vascular senescence via blocking autophagic flux and activating mTOR. *J Cell Mol Med.* 2021; 25(1): 170-183. doi: 10.1111/jcmm.15902
28. Yamashita S, Ogawa K, Ikeya T, Udon M, Fujiki T, Katakura Y. SIRT1 prevents replicative senescence of normal human umbilical cord fibroblast through potentiating the transcription of human telomerase reverse transcriptase gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 417(1): 630-634. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.12.021
29. Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, Mostoslavsky R, Vann J, Park SK, et al. SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell.* 2008; 135(5): 907-918. doi: 10.1016/j.cell.2008.10.025
30. Michishita E, McCord RA, Berber E, Mostoslavsky R, Vann J, Park SK, et al. SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin. *Nature.* 2008; 452(7186): 492-496. doi: 10.1038/nature06736
31. Watroba M, Dudek I, Skoda M, Stangret A, Rzodkiewicz P, Szukiewicz D. Sirtuins, epigenetics and longevity. *Ageing Res Rev.* 2017; 40: 11-19. doi: 10.1016/j.arr.2017.08.001

32. Anwar T, Khosla S, Ramakrishna G. Increased expression of SIRT2 is a novel marker of cellular senescence and is dependent on wild type p53 status. *Cell Cycle*. 2016; 15(14): 1883-1897. doi: 10.1080/15384101.2016.1189041
33. Son MJ, Kwon Y, Son T, Cho YS. Restoration of mitochondrial NAD(+) levels delays stem cell senescence and facilitates reprogramming of aged somatic cells. *Stem Cells*. 2016; 34(12): 2840-2851. doi: 10.1002/stem.2460
34. Chen J, Xie JJ, Jin MY, Gu YT, Wu CC, Guo WJ, et al. Sirt6 overexpression suppresses senescence and apoptosis of nucleus pulposus cells by inducing autophagy in a model of intervertebral disc degeneration. *Cell Death Dis*. 2018; 9(2): 56. doi: 10.1038/s41419-017-0085-5
35. Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB, Pang WW, Fischer MR, Gellon L, et al. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell*. 2006; 124(2): 315-329. doi: 10.1016/j.cell.2005.11.044
36. Yao H, Chung S, Hwang JW, Rajendrasozhan S, Sundar IK, Dean DA, et al. SIRT1 protects against emphysema via FOXO3-mediated reduction of premature senescence in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122(6): 2032-2045. doi: 10.1172/JCI60132
37. Zu Y, Liu L, Lee MY, Xu C, Liang Y, Man RY, et al. SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells. *Circ Res*. 2010; 106(8): 1384-1393. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.215483
38. Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S, et al. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J*. 2002; 21(10): 2383-2396. doi: 10.1093/emboj/21.10.2383
39. Rimmele P, Bigarella CL, Liang R, Izac B, Dieguez-Gonzalez R, Barbet G, et al. Aging-like phenotype and defective lineage specification in SIRT1-deleted hematopoietic stem and progenitor cells. *Stem Cell Reports*. 2014; 3(1): 44-59. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.04.015
40. Chen J, Xavier S, Moskowitz-Kassai E, Chen R, Lu CY, Sanduski K, et al. Cathepsin cleavage of sirtuin 1 in endothelial progenitor cells mediates stress-induced premature senescence. *Am J Pathol*. 2012; 180(3): 973-983. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.11.033
41. Chen J, Goligorsky MS. Premature senescence of endothelial cells: Methusaleh's dilemma. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 290(5): H1729-H1739. doi: 10.1152/ajpheart.01103.2005
42. Gorenne I, Kavurma M, Scott S, Bennett M. Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2006; 72(1): 9-17. doi: 10.1016/j.cardiores.2006.06.004
43. Erusalimsky JD. Vascular endothelial senescence: from mechanisms to pathophysiology. *J Appl Physiol* (1985). 2009; 106(1): 326-332. doi: 10.1152/japplphysiol.91353.2008
44. Van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature*. 2014; 509(7501): 439-446. doi: 10.1038/nature13193
45. Denisova TP, Lipatova TE, Alipova LN, Yegorova AV. Interaction of atherosclerosis and ageing: Is there any discussion questionable? *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2018; 14(2): 322-327. (In Russ.).
46. Tyrrell DJ, Goldstein DR. Ageing and atherosclerosis: Vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6. *Nat Rev Cardiol*. 2021; 18(1): 58-68. doi: 10.1038/s41569-020-0431-7
47. Vasko R, Xavier S, Chen J, Lin CH, Ratliff B, Rabadi M, et al. Endothelial sirtuin 1 deficiency perpetuates nephrosclerosis through downregulation of matrix metalloproteinase-14: Relevance to fibrosis of vascular senescence. *J Am Soc Nephrol*. 2014; 25(2): 276-291. doi: 10.1681/ASN.2013010069
48. Schug TT, Xu Q, Gao H, Peres-da-Silva A, Draper DW, Fessler MB, et al. Myeloid deletion of SIRT1 induces inflammatory signaling in response to environmental stress. *Mol Cell Biol*. 2010; 30(19): 4712-4721. doi: 10.1128/MCB.00657-10
49. Stein S, Lohmann C, Schafer N, Hofmann J, Rohrer L, Besler C, et al. SIRT1 decreases Lox-1-mediated foam cell formation in atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2010; 31(18): 2301-2309. doi: 10.1093/eurheartj/ehq107
50. Donato AJ, Magerko KA, Lawson BR, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. SIRT-1 and vascular endothelial dysfunction with ageing in mice and humans. *J Physiol*. 2011; 589(Pt 18): 4545-4554. doi: 10.1113/jphysiol.2011.211219
51. Tao R, Xiong X, DePinho RA, Deng CX, Dong XC. FoxO3 transcription factor and Sirt6 deacetylase regulate low density lipoprotein (LDL)-cholesterol homeostasis via control of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (Pcsk9) gene expression. *J Biol Chem*. 2013; 288(41): 29252-29259. doi: 10.1074/jbc.M113.481473
52. Tseng AH, Shieh SS, Wang DL. SIRT3 deacetylates FOXO3 to protect mitochondria against oxidative damage. *Free Radic Biol Med*. 2013; 63: 222-234. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.002
53. Paulin R, Dromparis P, Sutendra G, Gurtu V, Zervopoulos S, Bowers L, et al. Sirtuin 3 deficiency is associated with inhibited mitochondrial function and pulmonary arterial hypertension in rodents and humans. *Cell Metab*. 2014; 20(5): 827-839. doi: 10.1016/j.cmet.2014.08.011
54. Lin CH, Chen J, Ziman B, Marshall S, Maizel J, Goligorsky MS. Endostatin and kidney fibrosis in aging: a case for antagonistic pleiotropy? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014; 306(12): H1692-H1699. doi: 10.1152/ajpheart.00064.2014
55. Balestrieri ML, Rizzo MR, Barbieri M, Paolisso P, D'Onofrio N, Giovane A, et al. Sirtuin 6 expression and inflammatory activity in diabetic atherosclerotic plaques: effects of incretin treatment. *Diabetes*. 2015; 64(4): 1395-1406. doi: 10.2337/db14-1149
56. Maksin-Matveev A, Kanfi Y, Hochhauser E, Isak A, Cohen HY, Shainberg A. Sirtuin 6 protects the heart from hypoxic damage. *Exp Cell Res*. 2015; 330(1): 81-90. doi: 10.1016/j.yexcr.2014.07.013
57. Oganov RG, Zakirova NE, Zakirova AN, Salakhova GM, Plotnikova MR. Immuno-inflammatory responses in acute coronary syndrome. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2007; 5: 15-19. (In Russ.). doi: 10.20996/1819-6446-2007-3-5-6-8
58. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, Sukhova GK, Neote K, Libby P, et al. Differential expression of three T-lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest*. 1999; 104(8): 1041-1050. doi: 10.1172/JCI6993
59. Szodoray P, Timar O, Veres K, Der H, Szomjak E, Lakos G, et al. Th1/Th2 imbalance, measured by circulating and intra cytoplasmic inflammatory cytokines-immunological alterations in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Scand J Immunol*. 2006; 64(3): 336-344. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.01816.x

REFERENCES

- Chen J, Goligorsky MS. Premature senescence of endothelial cells: Methusaleh's dilemma. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 290(5): H1729-H1739. doi: 10.1152/ajpheart.01103.2005
- Gorenne I, Kavurma M, Scott S, Bennett M. Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2006; 72(1): 9-17. doi: 10.1016/j.cardiores.2006.06.004
- Erusalimsky JD. Vascular endothelial senescence: from mechanisms to pathophysiology. *J Appl Physiol* (1985). 2009; 106(1): 326-332. doi: 10.1152/japplphysiol.91353.2008
- Van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature*. 2014; 509(7501): 439-446. doi: 10.1038/nature13193
- Denisova TP, Lipatova TE, Alipova LN, Yegorova AV. Interaction of atherosclerosis and ageing: Is there any discussion questionable? *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2018; 14(2): 322-327. (In Russ.).
- Tyrrell DJ, Goldstein DR. Ageing and atherosclerosis: Vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6. *Nat Rev Cardiol*. 2021; 18(1): 58-68. doi: 10.1038/s41569-020-0431-7
- Vasko R, Xavier S, Chen J, Lin CH, Ratliff B, Rabadi M, et al. Endothelial sirtuin 1 deficiency perpetuates nephrosclerosis through downregulation of matrix metalloproteinase-14: Relevance to fibrosis of vascular senescence. *J Am Soc Nephrol*. 2014; 25(2): 276-291. doi: 10.1681/ASN.2013010069
- Schug TT, Xu Q, Gao H, Peres-da-Silva A, Draper DW, Fessler MB, et al. Myeloid deletion of SIRT1 induces inflammatory signaling in response to environmental stress. *Mol Cell Biol*. 2010; 30(19): 4712-4721. doi: 10.1128/MCB.00657-10
- Stein S, Lohmann C, Schafer N, Hofmann J, Rohrer L, Besler C, et al. SIRT1 decreases Lox-1-mediated foam cell formation in atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2010; 31(18): 2301-2309. doi: 10.1093/eurheartj/ehq107
- Donato AJ, Magerko KA, Lawson BR, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. SIRT-1 and vascular endothelial dysfunction with ageing in mice and humans. *J Physiol*. 2011; 589(Pt 18): 4545-4554. doi: 10.1113/jphysiol.2011.211219
- Tao R, Xiong X, DePinho RA, Deng CX, Dong XC. FoxO3 transcription factor and Sirt6 deacetylase regulate low density lipoprotein (LDL)-cholesterol homeostasis via control of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (Pcsk9) gene expression. *J Biol Chem*. 2013; 288(41): 29252-29259. doi: 10.1074/jbc.M113.481473
- Tseng AH, Shieh SS, Wang DL. SIRT3 deacetylates FOXO3 to protect mitochondria against oxidative damage. *Free Radic Biol Med*. 2013; 63: 222-234. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.002
- Paulin R, Dromparis P, Sutendra G, Gurtu V, Zervopoulos S, Bowers L, et al. Sirtuin 3 deficiency is associated with inhibited mitochondrial function and pulmonary arterial hypertension in rodents and humans. *Cell Metab*. 2014; 20(5): 827-839. doi: 10.1016/j.cmet.2014.08.011
- Lin CH, Chen J, Ziman B, Marshall S, Maizel J, Goligorsky MS. Endostatin and kidney fibrosis in aging: a case for antagonistic pleiotropy? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014; 306(12): H1692-H1699. doi: 10.1152/ajpheart.00064.2014
- Balestrieri ML, Rizzo MR, Barbieri M, Paolisso P, D'Onofrio N, Giovane A, et al. Sirtuin 6 expression and inflammatory activity in diabetic atherosclerotic plaques: effects of incretin treatment. *Diabetes*. 2015; 64(4): 1395-1406. doi: 10.2337/db14-1149
- Maksin-Matveev A, Kanfi Y, Hochhauser E, Isak A, Cohen HY, Shainberg A. Sirtuin 6 protects the heart from hypoxic damage. *Exp Cell Res*. 2015; 330(1): 81-90. doi: 10.1016/j.yexcr.2014.07.013
- Oganov RG, Zakirova NE, Zakirova AN, Salakhova GM, Plotnikova MR. Immuno-inflammatory responses in acute coronary syndrome. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2007; 5: 15-19. (In Russ.). doi: 10.20996/1819-6446-2007-3-5-6-8
- Mach F, Sauty A, Iarossi AS, Sukhova GK, Neote K, Libby P, et al. Differential expression of three T-lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest*. 1999; 104(8): 1041-1050. doi: 10.1172/JCI6993
- Szodoray P, Timar O, Veres K, Der H, Szomjak E, Lakos G, et al. Th1/Th2 imbalance, measured by circulating and intra cytoplasmic inflammatory cytokines-immunological alterations in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Scand J Immunol*. 2006; 64(3): 336-344. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.01816.x

20. Lee YW, Lee WH, Kim PH. Oxidative mechanisms of IL-4-induced IL-6 expression in vascular endothelium. *Cytokine*. 2010; 49(1): 73-79. doi: 10.1016/j.cyto.2009.08.009
21. Altara R, Gu YM, Struijker-Boudier HA, Thijss L, Staessen JA, Blankesteijn WM. Left ventricular dysfunction and CXCR3 ligands in hypertension: From animal experiments to a population-based pilot study. *PloS One*. 2015; 10(10): e0141394. doi: 10.1371/journal.pone.0141394
22. Chalubinski M, Wojdan K, Luczak E, Gorzelak P, Borowiec M, Gajewski A, et al. IL-33 and IL-4 impair barrier functions of human vascular endothelium via different mechanisms. *Vascul Pharmacol*. 2015; 73: 57-63. doi: 10.1016/j.vph.2015.07.012
23. Khokhlov AN, Klebanov AA, Karmushakov AF, Shilovsky GA, Nasonov MM, Morgunova GV. Testing of anti-aging drugs in experiments on cell cultures: Choosing the correct model system. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2014; 1: 13-18. (In Russ.).
24. Yi S, Lin K, Jiang T, Shao W, Huang C, Jiang B, et al. NMR-based metabonomic analysis of HUVEC cells during replicative senescence. *Aging*. 2020; 12(4): 3626-3646. doi: 10.18632/aging.102834
25. Schumann RR, Belka C, Reuter D, Lamping N, Kirschnig CJ, Weber JR, et al. Lipopolysaccharide activates caspase-1 (interleukin-1-converting enzyme) in cultured monocytic and endothelial cells. *Blood*. 1998; 91: 577.
26. Messmer UK, Briner VA, Pfeilschifter J. Tumor necrosis factor- α and lipopolysaccharide induce apoptotic cell death in bovine glomerular endothelial cells. *Kidney Int*. 1999; 55(6): 2322. doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00473.x
27. Pan X, Wu B, Fan X, Xu G, Ou C, Chen M. YAP accelerates vascular senescence via blocking autophagic flux and activating mTOR. *J Cell Mol Med*. 2021; 25(1): 170-183. doi: 10.1111/jcmm.15902
28. Yamashita S, Ogawa K, Iikei T, Udono M, Fujiki T, Katakura Y. SIRT1 prevents replicative senescence of normal human umbilical cord fibroblast through potentiating the transcription of human telomerase reverse transcriptase gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 417(1): 630-634. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.12.021
29. Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, Mostoslavsky R, Vann J, Park SK, et al. SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell*. 2008; 135(5): 907-918. doi: 10.1016/j.cell.2008.10.025
30. Michishita E, McCord RA, Berber E, Mostoslavsky R, Vann J, Park SK, et al. SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin. *Nature*. 2008; 452(7186): 492-496. doi: 10.1038/nature06736
31. Watroba M, Dudek I, Skoda M, Stangret A, Rzodkiewicz P, Szukiewicz D. Sirtuins, epigenetics and longevity. *Ageing Res Rev*. 2017; 40: 11-19. doi: 10.1016/j.arr.2017.08.001
32. Anwar T, Khosla S, Ramakrishna G. Increased expression of SIRT2 is a novel marker of cellular senescence and is dependent on wild type p53 status. *Cell Cycle*. 2016; 15(14): 1883-1897. doi: 10.1080/15384101.2016.1189041
33. Son MJ, Kwon Y, Son T, Cho YS. Restoration of mitochondrial NAD(+) levels delays stem cell senescence and facilitates reprogramming of aged somatic cells. *Stem Cells*. 2016; 34(12): 2840-2851. doi: 10.1002/stem.2460
34. Chen J, Xie JJ, Jin MY, Gu YT, Wu CC, Guo WJ, et al. Sirt6 overexpression suppresses senescence and apoptosis of nucleus pulposus cells by inducing autophagy in a model of intervertebral disc degeneration. *Cell Death Dis*. 2018; 9(2): 56. doi: 10.1038/s41419-017-0085-5
35. Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB, Pang WW, Fischer MR, Gellon L, et al. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell*. 2006; 124(2): 315-329. doi: 10.1016/j.cell.2005.11.044
36. Yao H, Chung S, Hwang JW, Rajendrasozhan S, Sundar IK, Dean DA, et al. SIRT1 protects against emphysema via FOXO3-mediated reduction of premature senescence in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122(6): 2032-2045. doi: 10.1172/JCI60132
37. Zu Y, Liu L, Lee MY, Xu C, Liang Y, Man RY, et al. SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells. *Circ Res*. 2010; 106(8): 1384-1393. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.215483
38. Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S, et al. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J*. 2002; 21(10): 2383-2396. doi: 10.1093/emboj/21.10.2383
39. Rimmele P, Bigarella CL, Liang R, Izac B, Dieguez-Gonzalez R, Barbet G, et al. Aging-like phenotype and defective lineage specification in SIRT1-deleted hematopoietic stem and progenitor cells. *Stem Cell Reports*. 2014; 3(1): 44-59. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.04.015
40. Chen J, Xavier S, Moskowitz-Kassai E, Chen R, Lu CY, Sanduski K, et al. Cathepsin cleavage of sirtuin 1 in endothelial progenitor cells mediates stress-induced premature senescence. *Am J Pathol*. 2012; 180(3): 973-983. doi: 10.1016/j.japath.2011.11.033

Сведения об авторах

- Савицкий Дмитрий Владимирович** – научный сотрудник лаборатории патологической физиологии сердечно-сосудистой системы, АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», e-mail: dmitrijsavitckij@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9990-4776>
- Линькова Наталья Сергеевна** – доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией молекулярных механизмов старения, АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»; профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Академия постдипломного образования, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России; старший научный сотрудник лаборатории «Проблем старения», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: miayy@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5156-5421>
- Кожевникова Екатерина Олеговна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биогеронтологии, АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», e-mail: katena_94@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9835-694X>
- Козлов Кирилл Ленарович** – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела клинической геронтологии и гериатрии, АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»; профессор Первой кафедры и клиники хирургии (усовершенствования врачей), ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, e-mail: kozlov_kl@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3660-5864>

Пальцева Екатерина Михайловна – доктор медицинских наук, доцент, научный сотрудник, ФГБУ «Российская академия наук», e-mail: paltseva-k@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1921-2543>

Кветная Татьяна Викторовна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биогеронтологии, АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», e-mail: kvetnaia@gerontology.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5587-9740>

Information about the authors

Dmitriy V. Savitskiy – Research Officer at the Laboratory of Pathologic Physiology of Cardiovascular System, Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, e-mail: dmitrijsavitckij@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9990-4776>

Natalia S. Linkova – Dr. Sc. (Biol.), Docent, Head of the Laboratory of Molecular Mechanisms of Aging, Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology; Professor at the Department of Therapy, Geriatrics and Anti-Aging Medicine, Academy of Postgraduate Education, Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies, FMBA of Russia; Senior Research Officer at the Laboratory of Problems of Aging, Belgorod State National Research University, e-mail: miayy@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5156-5421>

Ekaterina O. Kozhevnikova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Biogerontology, Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, e-mail: katena_94@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9835-694X>

Kirill L. Kozlov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Clinical Gerontology and Geriatrics, Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Professor at the First Department and Clinic of Surgery (Advanced Medical Education), Kirov Military Medical Academy, e-mail: kozlov_kl@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3660-5864>

Ekaterina M. Paltseva – Dr. Sc. (Med.), Docent, Research Officer, Russian Academy of Sciences, e-mail: paltseva-k@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1921-2543>

Tatiana V. Kvetnaia – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory of Biogerontology, Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, e-mail: kvetnaia@gerontology.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5587-9740>

ЦИТОКИНЫ И HIF-1 α КАК ФАКТОРЫ ДИСРЕГУЛЯЦИИ МИГРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МОНОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИЦ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

РЕЗЮМЕ

Денисенко О.А.^{1, 2},
Чумакова С.П.¹,
Уразова О.И.^{1, 3},
Шипулин В.М.^{1, 4},
Пряхин А.С.⁴

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»

Минздрава России (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

² ОГБУЗ «Томский региональный центр крови» (634045, г. Томск, ул. Вершинина, 45, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники»

(634050, г. Томск, пр. Ленина, 40, Россия)

⁴ Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Денисенко Ольга Анатольевна,
e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru

Актуальность. Ангиогенная эндотелиальная дисфункция и прогениторные эндотелиальные клетки (ПЭК) при ишемической кардиомиопатии (ИКМП) изучены недостаточно.

Цель. Установить характер изменений цитокинового профиля и HIF-1 α в крови и костном мозге, ассоциированный с нарушением дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов ($CD14^+VEGFR2^+$) в костном мозге и их миграции в кровь, у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), страдающих и не страдающих ИКМП.

Методы. Проведено однокоментное, одноцентровое, наблюдательное исследование случай-контроль с участием 74 больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП (30 и 44 человек соответственно), и 25 здоровых доноров. У больных ИБС получали костный мозг во время операции коронарного шунтирования, периферическую кровь – до операции. У здоровых доноров забирали периферическую кровь. В костном мозге и крови определяли численность $CD14^+VEGFR2^+$ методом проточной цитофлуориметрии; концентрацию IL-6, TNF- α , M-CSF, GM-CSF, MCP-1 и HIF-1 α – методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Установлено высокое содержание $CD14^+VEGFR2^+$ -клеток в крови у больных ИБС без кардиомиопатии относительно пациентов с ИКМП на фоне сопоставимого количества этих клеток в миелоидной ткани. Вне зависимости от наличия ИКМП в плазме крови у больных ИБС обнаруживался избыток TNF- α , нормальная концентрация IL-6, GM-CSF, HIF-1 α и дефицит M-CSF, а в супернатанте костного мозга – концентрация IL-6 и TNF- α превышала таковую в плазме крови (уровень GM-CSF – только у больных без кардиомиопатии). При ИКМП в плазме крови определялась нормальная концентрация MCP-1, а при ИБС без кардиомиопатии – повышенное его содержание.

Заключение. Формирование ИКМП сопровождается недостаточной активацией миграции ПЭК с фенотипом $CD14^+VEGFR2^+$ в кровь без нарушения их дифференцировки в костном мозге, что ассоциировано с отсутствием нарастания концентрации MCP-1 в плазме крови, присущего больным ИБС без кардиомиопатии, но не связано с концентрацией в ней M-CSF, GM-CSF, HIF-1 α , IL-6 и TNF- α .

Ключевые слова: цитокины, ишемическая кардиомиопатия, ишемическая болезнь сердца, прогениторные эндотелиальные клетки, индуцируемый гипоксией фактор, костный мозг

Статья получена: 19.03.2022

Статья принята: 16.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Пряхин А.С. Цитокины и HIF-1 α как факторы дисрегуляции миграции и дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов в патогенезе ишемической кардиомиопатии. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 21-30. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.3

CYTOKINES AND HIF-1 α AS DYSREGULATION FACTORS OF MIGRATION AND DIFFERENTIATION OF MONOCYTE PROGENITOR CELLS OF ENDOTHELIOCYTES IN THE PATHOGENESIS OF ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY

ABSTRACT

Denisenko O.A.^{1,2},
 Chumakova S.P.¹,
 Urazova O.I.^{1,3},
 Shipulin V.M.^{1,4},
 Pryakhin A.S.⁴

¹ Siberian State Medical University (Moskovskiy tract 2, Tomsk 634050, Russian Federation)

² Tomsk Regional Blood Center (Vershinina str. 45, Tomsk 634045, Russian Federation)

³ Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics (Lenin ave. 40, Tomsk 634050, Russian Federation)

⁴ Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Kievskaya str. 111a, Tomsk 634012, Russian Federation)

Corresponding author:
 Olga A. Denisenko,
 e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru

Background. Angiogenic endothelial dysfunction and progenitor endothelial cells (EPCs) in ischemic cardiomyopathy (ICMP) have not been studied enough.

The aim. To establish the nature of changes in the cytokine profile and HIF-1 α in blood and bone marrow associated with impaired differentiation of monocytic progenitor cells of endotheliocytes (CD14+VEGFR2+) in the bone marrow and their migration into the blood in patients with coronary heart disease (CHD), suffering and not suffering from ICMP.

Materials and methods. A single-stage, single-centre, observational case-control study was conducted involving 74 patients with CHD, suffering and not suffering from ICMP (30 and 44 people, respectively), and 25 healthy donors. In patients with CHD, bone marrow was obtained during coronary bypass surgery, peripheral blood – before surgery. Healthy donors were taken peripheral blood. The number of CD14+VEGFR2+ in bone marrow and blood was determined by flow cytometry; the concentration of IL-6, TNF- α , M-CSF, GM-CSF, MCP-1 and HIF-1 α – by the method of enzyme immunoassay.

Results. A high content of CD14+VEGFR2+ cells in the blood of patients with CHD without cardiomyopathy was established relative to patients with ICMP against the background of a comparable number of these cells in myeloid tissue. Regardless of the presence of ICMP in the blood, patients with CHD showed an excess of TNF- α , a normal concentration of IL-6, GM-CSF, HIF-1 α and a deficiency of M-CSF, and in the bone marrow supernatant, the concentration of IL-6 and TNF- α exceeded that in the blood plasma (the level of GM-CSF – only in patients without cardiomyopathy). With ICMP, the normal concentration of MCP-1 was determined in the blood plasma, and with CHD without cardiomyopathy, its elevated content was determined.

Conclusion. The formation of ICMP is accompanied by insufficient activation of EPCs migration with the CD14+VEGFR2+ phenotype in blood without disruption of their differentiation in the bone marrow, which associated with the absence of an increase in the concentration of MCP-1 in blood plasma and not associated with the plasma content of M-CSF, GM-CSF, HIF-1 α , IL-6 and TNF- α .

Key words: cytokines, ischemic cardiomyopathy, coronary heart disease, progenitor endothelial cells, hypoxia-inducible factor, bone marrow

Received: 19.03.2022

Accepted: 16.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Denisenko O.A., Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Pryakhin A.S. Cytokines and HIF-1 α as dysregulation factors of migration and differentiation of monocyte progenitor cells of endotheliocytes in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 21-30. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.3

ОБОСНОВАНИЕ

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) считается более поздней стадией ишемической болезни сердца (ИБС) и до сих пор является одной из наиболее частых причин смертности во всём мире. Показано, что смертность у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) превышает 50 % в течение 5 лет [1]. К основным патофизиологическим компонентам ИКМП относят дилатацию всех камер сердца, гипертрофию (преимущественно левого желудочка), снижение сократительной функции с дальнейшим развитием сердечной недостаточности [2]. Считается, что в основе развития ИКМП лежит ишемия миокарда, выступающая в роли триггера таких процессов, как некроз, фиброз, активация тканевой ренин-ангиотензиновой системы, гибернация миокарда, развитие контрактур миофибрилл и, в конечном счёте, апоптоз, приводящий к снижению содержания кардиомиоцитов в единице объёма миокарда и ремоделированию желудочков [3]. Известно, что эндотелий играет важную роль в физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы, модулируя тонус сосудов, гемокоагуляцию, обмен жидкости и растворённых веществ, а также воспаление и ангиогенез. Сосудистый тонус контролируется балансом между вазоконстрикторами и вазодилататорами, секретируемыми в том числе эндотелием. Одним из основных сосудорасширяющих веществ является оксид азота (NO). Он играет фундаментальную роль в поддержании вазомоторной функции, а также ингибирует адгезию лейкоцитов, агрегацию тромбоцитов, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов и секрецию внеклеточного матрикса [4–6]. При нарушении гомеостаза сосудов повреждённые эндотелиальные клетки синтезируют и высвобождают различные виды воспалительных факторов и молекулы адгезии, в том числе интерлейкин-6 (IL-6), моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1), молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1), которые облегчают привлечение, миграцию и адгезию циркулирующих лейкоцитов к поверхности эндотелия сосудов и усугубляют воспалительное повреждение эндотелия [6]. Основываясь на вышеописанных данных, можно предположить, что эндотелиальная дисфункция (ЭД) рассматривается в основном как дисбаланс вазоконстрикторов и вазодилататоров, а процессам регенерации эндотелия не уделяется должного внимания. В связи с этим, в изучении патогенеза ИКМП важным является установление механизмов, лежащих в основе регенерации эндотелия как при ИБС в целом, так и при ИКМП в частности. Перспективным является изучение прогениторных эндотелиальных клеток (ПЭК) и механизмов их мобилизации из костного мозга, адгезии и созревания, а также цитокинов, участвующих во всех стадиях дифференцировки этих клеток.

Прогениторные эндотелиальные клетки (ПЭК) представляют собой субпопуляцию клеток, происходящих в том числе из гемопоэтических стволовых клеток костного мозга, которые при ангиогенных стимулах дифференцируются в эндотелиальные клетки [7]. ПЭК впервые были

обнаружены в периферической крови T. Asahara и соавт. в 1997 г. [8]. Установлено, что ПЭК существуют в основном в костном мозге, но также могут быть выделены из периферической крови и стенок сосудов [9]. Костный мозг содержит большое количество гемопоэтических стволовых клеток и стромальных клеток костного мозга. В таком микроокружении клетки-предшественницы дифференцируются на разных стадиях и становятся разными подмножествами клеток. В нормальных физиологических условиях эндотелиальные клетки-предшественницы составляют всего 0,01 % от общего количества циркулирующих моноцитов [10]. При воздействии экзогенных и эндогенных физиологических (физические нагрузки, эстрогены и др.) и патологических (ишемия, гипоксия и др.) факторов ПЭК мобилизуются из костного мозга и привлекаются в зону повреждения под действием цитокинов и HIF-1 α [10]. Процесс мобилизации ПЭК активируют колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF-1), IL-6 [8, 11], MCP-1 [8, 12], фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) [13], колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF) [14]. Показано, что ПЭК участвуют в ангиогенезе непосредственно путём включения в сосудистую стенку в области роста сосудов и косвенно путём секреции проангиогенных факторов [9]. В литературе встречаются данные, что под воздействием проангиогенных стимулов *in vitro* мононуклеарные клетки крови могут приобретать эндотелиальные маркеры и морфологию эндотелиоцитов. В исследовании F. Lopes-Coelho и соавт. было выявлено, что некоторые эндотелиальные клетки одновременно экспрессировали CD14 (моноцитарный маркер) и CD31 (маркер эндотелиальных клеток) [7], что указывает на их смешанный фенотип и позволяет предположить актуальность исследования моноцитарных CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ -клеток, относящихся к ранним клеткам-предшественницам эндотелиоцитов (CD34 $^{+}$ CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ и CD34 $^{-}$ CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$) [15]. Между тем, анализ литературы показал, что информация о содержании CD34 $^{+}$ CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ - и CD34 $^{-}$ CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ -форм ПЭК и в общем о моноцитарных клетках-предшественницах эндотелиоцитов CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ в костном мозге или крови у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями практически не встречается. Кроме того, в связи с невозможностью получения красного костного мозга, как у здоровых лиц, так и у больных с негематологическими заболеваниями (пункция проводится по строгим показаниям), изучение медиаторных («цитокиновых») механизмов генерации ПЭК в костном мозге затруднено. Учитывая это, исследование влияния цитокинового фона миелоидной ткани на численность в ней ПЭК у кардиохирургических больных с ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, у которых взятие костного мозга можно осуществить во время операции, позволит получить новые актуальные данные, а именно выявить (или опровергнуть) гуморальные механизмы (посредством M-CSF, GM-CSF, VEGF, MCP-1, HIF-1, TNF- α , IL-6) нарушения генерации и миграции ПЭК, как один из патогенетических факторов ИКМП, о роли которого в патогенезе этого заболевания ничего не известно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить характер изменений цитокинового профиля и HIF-1 α в крови и костномозговом ассоциированном с нарушением дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов в костномозговом и их миграции в кровь, у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

МЕТОДЫ

Проведено одномоментное, контролируемое (случай-контроль), одноцентровое, наблюдательное исследование с февраля 2017 г. по май 2021 г. с участием 74 больных ИБС со стенокардией напряжения II–IV функционального класса и недостаточностью кровообращения II–III класса по NYHA, страдающих ИКМП (30 человек) и не страдающих ИКМП (44 человека), имеющих инфаркт миокарда в анамнезе. Группу сравнения составили 25 доноров, находящихся в состоянии здоровья (не предъявляющих каких-либо жалоб, не имеющих при-

знаков патологии сердечно-сосудистой системы, а также соответствующего диагноза в анамнезе), сопоставимых по полу и возрасту с когортами пациентов. Критериями диагностики ИКМП являлось: фракция выброса левого желудочка $\leq 40\%$, острый инфаркт миокарда или реваскуляризация в анамнезе, стеноз $\geq 75\%$ левой основной или проксимальной части левой нисходящей артерии или $\geq 75\%$ стеноз двух или более эпикардиальных сосудов [16]. Больные не имели статистически значимых отличий по величине функционального класса стенокардии и сердечной недостаточности, частоте встречаемости гипертонической болезни (III стадия), заболеваний желудочно-кишечного тракта и лёгких, но у пациентов с ИКМП определялась большая частота хронических нарушений мозгового кровообращения, у больных ИБС без кардиомиопатии – сахарного диабета 2-го типа (табл. 1). Критериями исключения больных из исследования считали наличие аутоиммунных заболеваний, аллергического процесса в стадии обострения, опухолевого процесса, гипопластической, В₁₂- или фолиеводефицитной анемий, лейкозов и других гематологических заболеваний и синдромов, хронических инфекций (вирусных гепатитов, сифилиса, ВИЧ-инфекции), проведе-

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ
С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА,
СТРАДАЮЩИХ И НЕ СТРАДАЮЩИХ ИШЕМИЧЕСКОЙ
КАРДИОМИОПАТИЕЙ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS
WITH CORONARY HEART DISEASE, SUFFERING
AND NOT SUFFERING FROM ISCHEMIC
CARDIOMYOPATHY

| Показатели | Больные ИБС без ИКМП | Больные ИБС с ИКМП | <i>p</i> |
|---|----------------------|----------------------|----------|
| Количество больных | 44 | 30 | – |
| Мужчины, % | 36 (81,81 %) | 27 (90,00 %) | 0,658 |
| Женщины, % | 8 (18,18 %) | 3 (10,00 %) | 0,658 |
| Возраст, лет | 64,0 [59,5; 68,0] | 61,0 [56,0; 64,0] | 0,110 |
| Функциональный класс стенокардии | | | |
| II | 8 (18,18 %) | 7 (23,33 %) | 0,916 |
| III | 32 (72,73 %) | 20 (66,67 %) | 0,870 |
| IV | 4 (9,09 %) | 3 (10,00 %) | 0,714 |
| Функциональный класс недостаточности кровообращения (по NYHA) | | | |
| I | 4 (9,09 %) | 2 (6,67 %) | 0,840 |
| II | 18 (40,91 %) | 19 (63,33 %) | 0,187 |
| III | 22 (50,00 %) | 9 (30,00) | 0,240 |
| Фракция выброса ЛЖ, % | 59,50 [50,25; 67,00] | 30,00 [22,00; 36,00] | < 0,001 |
| Конечный систолический индекс ЛЖ, мл/м ² | 30,47 [25,54; 34,33] | 14,58 [13,00; 15,83] | < 0,001 |
| Конечный диастолический индекс ЛЖ, мл/м ² | 18,07 [14,60; 27,05] | 80,93 [72,16; 101,2] | < 0,001 |
| Гипертоническая болезнь III степени | 36 (81,81 %) | 21 (70,00 %) | 0,517 |
| ХНМК, % | 26 (59,1 %) | 27 (90,0 %) | 0,023 |
| Сахарный диабет 2-го типа | 14 (31,82 %) | 2 (6,67 %) | 0,046 |
| Лёгочные заболевания | 6 (13,67 %) | 5 (16,67 %) | 0,929 |

Примечание. ЛЖ – левый желудочек; ХНМК – хронические нарушения мозгового кровообращения; *p* – уровень статистической значимости различий между группами больных.

ние до операции курсов лечения железосодержащими препаратами, эритропоэтиновой или иммуносупрессивной терапии и наличие острых инфекционных заболеваний менее, чем за 3 недели до операции, а также отказ пациента от исследования. Все больные ИБС и здоровые доноры дали добровольное согласие на участие в исследовании, получившем одобрение локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 5046 от 28.11.2016).

Пациентам была проведена операция коронарного шунтирования в сочетании с реконструкцией полости левого желудочка в условиях искусственного кровообращения на базе отделения сердечно-сосудистой хирургии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт кардиологии» (НИИ кардиологии Томского НИМЦ). На дооперационном этапе больным ИБС обеих групп исследования проводилось сходное лечение лекарственными средствами: антиангиальная терапия с применением нитратов продлённого действия, бета1-адреноблокаторов, блокаторов Ca^{2+} -каналов, коррекция гемостаза путём назначения антиагрегантов и коррекция липидного обмена с использованием статинов. Премедикация и индукция в наркоз больных обеих групп исследования проводилась аналогичным образом с использованием седативных и наркозных средств, наркотических анальгетиков и миорелаксантов (диазепама, кетамина, фентамила, промедола, пипекуриона) в сопоставимых дозах.

Непосредственно перед операцией у всех больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, производился забор 5 мл периферической крови из локтевой вены, которую стабилизировали гепарином (25 Ед/мл). Во время операции после получения доступа к сердцу путём срединной стернотомии и до начала искусственного кровообращения осуществлялся забор красного костного мозга из разреза грудины в количестве 2 мл в пробирку с добавлением гепарина (25 Ед/мл). В образцах крови и костного мозга у больных обеих групп исследования и в крови здоровых доноров на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России определяли относительное содержание моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов $CD14^+VEGFR2^+$ методом проточной цитофлуориметрии, принимая за 100 % все клетки, положительные по $CD14$. Для идентификации моноцитов использовали моноклональные антитела $CD14$ -FITC и $VEGFR(CD309)$ -Alexa Fluor 647 («BD Biosciens», США) и лизирующий раствор (BD Biosciences, США) согласно методике, изложенной в инструкциях производителя, с использованием проточного цитофлуориметра «Accuri C6» (BD Biosciences, США).

Плазму крови и миелоплазму (надосадок костного мозга) больных получали путём центрифугирования в течение 10 мин соответствующего биоматериала при 200 г и температуре +18 °C, затем хранили при температуре -80 °C. Концентрацию фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкина-6 (IL-6), колониестимулирующего фактора макрофагов (M-CSF), колониестимулирующего

фактора гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF), моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1) и индуцируемого гипоксией фактора 1а (HIF-1 α) определяли на базе кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа «альфа-TNF-ИФА-БЕСТ», «IL-6-ИФА-БЕСТ», «RayBio Human M-CSF ELISA Kit» (RayBiotech, США), «Human GM-CSF Instant ELISA» (eBioscience, Австрия), «MCP-1-ИФА-БЕСТ» (Вектор-БЕСТ, г. Новосибирск), «Human HIF-1alpha ELISA Kit» («Cloud-Clone Corp», США) и микропланшетного фотометра «Multiskan EX» (Thermo Labsystems (Shanghai) Co., Ltd., Китай). Концентрацию MCP-1 и HIF-1 α определяли у представителей исследуемых групп только в плазме крови, поскольку MCP-1 является хемоаттрактантом, но не гемопоэтином и не влияет на пролиферацию и дифференцировку клеток в костном мозге [12], а HIF-1 α активно синтезируется в тканях при гипоксии [8], которая при циркуляторной гипоксии локализуется в нижних конечностях, при ишемии сердца – в миокарде, влияя на концентрацию HIF-1 α в периферическом кровотоке, и не затрагивает область грудины, из которой производился забор костного мозга.

Для статистического описания результатов исследования вычисляли медиану, 25-й и 75-й перцентили. Ввиду малочисленности выборок и несоответствия распределения выборочных данных нормальному закону, определяемому с использованием теста Шапиро – Уилка, применяли непараметрические методы статистического анализа. Сравнительный анализ нескольких независимых выборок проводили с помощью рангового критерия Крускала – Уоллиса; для проверки нулевой гипотезы при попарном сравнении изучаемых выборок использовали U-критерий Манна – Уитни с введением поправки Бенджамина – Хохберга на множественные сравнения. Результаты считали статистически значимыми при уровне p менее 0,05. Данные анализировали с помощью Statistica for Windows 10.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведённых исследований установлено, что содержание моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов $CD14^+VEGFR2^+$ в костном мозге было сопоставимым у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП (табл. 2). При этом в крови численность $CD14^+VEGFR2^+$ -клеток в обеих группах пациентов характеризовалась почти 4-кратным увеличением относительно показателей у здоровых доноров, однако у пациентов с ИКМП количество этих клеток в крови не достигало значений больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 2).

Концентрация цитокинов IL-6, TNF- α , GM-CSF и M-CSF в супернатанте костного мозга не различалась между группами пациентов с ИБС. Обращала на себя внимание лишь тенденция к увеличению содержания TNF- α в миеллярной ткани у больных ИКМП по сравнению с больными ИБС без кардиомиопатии (табл. 2). При этом содер-

ТАБЛИЦА 2

СОДЕРЖАНИЕ CD14⁺VEGFR2⁺-КЛЕТОК, HIF-1 α И ЦИТОКИНОВ В КРОВИ И КОСТНОМ МОЗГЕ У БОЛЬНЫХ ИБС, СТРАДАЮЩИХ И НЕ СТРАДАЮЩИХ ИКМП, Me [Q1; Q3]

TABLE 2

THE CONTENT CD14⁺VEGFR2⁺-CELLS, OF HIF-1 α AND CYTOKINES IN THE BONE MARROW AND IN THE BLOOD IN CHD PATIENTS WITH AND WITHOUT ICMP, Me [Q1; Q3]

| Параметры | Здоровые доноры (кровь) | Больные ИБС без ИКМП | | Больные ИБС с ИКМП | |
|---|----------------------------|---|--|---|---|
| | | кровь | костный мозг | кровь | костный мозг |
| Содержание CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ -клеток, % | 1,84 [0,65; 4,13] | 7,80 [7,23; 8,17] p_K = 0,006 | 7,23 [5,49; 8,07] <i>p₁</i> = 0,216 | 7,00 [5,67; 7,15] p_K = 0,005 p₂ = 0,023 | 7,09 [6,35; 8,48] <i>p₁</i> = 0,102 <i>p₂</i> = 0,660 |
| IL-6, пг/мл | 1,88 [1,10; 2,10] | 2,20 [1,80; 5,70] <i>p_K</i> = 0,564 | 6,50 [4,10; 10,96] p₁ = 0,008 | 2,00 [1,70; 3,20] <i>p_K</i> = 0,572 <i>p₂</i> = 0,677 | 6,0 [4,30; 7,20] p₁ = 0,009 <i>p₂</i> = 0,514 |
| TNF- α , пг/мл | 0,75 [0,04; 0,86] | 1,16 [0,90; 1,82] p_K = 0,047 | 10,80 [9,90; 21,84] p₁ = 0,001 | 2,08 [1,04; 3,60] p_K = 0,032 <i>p₂</i> = 0,615 | 18,06 [14,15; 19,40] p₁ = 0,002 <i>p₂</i> = 0,269 |
| GM-CSF, пг/мл | 3,40 [2,80; 4,70] | 4,30 [4,00; 4,70] <i>p_K</i> = 0,804 | 8,70 [5,10; 19,50] p₁ = 0,036 | 4,60 [4,10; 5,20] <i>p_K</i> = 0,612 <i>p₂</i> = 0,708 | 9,60 [5,00; 21,40] <i>p₁</i> = 0,065 <i>p₂</i> = 0,817 |
| M-CSF, пг/мл | 2,50 [1,60; 4,40] | 0,70 [0,15; 1,60] p_K = 0,030 | 3,60 [1,20; 8,40] p₁ = 0,024 | 1,20 [0,60; 2,00] p_K = 0,038 <i>p₂</i> = 0,053 | 1,60 [0,60; 4,00] <i>p₁</i> = 0,164 <i>p₂</i> = 0,792 |
| MCP-1, пг/мл | 168,0 [137,0; 181,0] | 225,0 [182,0; 280,0] p_K = 0,048 | — | 205,0 [170,0; 260,0] <i>p_K</i> = 0,177 <i>p₂</i> = 0,660 | — |
| HIF-1 α , нг/мл | 0,090 [0,082; 0,108] | 0,074 [0,056; 0,098] <i>p_K</i> = 0,422 | — | 0,050 [0,044; 0,080] <i>p_K</i> = 0,099 <i>p₂</i> = 0,068 | — |

Примечание. p_K – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток у здоровых доноров; p_1 – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток в крови у той же группы больных; p_2 – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток у больных ишемической болезнью сердца.

жение всех изученных цитокинов в супернатанте костного мозга превышало таковое в плазме крови у больных как страдающих, так и не страдающих ИКМП, за исключением равной между тканями (костным мозгом и кровью) концентрации M-CSF и GM-CSF у пациентов с ИКМП (табл. 2).

В плазме крови концентрация IL-6 и GM-CSF у больных ИБС определялась на уровне физиологических значений вне зависимости от наличия ИКМП, но обнаруживался избыток TNF- α на фоне дефицита M-CSF (относительно нормы), наиболее выраженного у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 2). Кроме того, у данной когорты пациентов в плазме крови регистрировалось высокое содержание MCP-1, а у пациентов с ИКМП – отчетливая тенденция к снижению уровня HIF-1 α по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования обнаружено почти 4-кратное увеличение содержания CD14⁺VEGFR2⁺-клеток в крови у больных ИБС обеих групп по сравнению со здоровыми донорами (табл. 2). Данный факт можно рассматривать как компенсаторную реакцию организма в виде усиления репарации эндотелия в ответ на атеросклеротическое поражение сосудов и гипоксию тканей, лежащих в основе ИБС, осложнённой и неосложнённой ИКМП. Между тем, при равной между группами больных численности CD14⁺VEGFR2⁺-клеток в костном мозге, в крови их содержание у пациентов с ИКМП было статистически значимо ниже, чем у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 2). Это может расцениваться как недостаточность репарации сосудов при ИКМП и указывать на дисрегуляцию процессов миграции моноцитарных клеток-пред-

шественниц эндотелиоцитов $CD14^+VEGFR2^+$ из костного мозга в кровь при ИКМП на фоне достаточной их пролиферации и дифференцировки в костном мозге (относительно ИБС без кардиомиопатии). Считается, что ПЭК мигрируют в зону ишемии/гипоксии посредством градиентов цитокинов и HIF-1 α и действуют паракринным образом, приводя к пролиферации и стабилизации эндотелиальных клеток. Вместе с тем, ранние ПЭК могут выделять цитокины и создавать микроокружение для дифференцировки поздних ПЭК в зрелые эндотелиальные клетки, а также увеличивать выживаемость последних [7, 15, 17]. Факторы роста, цитокины и HIF-1 α индуцируют мобилизацию ПЭК с помощью различных протеиназ, после чего происходит высвобождение клеток из костного мозга через эндотелиальные синусоиды и поступление в кровоток для дальнейшей дифференцировки в сосудах [7, 18].

Вероятной причиной пониженной миграции ПЭК в кровь при ИКМП может быть отчёлывая тенденция к снижению концентрации HIF-1 α в плазме крови, как относительно больных ИБС без кардиомиопатии, так и относительно здоровых доноров (табл. 2). HIF-1 является основным прямым регулятором функции ПЭК, и его активация способствует их дифференцировке, пролиферации и миграции в зону гипоксии/ишемии. HIF-1 представляет собой транскрипционный комплекс, образованный двумя субъединицами, альфа (HIF-1 α) и бета (HIF-1 β). Его концентрация коррелирует с уровнем молекулярного кислорода в тканях и может активировать экспрессию многих чувствительных к гипоксии генов, что приводит к ряду адаптивных к гипоксии реакций в организме. После индукции синтеза HIF-1 α возрастаёт жизнеспособность эндотелиальных клеток за счёт повышенной экспрессии в них генов VEGF и его рецепторов, активируется ангиогенез [19, 20]. Установлено, что активация и мобилизация ПЭК из костного мозга индуцируется за счёт продукции и высвобождения HIF-1 α , VEGF в ответ на гипоксию периферических тканей. Экспрессия HIF-1 α в гипоксической ткани активируется в зависимости от времени вокруг пограничной зоны ишемии и индуцирует различные сигнальные пути, один из которых включает активацию синтеза VEGF [8]. VEGF взаимодействует с рецепторами VEGFR1 и VEGFR2, находящимися на ПЭК и гемопоэтических стволовых клетках, и активирует матриксную металлопротеиназу 9 (MMP-9), которая, в свою очередь, расщепляет и активирует лиганд Kit (KitL) и индуцирует пролиферацию и миграцию ПЭК и гемопоэтических клеток [21]. Данные E.M. Van Craenenbroeck и соавт. (2011) также демонстрируют уменьшение концентрации HIF-1 у больных с хронической сердечной недостаточностью, что не противоречит полученным нами данным [19]. Это может быть связано с переключением при хронической гипоксии синтеза HIF-1 на HIF-2, имеющих общую субъединицу [22].

Важно отметить, что в плазме крови у пациентов с ИКМП наряду с тенденцией к дефициту HIF-1 α определялась нормальная концентрация хемоаттрактанта MCP-1, избыток которого, напротив, обнаруживался у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 2) и, очевидно, обе-

спечивал элиминацию ПЭК из костного мозга в кровь. Установлено, что активация MCP-1 способствует реэндотелиализации сосудов после повреждения. MCP-1 отвечает за миграцию моноцитов в субэндотелий и привлечение лейкоцитов к месту повреждения [12]. Поэтому $CD14^+VEGFR2^+$ -клетки, как ПЭК моноцитарной природы, могли активно перемещаться в кровоток у больных ИБС без кардиомиопатии под влиянием специфического для моноцитов/макрофагов хемоаттрактанта MCP-1.

Дополнительными факторами, модулирующими численность популяции ПЭК в крови и костном мозге, являются M-CSF и GM-CSF. Последний стимулируют наработку гранулоцитов в миелоидной ткани, а также влияет на пролиферацию, дифференцировку и миграцию ПЭК [21]. M-CSF экспрессируется макрофагами, эндотелиальными клетками и гладкомышечными клетками сосудов. Выделяют три его изоформы: растворимую, гликозилированную и мембранные. Показано, что растворимая форма M-CSF синтезируется в первую очередь эндотелиоцитами, тогда как другие формы синтезируются локально в тканях. M-CSF может влиять на поляризацию и миграцию моноцитов в очаги поражения [14]. Между тем, концентрация M-CSF в плазме крови у пациентов обеих групп была пониженной и в большей степени – у больных ИБС без кардиомиопатии. Однако содержание $CD14^+VEGFR2^+$ -клеток в крови у них, наоборот, определялось выше, чем у пациентов с ИКМП. При этом концентрация M-CSF в супернатанте костного мозга у больных ИБС была сопоставимой между группами. Следовательно, M-CSF, вероятно, имеет большее значение в генерации $CD14^+VEGFR2^+$ -клеток в костном мозге (табл. 2), чем в их миграции в кровоток. Аналогичный вывод можно сделать и для GM-CSF, концентрация которого не имела различий между группами пациентов в крови и костном мозге, а в крови варьировалась в пределах физиологических значений (табл. 2).

Концентрации TNF- α в плазме крови у пациентов обеих групп регистрировалась на более высоком уровне по сравнению со здоровыми донорами (табл. 2), что может указывать на участие этого цитокина в процессах дифференцировки и миграции ПЭК при ИБС вне зависимости от её формы. TNF- α взаимодействует с двумя различными трансмембранными рецепторами, TNFR1 и TNFR2, которые располагаются на разных клетках. TNFR2 строго экспрессируется на иммунных, нервных, эндотелиальных клетках, а также на мезенхимальных стволовых клетках, и его взаимодействие с TNF- α обеспечивает выживание и пролиферацию клеток. Показано, что TNF α /TNFR2 взаимодействие оказывает протективный эффект при ишемическом повреждении сердца и инфаркте миокарда [23]. В *in vivo* эксперименте D.A. Goukassian и соавт. (2007) обнаружено, что выживаемость, мобилизация, дифференцировка ПЭК, экспрессия VEGF и, в конечном счёте, индуцированное ишемией развитие коллатеральных сосудов зависят от сигнального пути TNF α /TNFR2 [24]. Также TNF- α участвует в хоуминге ПЭК, поскольку увеличивает экспрессию интегринов на клеточной поверхности [9]. Более того, у мышей без нокаяута TNFR2 выявлено значительное усиление

ние артериогенеза и ангиогенеза по сравнению с нокутированными мышами [23]. Полученные в настоящем исследовании результаты и данные литературы не противоречат друг другу и указывают на значительную роль TNF- α в процессах дифференцировки и миграции CD14 $^+$ VEGFR2 $^+$ -клеток. Однако этот цитокин, как и IL-6, очевидно, не вовлечён в механизмы нарушения миграции ПЭК при ИКМП, поскольку межгрупповые отличия по концентрации TNF- α и IL-6 в плазме крови и супернатанте костного мозга у больных ИБС не отмечались (табл. 2). При этом *in vitro* IL-6 усиливает пролиферацию и миграцию ПЭК дозозависимым образом. Эти клетки экспрессируют рецептор к IL-6 (gp80 и gp130) и молекулярный механизм пролиферации и миграции ПЭК опосредуется IL-6 через сигнальные пути gp80/gp130, включая последующее фосфорилирование молекул ERK1/2 и STAT-3, что играет решающую роль в формировании микрососудистых трубочек [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при ИКМП дифференцировка моноцитарных клеток-предшественниц с фенотипом CD14 $^+$ VEGFR2 $^+$, являющихся ПЭК, реализуется в костном мозге с участием аналогичных цитокин-зависимых механизмов (IL-6, TNF- α , GM-CSF, M-CSF) и на том же уровне, как и при ИБС без кардиомиопатии. Недостаточное увеличение численности CD14 $^+$ VEGFR2 $^+$ -клеток в крови при ИКМП предрасполагает к пониженной репарации эндотелия и свидетельствует о нарушении миграции ПЭК из костного мозга. Данное явление при ИКМП ассоциировано с отчётливой тенденцией к снижению HIF-1 α в условиях нормальной концентрации MCP-1 в плазме крови (в отличие от повышенного содержание MCP-1 и нормального уровня HIF-1 α в плазме крови у больных ИБС без кардиомиопатии) и не связано с дефицитом M-CSF, избыtkом TNF- α и физиологической концентрацией IL-6 и GM-CSF в плазме крови у больных ИБС вне зависимости от наличия ИКМП. Устранение дисбаланса между MCP-1 и HIF-1 α в крови у пациентов с ИКМП может стать основой нового направления патогенетической терапии этого заболевания, способной улучшить реэндотелизацию сосудов, перфузию миокарда и замедлить прогрессирование ИКМП.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-25-00821 (<https://rscf.ru/project/22-25-00821/>).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Chen C, Tian J, He Z, Xiong W, He Y, Liu S. Identified three interferon induced proteins as novel biomarkers of human ischemic cardiomyopathy. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(23): 13116. doi: 10.3390/ijms222313116
- Dang H, Ye Y, Zhao X, Zeng Y. Identification of candidate genes in ischemic cardiomyopathy by gene expression omnibus database. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020; 20(1): 320. doi: 10.1186/s12872-020-01596-w
- Зюзенков М.В. Ишемическая кардиомиопатия. *Военная медицина.* 2013; 1: 35-36.
- Medina-Leyte DJ, Zepeda-García O, Domínguez-Pérez M, González-Garrido A, Villarreal-Molina T, Jacobo-Albavera L. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: Potential biomarkers and promising therapeutic approaches. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(8): 3850. doi: 10.3390/ijms22083850
- Xue M, Qiqige C, Zhang Q, Zhao H, Su L, Sun P, et al. Effects of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukina 10 (IL-10) on intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and cluster of differentiation 31 (CD31) in human coronary artery endothelial cells. *Med Sci Monit.* 2018; 24: 4433-4439. doi: 10.12659/MSM.906838
- Cui S, Men L, Li Y, Zhong Y, Yu S, Li F, et al. Selenoprotein S attenuates tumor necrosis factor- α -induced dysfunction in endothelial cells. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018: 1625414. doi: 10.1155/2018/1625414
- Lopes-Coelho F, Silva F, Gouveia-Fernandes S, Martins C, Lopes N, Domingues G, et al. Monocytes as endothelial progenitor cells (EPCs), another brick in the wall to disentangle tumor angiogenesis. *Cells.* 2020; 9(1): 107. doi: 10.3390/cells9010107
- Peplow PV. Growth factor- and cytokine-stimulated endothelial progenitor cells in post-ischemic cerebral neovascularization. *Neural Regen Res.* 2014; 9(15): 1425-1429. doi: 10.4103/1673-5374.139457
- Prisco AR, Prisco MR, Carlson BE, Greene AS. TNF- α increases endothelial progenitor cell adhesion to the endothelium by increasing bond expression and affinity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015; 308(11): 1368-1381. doi: 10.1152/ajpheart.00496.2014
- Qiu Y, Zhang C, Zhang G, Tao J. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Aging Med (Milan).* 2018; 1(2): 204-208. doi: 10.1002/agm.212041
- Li D-W, Liu Z-Q, Wei J, Liu Y, Hu L-S. Contribution of endothelial progenitor cells to neovascularization (Review). *Int J Mol Med.* 2012; 30(5): 1000-1006. doi: 10.3892/ijmm.2012.1108
- Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int Immunopharmacol.* 2021; 101(Pt B): 107598. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107598
- Коваль С.Н., Милославский Д.К., Снегурская И.А., Щенявская Е.Н. Факторы ангиогенеза при заболеваниях внутренних органов (обзор литературы). *Вісник проблем біології і медицини.* 2012; 3, 2(95): 11-15.
- Sinha SK, Miikeda A, Fouladian Z, Mehrabian M, Edilior C, Shih D, et al. Local macrophage colony-stimulating factor expression regulates macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021; 41(1): 220-233. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315255
- Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И. Эндотелиальные прогениторные клетки: происхождение и роль в ангиогенезе при сердечно-сосудистой патологии. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021; 36(2): 23-29. doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29
- Felker GM, Shaw LK, O'Connor CM. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research.

- J Am Coll Cardiol.* 2002; 39(2): 210-218. doi: 10.1016/s0735-1097(01)01738-7
17. Mudyanadzo TA. Endothelial progenitor cells and cardiovascular correlates. *Cureus.* 2018; 10(9): e3342. doi: 10.7759/cureus.3342
 18. Lin C-P, Lin F-Y, Huang P-H, Chen Y-L, Chen W-C, Chen H-Y, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in cardiovascular diseases: Role of reactive oxygen species and inflammation. *Biomed Res Int.* 2013; 2013: 845037. doi: 10.1155/2013/845037
 19. Nova-Lamperti E, Zúñiga F, Ormazábal V, Escudero C, Aguayo C. Vascular regeneration by endothelial progenitor cells in health and diseases. In: Lenasi H (ed.). *Microcirculation Revisited. From Molecules to Clinical Practice.* 2016: 231-258.
 20. Ha X-Q, Li J, Mai C-P, Cai X-L, Yan C-Y, Jia C-X, et al. The decrease of endothelial progenitor cells caused by high altitude may lead to coronary heart disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021; 25(19): 6101-6108. doi: 10.26355/eurrev_202110_26888
 21. George AL, Bangalore-Prakash P, Rajoria S, Suriano R, Shanmugam A, Mittelman A, et al. Endothelial progenitor cell biology in disease and tissue regeneration. *J Hematol Oncol.* 2011; 4: 24. doi: 10.1186/1756-8722-4-24
 22. Bartoszewski R, Moszyńska A, Serocki M, Cabaj A, Polten A, Ochocka R, et al. Primary endothelial cell-specific regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 and HIF-2 and their target gene expression profiles during hypoxia. *FASEB J.* 2019; 33(7): 7929-7941. doi: 10.1096/fj.201802650RR
 23. Naserian S, Abdelgawad ME, Bakshloo MA, Ha G, Arouche N, Cohen JL, et al. The TNF/TNFR2 signaling pathway is a key regulatory factor in endothelial progenitor cell immunosuppressive effect. *Cell Commun Signal.* 2020; 18(1): 94. doi: 10.1186/s12964-020-00564-3
 24. Goukassian DA, Qin G, Dolan C, Murayama T, Silver M, Curry C, et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor p75 is required in ischemia-induced neovascularization. *Circulation.* 2007; 115(6): 752-762. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.647255

REFERENCES

1. Chen C, Tian J, He Z, Xiong W, He Y, Liu S. Identified three interferon induced proteins as novel biomarkers of human ischemic cardiomyopathy. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(23): 13116. doi: 10.3390/ijms222313116
2. Dang H, Ye Y, Zhao X, Zeng Y. Identification of candidate genes in ischemic cardiomyopathy by gene expression omnibus database. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020; 20(1): 320. doi: 10.1186/s12872-020-01596-w
3. Zyuzenkov MV. Ischemic cardiomyopathy. *Voyennaya meditsina.* 2013; 1: 35-36. (In Russ.).
4. Medina-Leyte DJ, Zepeda-García O, Domínguez-Pérez M, González-Garrido A, Villarreal-Molina T, Jacobo-Albavera L. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: Potential biomarkers and promising therapeutical approaches. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(8): 3850. doi: 10.3390/ijms22083850
5. Xue M, Qiqige C, Zhang Q, Zhao H, Su L, Sun P, et al. Effects of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 10 (IL-10) on intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and cluster of differentiation 31 (CD31) in human coronary artery endothelial cells. *Med Sci Monit.* 2018; 24: 4433-4439. doi: 10.12659/MSM.906838
6. Cui S, Men L, Li Y, Zhong Y, Yu S, Li F, et al. Selenoprotein S attenuates tumor necrosis factor- α -induced dysfunction in endothelial cells. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018: 1625414. doi: 10.1155/2018/1625414
7. Lopes-Coelho F, Silva F, Gouveia-Fernandes S, Martins C, Lopes N, Domingues G, et al. Monocytes as endothelial progenitor cells (EPCs), another brick in the wall to disentangle tumor angiogenesis. *Cells.* 2020; 9(1): 107. doi: 10.3390/cells9010107
8. Peplow PV. Growth factor- and cytokine-stimulated endothelial progenitor cells in post-ischemic cerebral neovascularization. *Neural Regen Res.* 2014; 9(15): 1425-1429. doi: 10.4103/1673-5374.139457
9. Prisco AR, Prisco MR, Carlson BE, Greene AS. TNF- α increases endothelial progenitor cell adhesion to the endothelium by increasing bond expression and affinity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015; 308(11): 1368-1381. doi: 10.1152/ajpheart.00496.2014
10. Qiu Y, Zhang C, Zhang G, Tao J. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Aging Med (Milan).* 2018; 1(2): 204-208. doi: 10.1002/agm2.12041
11. Li D-W, Liu Z-Q, Wei J, Liu Y, Hu L-S. Contribution of endothelial progenitor cells to neovascularization (Review). *Int J Mol Med.* 2012; 30(5): 1000-1006. doi: 10.3892/ijmm.2012.1108
12. Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int Immunopharmacol.* 2021; 101(Pt B): 107598. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107598
13. Koval SN, Miloslavsky DK, Snegurskaya IA, Shchenyavskaya EN. Angiogenesis factors in diseases of internal organs (literature review). *Visnik problem biologii i meditsini.* 2012; 3, 2(95): 11-15. (In Russ.).
14. Sinha SK, Miikeda A, Fouladian Z, Mehrabian M, Edilior C, Shih D, et al. Local macrophage colony-stimulating factor expression regulates macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021; 41(1): 220-233. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315255
15. Denisenko OA, Chumakova SP, Urazova OI. Endothelial progenitor cells: Origin and role of angiogenesis in cardiovascular diseases. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2021; 36(2): 23-29. (In Russ.). doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29
16. Felker GM, Shaw LK, O'Connor CM. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39(2): 210-218. doi: 10.1016/s0735-1097(01)01738-7
17. Mudyanadzo TA. Endothelial progenitor cells and cardiovascular correlates. *Cureus.* 2018; 10(9): e3342. doi: 10.7759/cureus.3342
18. Lin C-P, Lin F-Y, Huang P-H, Chen Y-L, Chen W-C, Chen H-Y, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in cardiovascular diseases: Role of reactive oxygen species and inflammation. *Biomed Res Int.* 2013; 2013: 845037. doi: 10.1155/2013/845037
19. Nova-Lamperti E, Zúñiga F, Ormazábal V, Escudero C, Aguayo C. Vascular regeneration by endothelial progenitor cells in health and diseases. In: Lenasi H (ed.). *Microcirculation Revisited. From Molecules to Clinical Practice.* 2016: 231-258.
20. Ha X-Q, Li J, Mai C-P, Cai X-L, Yan C-Y, Jia C-X, et al. The decrease of endothelial progenitor cells caused by high altitude may lead to coronary heart disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021; 25(19): 6101-6108. doi: 10.26355/eurrev_202110_26888

21. George AL, Bangalore-Prakash P, Rajoria S, Suriano R, Shanmugam A, Mittelman A, et al. Endothelial progenitor cell biology in disease and tissue regeneration. *J Hematol Oncol.* 2011; 4: 24. doi: 10.1186/1756-8722-4-24
22. Bartoszewski R, Moszyńska A, Serocki M, Cabaj A, Polten A, Ochocka R, et al. Primary endothelial cell-specific regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 and HIF-2 and their target gene expression profiles during hypoxia. *FASEB J.* 2019; 33(7): 7929-7941. doi: 10.1096/fj.201802650RR
23. Naserian S, Abdelgawad ME, Bakshloo MA, Ha G, Arouche N, Cohen JL, et al. The TNF/TNFR2 signaling pathway is a key regulatory factor in endothelial progenitor cell immunosuppressive effect. *Cell Commun Signal.* 2020; 18(1): 94. doi: 10.1186/s12964-020-00564-3
24. Goukassian DA, Qin G, Dolan C, Murayama T, Silver M, Curry C, et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor p75 is required in ischemia-induced neovascularization. *Circulation.* 2007; 115(6): 752-762. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.647255

Сведения об авторах

Денисенко Ольга Анатольевна – соискатель кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач клинической лабораторной диагностики, ОГБУЗ «Томский региональный центр крови», e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4524-8491>

Чумакова Светлана Петровна – доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: chumakova_s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Уразова Ольга Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая кафедрой патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор кафедры комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ФГБОУ ВО «Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники», e-mail: urazova72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Шипулин Владимир Митрофанович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; профессор кафедры госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Прыжин Андрей Сергеевич – врач сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения № 1, Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», e-mail: andrew.prk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0532-8091>

Information about the authors

Olga A. Denisenko – Applicant at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University; Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Tomsk Regional Blood Center, e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4524-8491>

Svetlana P. Chumakova – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, e-mail: chumakova_s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Olga I. Urazova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University; Professor at the Department of Integrated Information Security of Electronic Computing Systems, Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics, e-mail: urazova72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Vladimir M. Shipulin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer, Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; Professor at the Department of Advanced-Level Surgery with a Course of Cardiovascular Surgery, Siberian State Medical University, e-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Andrey S. Pryakhin – Cardiovascular Surgeon at the Cardiosurgical Department No. 1, Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: andrew.prk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0532-8091>

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСОВ Cu(II) С ПРОИЗВОДНЫМИ ЕНАМИНА И ТЕТРАЗОЛА НА CYP2C И CYP3A И ИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ И АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА В СФЕРОИДАХ HepG2

РЕЗЮМЕ

Ключова Л.С.¹,
Голубева Ю.А.²,
Вавилин В.А.¹,
Гришанова А.Ю.¹

¹ Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12, Россия)

² ФГБУН Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН (630090, г. Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ключова Любовь Сергеевна,
e-mail: klyushovals@mail.ru

Цитохромы CYP2C и CYP3A индуцируются множеством соединений и влияют на фармакокинетику и фармакодинамику большого количества лекарственных средств. В настоящее время активно исследуется возможность применения координационных соединений меди в противоопухолевой терапии. Оценка потенциальных взаимодействий между новыми молекулами и цитохромами P450 необходима на ранней стадии разработки лекарств.

Цель исследования. Изучить модулирующее действие комплексов Cu(II) с производными енамина и тетразола на CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4 и их цитотоксические и антипалиферативные свойства на нормальных фибробластах лёгких человека MRC-5 и 3D-культуре гепатоцеллюлярной карциномы HepG2.

Материалы и методы. Цитотоксическую и антипалиферативную активность комплексов меди(II) – $[\text{CuL}_2]$ (1), $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{ФТ})_4]$ (2), $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{ФТ})_4]$ (3) и $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}\}_n$ (4) (где L – анион 2-анилинометилиден-5,5-диметилциклогексан-1,3-диона; ФТ – 5-фенилтетразолат-анион; MT – 5-метилтетразолат-анион; bipy – 2,2'-бипиридин; phen – 1,10-фенантролин) – исследовали на 2D- и 3D-культурах с помощью фенотипического скрининга на основе флуоресценции. Модулирующее действие на CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4 изучали с помощью целевого скрининга на основе флуоресценции. Результаты экспрессии CYP3A4 подтверждали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (OT-ПЦР) с детекцией в реальном времени.

Результаты. Комплекс (1) повышает экспрессию CYP3A4 и не влияет на экспрессию CYP2C9 и CYP2C19. Комплекс (2) не оказывает модулирующего действия на CYP2C, CYP3A. Комплексы с 1,10-фенантролином (3) и (4) индуцируют CYP3A4, ингибируют CYP2C9 и не влияют на экспрессию CYP2C19. Все соединения проявляют дозозависимый цитотоксический эффект на HepG2 и MRC-5: соединение с 5-метилтетразолат-анионом (4) одинаково воздействует на клеточные линии, соединения с 5-фенилтетразолат-анионом (2) и (3) – селективно. Комплексы с 1,10-фенантролином эффективны как на 2D-, так и на 3D-модели.

Заключение. Комплекс $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{ФТ})_4]$ (3) можно использовать как основу для создания противоопухолевого соединения, но необходима дальнейшая модификация структуры для повышения селективности к опухолевым клеткам.

Ключевые слова: координационные соединения меди(II), MRC-5, HepG2, 3D-модель, цитотоксичность, антипалиферативная активность, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4

Статья поступила: 23.06.2022
Статья принята: 22.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Ключова Л.С., Голубева Ю.А., Вавилин В.А., Гришанова А.Ю. Модулирующее действие комплексов Cu(II) с производными енамина и тетразола на CYP2C и CYP3A и их цитотоксические и антипалиферативные свойства в сферах HepG2. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 31-41. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.4

MODULATING EFFECT OF Cu(II) COMPLEXES WITH ENAMINE AND TETRAZOLE DERIVATIVES ON CYP2C AND CYP3A AND THEIR CYTOTOXIC AND ANTIPROLIFERATIVE PROPERTIES IN HepG2 SPHEROIDS

ABSTRACT

Klyushova L.S.¹,
Golubeva Yu.A.^{1,2},
Vavilin V.A.¹,
Grishanova A.Yu.¹

¹ Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Timakova str. 2/12, Novosibirsk 630060, Russian Federation)

² Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Lavrentieva ave. 3, Novosibirsk 630090, Russian Federation)

Corresponding author:

Lubov S. Klyushova,
e-mail: klyushovals@mail.ru

CYP2C and CYP3A cytochromes are induced by a variety of compounds and affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of a large number of drugs. Currently, the possibility of using copper coordination compounds in antitumor therapy is being actively studied. Evaluation of potential interactions between new molecules and P450 cytochromes is necessary at an early stage of drug design.

The aim. To study the modulating effect of Cu(II) complexes with enamine and tetrazole derivatives on CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 and their cytotoxic and antiproliferative properties on normal human lung fibroblasts MRC-5 and a 3D model of hepatocellular carcinoma HepG2.

Materials and methods. Cytotoxic and antiproliferative activities of copper(II) complexes – $[\text{CuL}_2]$ (1), $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{PT})_4]$ (2), $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{PT})_4]$ (3), $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2\} \cdot \text{H}_2\text{O}\}_n$ (4) (L – anion of 2-anilinomethylidene-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione; PT – 5-phenyltetrazolate anion; MT – 5-methyltetrazolate anion; bipy – 2,2'-bipyridine; phen – 1,10-phenanthroline) – were examined in 2D and 3D models using fluorescence-based phenotypic screening. The modulating effect on CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 was studied using fluorescence-based targeted screening. The results of CYP3A4 expression were confirmed by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

Results. Complex (1) increases the CYP3A4 expression and does not affect CYP2C9 and CYP2C19 expression. Complex (2) has no modulating effect on CYP2C and CYP3A. Complexes with 1,10-phenanthroline (3) and (4) induce CYP3A4, inhibit CYP2C9 and do not affect CYP2C19 expression. All compounds have a dose-dependent cytotoxic effect on HepG2 and MRC-5: the compound with 5-methyltetrazolate anion (4) has the same effect on cell lines, compounds with 5-phenyltetrazolate anion (2) and (3) have selective effect. Complexes with 1,10-phenanthroline are effective on both 2D and 3D models.

Conclusion. The $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{PT})_4]$ complex (3) can be used as a basis for creating an antitumor compound, but further modification of the structure is required to increase the selectivity to tumor cells.

Keywords: copper(II) coordination compounds, MRC-5, HepG2, 3D model, cytotoxicity, antiproliferative activity, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4

Received: 23.06.2022

Accepted: 22.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Klyushova L.S., Golubeva Yu.A., Vavilin V.A., Grishanova A.Yu. Modulating effect of Cu(II) complexes with enamine and tetrazole derivatives on CYP2C and CYP3A and their cytotoxic and antiproliferative properties in HepG2 spheroids. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 31-41. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.4

ВВЕДЕНИЕ

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – наиболее распространённая первичная злокачественная опухоль печени с плохой выживаемостью среди пациентов [1]. ГЦК относится к числу опухолевых заболеваний, для которых имеющийся арсенал химиотерапевтических препаратов имеет низкую эффективность. Терапия на основе доксорубицина, гемцитабина, фторпиримидинов и препаратов платины иногда позволяет получить положительные эффекты, но в целом не увеличивает общую выживаемость пациентов с ГЦК [2]. Наиболее известными комплексами металлов, используемыми в противоопухолевой терапии, являются цисплатин и его производные [3]. В настоящее время рассматривается возможность применения координационных соединений на основе других металлов, таких как рутений, золото, медь и железо, для уменьшения общей токсичности и усиления противоопухолевого действия [4].

Медь играет огромную роль в различных клеточных процессах, включая энергетический метаболизм, рост и развитие клетки [5]. Ионы меди могут стимулировать клеточную пролиферацию и активировать некоторые проангиогенные факторы: фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α , tumor necrosis factor α), интерлейкин 1 (IL-1, interleukin 1) и другие [6]. Опухолевым клеткам обычно требуется больше меди для их роста и метаболизма, чем нормальным покоящимся клеткам [7]. Повышенное содержание меди было определено в сыворотке пациентов с различными видами злокачественных опухолей, в том числе с гепатоцеллюлярной карциномой [8]. Поэтому соединения, влияющие на гомеостаз меди, представляют интерес для противоопухолевой терапии.

Механизмы противоопухолевой активности соединений меди разнообразны. Хелатирующие агенты, истощающие эндогенные запасы меди в результате комплексообразования, являются многообещающим средством для поддержания концентрации меди на физиологическом уровне и подавления процессов канцерогенеза [9]. Кроме того, медные комплексы, образующиеся в результате взаимодействия хелатора и эндогенной меди, могут обладать цитотоксической и антипролиферативной активностью и действовать избирательно на опухолевые клетки с высоким содержанием меди, оказывая небольшую токсичность на нормальные клетки [10]. Ионофоры меди, напротив, вызывают внутриклеточное накопление меди, что приводит к клеточной гибели в результате продукции активных форм кислорода или вытеснения других металлов из металлокомплексов ферментов [11]. Некоторые медные комплексы являются ингибиторами протеасом [12] и индуцируют апоптоз преимущественно в трансформированных клетках за счёт подавления передачи сигналов транскрипционного фактора кВ (NF-кВ, nuclear factor кВ) [13].

Показано, что ГЦК влияет на активность цитохромов P450 (CYP). Низкая экспрессия генов CYP2C9 и CYP2C19 связана с неблагоприятным прогнозом развития гепатоцеллюлярной карциномы [14], а подавление CYP3A4 является предиктором её раннего рецидива [15]. Помимо фи-

зиологической и патофизиологической регуляции, активность цитохромов подсемейств CYP2C и CYP3A возрастает или снижается под воздействием многих лекарств [16], что влияет на фармакокинетику и фармакодинамику большого количества лекарственных средств. Поэтому потенциальные взаимодействия между новыми молекулами и цитохромами P450 регулярно оцениваются на ранней стадии разработки лекарственных препаратов [17].

Линии опухолевых клеток, такие как HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома человека), представляют особый интерес для исследований *in vitro* по развитию и терапии ГЦК. Эта клеточная модель позволяет изучать метаболические пути, участвующие в гепатоканцерогенезе, и тестировать кандидатов в противоопухолевые препараты [18]. Также клетки HepG2 являются полезной моделью для оценки модулирующих эффектов потенциальных лекарств на CYP при первичном скрининге. В последнее время особое внимание уделяется моделям *in vitro* с клетками, расположеннымными в трёхмерной (3D) структуре (сферах), которая демонстрирует улучшенную печёночную функциональность по сравнению с традиционными двумерными (2D) моделями и лучше имитирует ответы на лечение у людей [19]. Поэтому гепатоциты, растущие в сферах, стали предпочтительной моделью по сравнению с 2D-культурами.

В ранее проведённых исследованиях комплексы Cu(II) с производными енамина и тетразола проявили дозозависимый цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток [20, 21]. Однако влияние этих соединений на нормальные клетки, на опухолевые клетки в 3D-модели и на систему метаболизма лекарственных средств не изучалось.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить модулирующее действие комплексов Cu(II) с производными енамина и тетразола на CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4 и их цитотоксические и антипролиферативные (цитостатические) свойства на нормальных фибробластах человека MRC-5 и в сферах HepG2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые соединения. Исследовали комплексы меди(II) с производными енамина и тетразола: $[\text{CuL}_2]$ (1), $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{ФТ})_4]$ (2), $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{ФТ})_4]$ (3), $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2]\text{H}_2\text{O}\}_n$ (4), где L – анион 2-амилинометилиден-5,5-диметилциклогексан-1,3-диона; ФТ – 5-фенилтетразолат-анион; МТ – 5-метилтетразолат-анион; bipy – 2,2'-бипиридин; phen – 1,10-фенантролин (рис. 1). Синтез и подробная характеристика полученных комплексов были опубликованы ранее [20, 22]. Карбоплатин (Pharmachemie B.V., Нидерланды), цисплатин (Sigma-Aldrich, Швейцария), дексаметазон (DEX, ElfaLaboratories, Индия) и рифампицин (RIF, Белмедпрепараты, Беларусь) использовались как препараты сравнения. Исходные растворы готовили в ДМСО (Биолот, Россия).

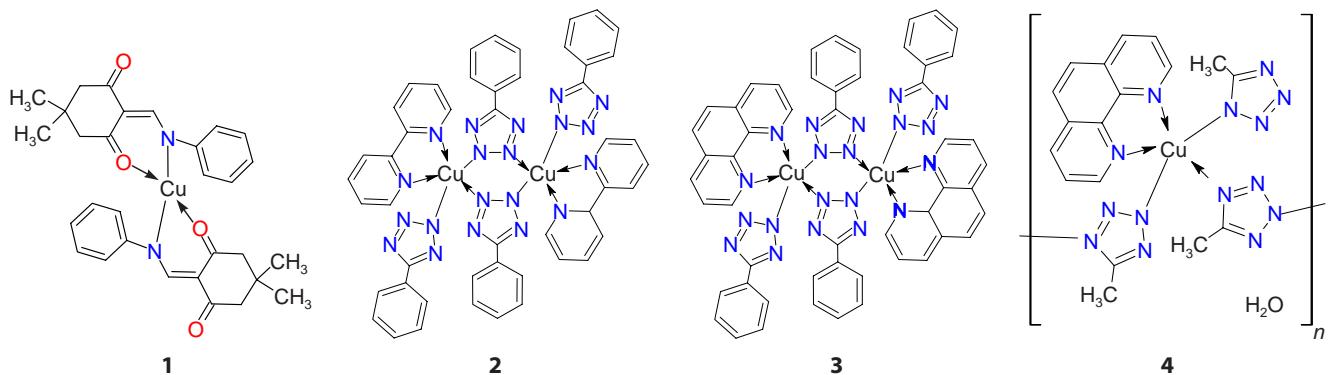


РИС. 1.

Структурные формулы исследуемых комплексов меди(II)

FIG. 1.

Structural formulas of the studied copper(II) complexes

Клеточные культуры. Клеточные линии человека HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома) и MRC-5 (фибробласты лёгкого) были предоставлены коллегами из Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (пос. Кольцово). Клетки HepG2 культивировали в среде IMDM, фибробlastы MRC-5 – в среде DMEM с 10%-м содержанием в них эмбриональной бычьей сыворотки (Cytiva, США) в CO₂-инкубаторе при 37 °C.

Для получения 2D-модели клетки высевали на 96-луночные планшеты (Corning, 3599) по 5×10^3 клеток на лунку или на 12-луночные планшеты (Corning, 3512) по 4×10^4 клеток на лунку в соответствующей среде. В качестве 3D-модели использовали сфероиды. Для получения сфероидов клетки HepG2 высевали на 96-луночные низкоадгезивные U-образные планшеты (ThermoFisher, 174925) по $1,5 \times 10^3$ клеток на лунку и культивировали в CO₂-инкубаторе при 37 °C. Обработку клеток клиническими препаратами и исследуемыми комплексами проводили через 24 часа после посева.

Для исследования цитотоксической и антитролиферативной активности клетки инкубировали с исследуемыми комплексами (1) – (4) (0,5–25 или 1–50 мкМ) и клиническими препаратами цисплатином и карбоплатином (1–50 мкМ) в течение 48 часов. Для оценки модулирующих эффектов на цитохромы P450 клетки инкубировали с комплексами Cu(II) (1) – (4) (0,1–5 мкМ) и индукторами CYP3A4, CYP2C9 и CYP2C19 дексаметазоном (10, 100 мкМ) и рифампицином (25, 100 мкМ) в течение 48 часов с заменой среды и добавлением соединений каждые 24 часа. Конечная концентрация ДМСО в среде не превышала 1 %.

Фенотипический скрининг

Оценка цитотоксического и антитролиферативного эффектов. Жизнеспособность и пролиферацию клеток оценивали методом двойного окрашивания Hoechst/пропидий йодид (PI). Окрашивание 2D-модели смесью флуоресцентных красителей Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich, Швейцария) и PI (Invitrogen, США) проводили в течение 30 мин [18], сфероидов – в течение 3 часов [23] при 37 °C.

Цитотоксическую активность определяли как полу-максимальную летальную концентрацию (LC₅₀), рассчитанную после аппроксимации нелинейной функцией кривых экспериментальной зависимости живых клеток (%) от кон-

центрации препарата (мкМ). Антитролиферативную (цитостатическую) активность определяли как полу-максимальную ингибирующую концентрацию (IC₅₀), рассчитанную после аппроксимации нелинейной функцией кривой экспериментальной зависимости количества клеток (%) от концентрации (мкМ). Параметр IC₅₀ для 3D-модели рассчитывали после аппроксимации нелинейной функцией кривой экспериментальной зависимости площади сфероида (%) от концентрации соединения (мкМ).

Целевой скрининг

Оценка уровней мРНК CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19.

Экспрессию генов цитохромов CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 на уровне мРНК определяли с помощью набора View RNA CellPlus Assay Kit (Invitrogen, 88-19000-99) в соответствии с инструкциями производителя; мРНК CYP3A4, CYP2C9 и CYP2C19 детектировали с использованием флуоресцентных зондов View RNA типа 1 (CYP3A4, VA1-10196-VCP), типа 4 (CYP2C9, VA4-3084099-VCP) и типа 6 (CYP2C19, VA6-3169546-VCP). Ядра клеток окрашивали DAPI.

Оценка уровня белка CYP3A4. Экспрессию CYP3A4 на уровне белка оценивали с помощью иммунофлуоресцентного анализа [24] с некоторыми изменениями. Клетки фиксировали 4%-м раствором параформальдегида в течение 10 мин, пермобилизацию 0,1%-м раствором TritonX100 проводили в течение 15 мин. Блокировали 1%-м бычьим сывороточным альбумином в течение 30 мин. Клетки инкубировали с первичными моноклональными антителами CYP3A4 (Invitrogen, MA5-17064) в течение 1 ч (1:200) с вторичными антителами (Invitrogen, A-10631), меченными AlexaFluor™ 488, в течение 1 ч при комнатной температуре. За 5 мин до окончания инкубации с вторичными антителами добавляли Hoechst 33342 для визуализации ядер.

Получение и анализ изображений. Изображения в светлом поле и флуоресцентных каналах получали с помощью системы визуализации INCell Analyzer 2200 (GE Healthcare, Великобритания). Анализ изображений выполняли с использованием программного обеспечения INCell Investigator (GE Healthcare, Великобритания).

Изображения 2D-культуры получали по 4 поля с увеличением 200x. В соответствии с морфологическими изменениями клетки классифицировали как живые (нор-

мальные ядра – неконденсированный хроматин, равномерно распределённый по всему ядру), апоптотические (круглые клетки, конденсированный или фрагментированный хроматин) и мёртвые (окрашенные PI из-за повреждения клеточной мембраны). Для 3D-культуры [23] получали z-стопки изображений сфероидов с увеличением 100× в светлом поле и флуоресцентных каналах (7–11 изображений, разделённых по оси z 15 мкм, начиная со дна). Отдельные z-плоскости сегментировали и анализировали как 2D-изображения для подсчёта ядер живых/мёртвых клеток, затем суммировали объекты, смещённые относительно друг друга в каждой плоскости (максимальное смещение ядер 5–10 мкм). На рисунке 2 представлены репрезентативные изображения отдельных z-плоскостей сфероидов HepG2.

ОТ-ПЦР анализ экспрессии CYP3A4 с детекцией в реальном времени (ОТ-ПЦР РВ). РНК выделяли с помощью набора RealBest Extraction 100 (Вектор-Бест, Новосибирск) согласно инструкции производителя, обрабатывали ДНКазой (Promega, США) и осаждали. Затем РНК (1 мкг) подвергали обратной транскрипции с использованием олиго(dT)18 праймеров и обратной транскриптызы M-MuLV-RH (Биолабмикс, Новосибирск) в соответствии с инструкцией производителя. Уровень мРНК оценивали в реакционной смеси BioMaster HS-qPCR SYBR Blue (2x) (Биолабмикс, Новосибирск) на CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США). В качестве генов домашнего хозяйства использовали GADPH и RPLP0. Образцы анализировали в трёх повторах (технические повторы) и в трёх повторах эксперимента. Изменение количества мРНК CYP3A4 относительно генов GADPH и RPLP0 рассчитывали методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Использовали следующие праймеры: CYP3A4 человека, 5'-CATTCCCTCATCCCAATTCTTGAAGT-3' (прямой) и 5'-CCACTCGGTGCTTTGTATCT-3' (обратный); GAPDH человека, 5'-CATGAGAAGTATGACAACAGCC-3' (прямой) и 5'-AGTCCTTCCACGATACCAAG-3' (обратный); RPLP0

человека, 5'-TCTACAAACCTGAAGTGCTTGAT-3' (прямой) и 5'-CAATCTGCAGACAGACACTGG-3' (обратный).

Статистический анализ. Графики зависимости количества клеток, живых, апоптотических и мёртвых клеток строили в Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., США). Значения LC_{50} и IC_{50} получали аппроксимацией нелинейной функцией кривых в Origin 8.0 (OriginLab, США). Количественные данные выражены как среднее трёх независимых экспериментов \pm среднеквадратическое отклонение ($M \pm \sigma$). Статистическая обработка данных экспрессии CYP проводилась с использованием программного пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Полученные результаты исследования представлены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей [Q_1 – Q_3]. Статистическую значимость различий оценивали, применяя непараметрический критерий Манна – Уитни. Результаты считали статистически значимыми при достижении уровня значимости различий $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование цитотоксической и антитоплиферативной активности

Оценка влияния комплексов $[\text{Cu}(\text{L})_2]$ (1), $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{FT})_4]$ (2), $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{FT})_4]$ (3), $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2]\text{H}_2\text{O}\}_n$ (4) на жизнеспособность клеток человека MRC-5 и HepG2 показала, что все исследуемые соединения, за исключением комплекса $[\text{Cu}(\text{L})_2]$ (1), ингибировали пролиферацию клеток MRC-5 и вызывали дозозависимую клеточную гибель в концентрациях, достижимых в условиях *in vivo*. Существенно, что гибель происходит в результате апоптоза (рис. 3).

Значения LC_{50} для 2D-культур демонстрируют на порядок более высокую токсичность комплекса $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{FT})_4]$ (3) для нормальных фибробластов MRC-

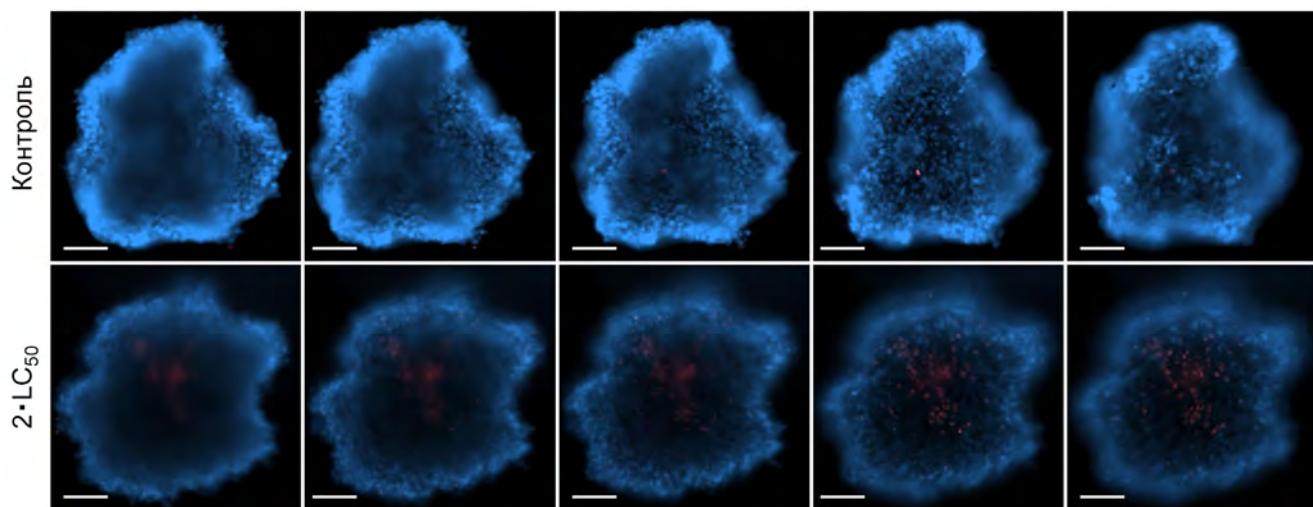


РИС. 2.

Репрезентативные изображения отдельных z-плоскостей (слева направо) сфероидов HepG2 после 48 ч инкубации с 40 мкМ $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{FT})_4]$. Масштаб шкалы – 100 мкм

FIG. 2.

Representative images of individual z-planes (left to right) of HepG2 spheroids after 48 hours of incubation with 40 μM of $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{FT})_4]$. The size of the scale bar – 100 μm

5, чем для HepG2 (табл. 1). Цитотоксическая активность комплексов (1), (2) и (4) оказалась сравнима для обеих линий. Цитотоксическая активность комплексов (2) – (4) выше, чем у клинически одобренных препаратов цисплатина и карбоплатина.

Антипролиферативная активность $[\text{CuL}_2]$ (1) в 2 раза выше для фибробластов, чем для HepG2 (табл. 2). Сопоставление данных таблицы 2 и рисунка 3 показывает, что количество клеток MRC-5 снижено на ~20 % по срав-

нению с контролем при воздействии 10 мкМ комплекса $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{ФТ})_4]$ (2) (рис. 2), тогда как для HepG2 такая концентрация приводит к снижению количества клеток на 50 % ($\text{IC}_{50} = 10,2 \pm 4$ мкМ; табл. 2). Это свидетельствует о том, что цитостатическая активность этого комплекса выше для гепатоцеллюлярной карциномы. Цитостатическую активность комплексов $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{ФТ})_4]$ (3) и $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}\}_n$ (4) сравнить не удалось из-за высокой цитотоксической активности (рис. 3).

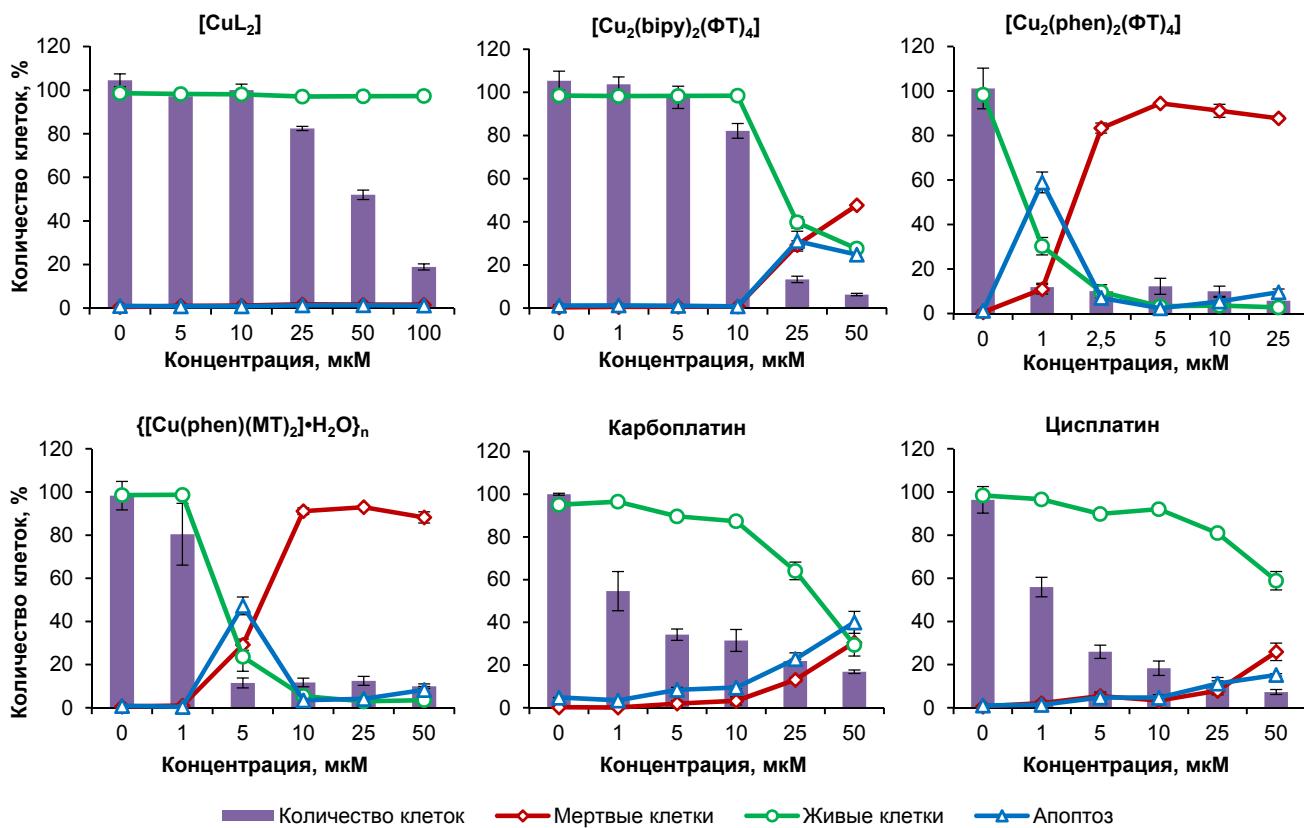


РИС. 3.

Оценка влияния соединений на жизнеспособность фибробластов MRC-5 после 48 ч инкубации методом двойного окрашивания Hoechst/PI

ТАБЛИЦА 1
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ
ПОСЛЕ 48 Ч ИНКУБАЦИИ

FIG. 3.

Assessment of the compounds effect on the viability of MRC-5 fibroblasts after 48 h of incubation using Hoechst/PI double staining

TABLE 1
CYTOTOXIC ACTIVITY OF COMPOUNDS AFTER 48 H
OF INCUBATION

| Соединения | LC ₅₀ , мкМ | | |
|--|------------------------|----------------|----------------|
| | 2D-культура | 3D-культура | |
| MRC-5 | HepG2 | HepG2 | |
| $[\text{CuL}_2]$ (1) | > 100 | > 100 | > 100 |
| $[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{ФТ})_4]$ (2) | $27,2 \pm 0,5$ | $21,7 \pm 0,4$ | > 100 |
| $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{ФТ})_4]$ (3) | $0,60 \pm 0,01$ | $2,5 \pm 0,1$ | $6,4 \pm 0,8$ |
| $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}\}_n$ (4) | $3,0 \pm 0,1$ | $3,2 \pm 0,1$ | $1,7 \pm 0,2$ |
| Карбоплатин | $35,7 \pm 0,3$ | $32,2 \pm 2,1$ | > 50 |
| Цисплатин | > 50 | $33,0 \pm 5,4$ | $49,0 \pm 1,3$ |

В целом активность исследуемых соединений меди(II) для 2D-культур возрастает в порядке (1) < (2) < (4) < (3).

Сравнение активности комплексов Cu(II) на 2D-и 3D-моделях гепатоцеллюлярной карциномы показало, что сфероиды устойчивы к воздействию комплекса (2) с 2,2'-бипиридином, тогда как комплексы (3) и (4) с 1,10-фенантролином проявляют цитотоксическую активность на 3D-модели, сравнимую с активностью на 2D-модели (табл. 1, 2). При этом комплекс с 5-метилтетразолат-анионом (4) активнее комплекса с 5-фенилтетразолат-анионом (3). Для сфероидов активность комплекса (4) выше почти в два раза, чем для 2D-культуры HepG2, в то время как для комплекса (3) – почти в два раза ниже. Значения IC₅₀ для этих комплексов не были посчитаны из-за разрушения сфероидов в результате клеточной гибели.

ТАБЛИЦА 2
АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ (ЦИТОСТАТИЧЕСКАЯ)
АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ ПОСЛЕ 48 Ч ИНКУБАЦИИ

| Соединения | IC ₅₀ , мкМ | | |
|--|------------------------|-------------|-------------|
| | 2D-культура | HepG2 | 3D-культура |
| MRC-5 | HepG2 | HepG2 | |
| [CuL ₂] (1) | 53,1 ± 0,5 | 101 ± 1 | > 100 |
| [Cu ₂ (bipy) ₂ (ФТ) ₄] (2) | > 10 | 10,2 ± 4 | > 100 |
| [Cu ₂ (phen) ₂ (ФТ) ₄] (3) | – | 0,98 ± 0,06 | – |
| {[Cu(phen)(MT) ₂]·H ₂ O} _n (4) | > 1 | 3,7 ± 0,2 | – |
| Карбоплатин | 6,0 ± 0,3 | 3,8 ± 0,2 | 10,6 ± 0,3 |
| Цисплатин | 5,8 ± 0,2 | 3,6 ± 0,2 | 11,6 ± 0,2 |

ТАБЛИЦА 3
КРАТНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ мРНК В КЛЕТКАХ HepG2
ПОСЛЕ 48 Ч ИНКУБАЦИИ, МЕ [Q₁–Q₃]

| Соединения | Концентрация, мкМ | Кратное изменение интенсивности флуоресценции мРНК | | |
|--|-------------------|--|-------------------|-------------------|
| | | CYP2C9 | CYP2C19 | CYP3A4 |
| [CuL ₂] (1) | 5 | 1,05 [0,97–1,23] | 1,44 [0,90–1,77] | 1,36 [1,07–1,63] |
| | 25 | 0,97 [0,64–1,25] | 1,35 [0,91–1,62] | 1,97 [1,48–2,29]* |
| [Cu ₂ (bipy) ₂ (ФТ) ₄] (2) | 0,2 | 0,80 [0,69–1,20] | 1,30 [1,01–1,75] | 1,03 [0,67–1,25] |
| | 1 | 1,12 [0,74–1,24] | 1,92 [0,84–1,03] | 1,04 [0,89–1,32] |
| [Cu ₂ (phen) ₂ (ФТ) ₄] (3) | 0,2 | 0,79 [0,67–1,09] | 1,03 [0,74–1,30] | 0,84 [0,67–1,13] |
| | 1 | 0,62 [0,55–0,66] | 0,80 [0,62–1,21] | 3,10 [2,26–3,87]* |
| {[Cu(phen)(MT) ₂]·H ₂ O} _n (4) | 0,2 | 0,56 [0,47–0,76] | 1,12 [0,96–1,45] | 2,25 [2,05–2,81]* |
| | 1 | 0,44 [0,36–0,66] | 1,00 [0,76–1,19] | 2,62 [1,96–3,43]* |
| Дексаметазон | 10 | 1,93 [1,57–2,16]* | 4,20 [3,82–4,70]* | 5,73 [4,95–6,30]* |
| | 100 | 2,10 [1,92–3,26]* | 5,25 [4,43–6,05]* | 5,50 *[3,43–6,45] |
| Рифампицин | 25 | 0,89 [0,76–1,04] | 3,98 [3,06–4,17]* | 2,90 [2,51–3,49]* |
| | 100 | 2,05 [1,80–2,39]* | 6,26 [4,49–7,79]* | 5,51 [4,69–6,63]* |

Примечание. * – отклонение статистически значимо по отношению к контролю ($p < 0,05$).

Исследование влияния комплексов Cu(II) на экспрессию цитохромов P450

Влияние комплексов [Cu(L)₂] (1), [Cu₂(bipy)₂(ФТ)₄] (2), [Cu₂(phen)₂(ФТ)₄] (3) и {[Cu(phen)(MT)₂]·H₂O}_n (4) на экспрессию CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 в клетках 2D HepG2 исследовали с помощью гибридизации *in situ*. Рифампицин и дексаметазон использовали в качестве положительного контроля. Репрезентативные изображения одновременного обнаружения мРНК в клетках HepG2 представлены на рисунке 4, результаты по оценке уровней мРНК CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 гибридизацией *in situ* – в таблице 3. Оценки экспрессии CYP3A4, полученные методом гибридизации *in situ*, подтверждали методом ОТ-ПЦР РВ и выявили их совпадение.

TABLE 2
ANTIPROLIFERATIVE (CYTOSTATIC) ACTIVITY
OF COMPOUNDS AFTER 48 H OF INCUBATION

TABLE 3
FOLD CHANGES IN THE mRNA FLUORESCENCE INTENSITY
IN HepG2 CELLS AFTER 48 H OF INCUBATION, ME [Q₁–Q₃]

Можно видеть (табл. 3), что ни один из комплексов не оказывает статистически значимого эффекта на экспрессию *CYP2C19*. Под воздействием комплексов с 1,10-фенантролином (**3**) и (**4**) наблюдается тенденция к снижению экспрессии *CYP2C9*. При этом комплекс с 5-метилтетразолат-анионом имеет более сильный эффект, так как снижение экспрессии *CYP2C9* наблюдается с концентрации 0,2 мкМ, а под воздействием комплекса с 5-фенилтетразолат-анионом – только с 1 мкМ.

Комpleксы $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{ФТ})_4]$ (**3**) и $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2]\text{H}_2\text{O}\}_n$ (**4**) индуцируют *CYP3A4* (табл. 3), причём в низких концентрациях (1 и 0,2 мкМ соответственно). Комплекс $[\text{CuL}_2]$ (**1**) также индуцирует *CYP3A4*, но в гораздо более высокой концентрации по сравнению с комплексами (**3**) и (**4**) (25 мкМ). Комплекс с 2,2'-бипиридином не оказывает влияния на экспрессию *CYP*. Оценка уровня белка *CYP3A4* после 48 ч инкубации клеток показала, что индуцирующий эффект у комплексов (**3**) и (**4**) сопоставим с RIF и DEX (табл. 4).

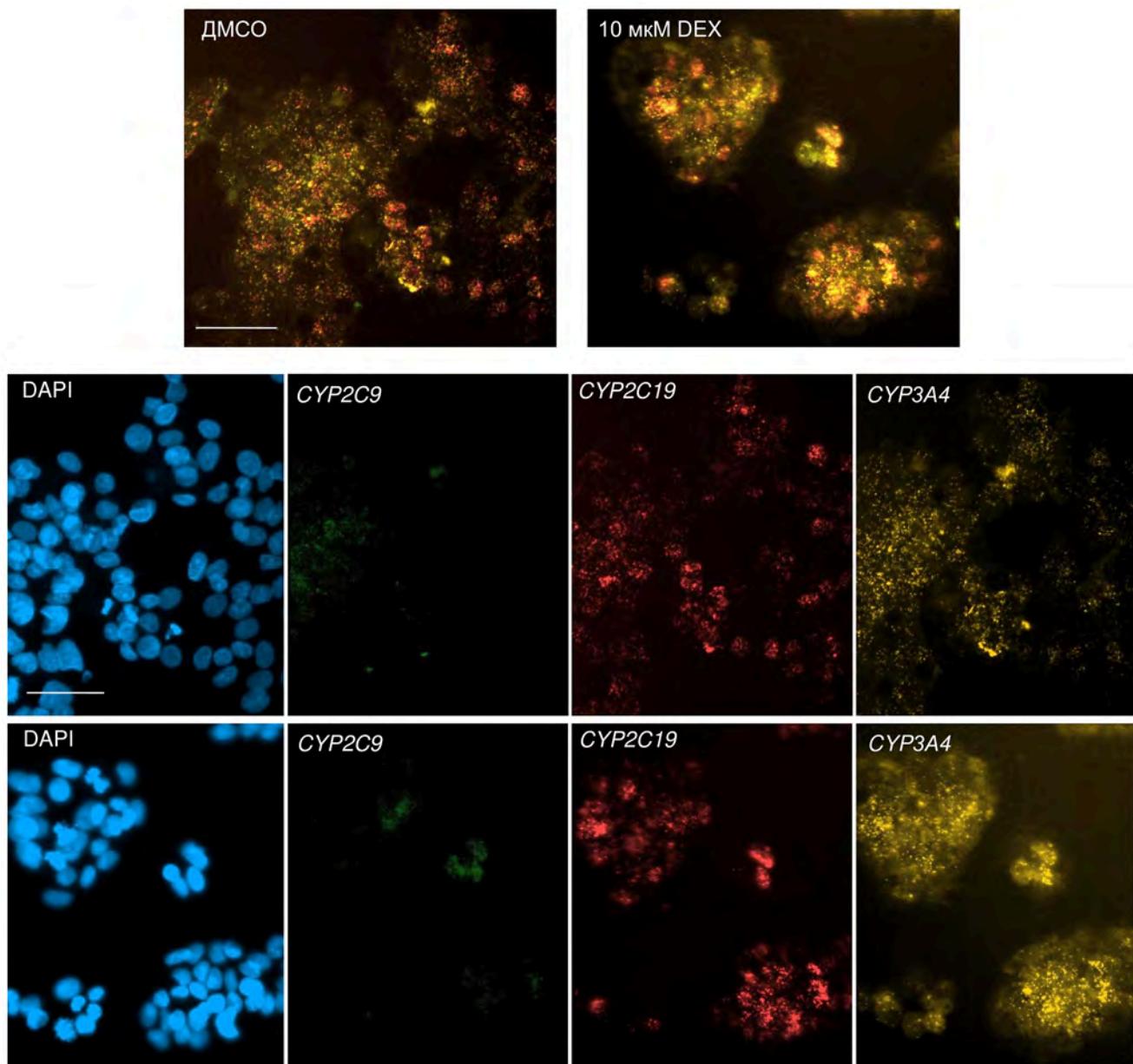


РИС. 4.

Мультиплексное одновременное обнаружение мРНК в клетках HepG2 с использованием набора для анализа ViewRNA Cell Plus. мРНК *CYP3A4*, *CYP2C9* и *CYP2C19* детектировали с использованием флуоресцентных зондов ViewRNA типа 1 (жёлтый, *CYP3A4*), типа 4 (зелёный, *CYP2C9*) и типа 6 (красный, *CYP2C19*). Ядра окрашивали DAPI (синий). Масштаб шкалы – 100 мкм

Fig. 4.

Multiplexed simultaneous detection of mRNA in HeG2 cells using the ViewRNA Cell Plus assay kit. CYP3A4, CYP2C9 and CYP2C19 mRNAs was detected using type 1 (yellow, CYP3A4), type 4 (green, CYP2C9) and type 6 (red, CYP2C19) fluorescent ViewRNA probes. Nuclei were stained with DAPI (blue). The size of the scale bar – 100 μm

ТАБЛИЦА 4
КРАТНОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БЕЛКА В КЛЕТКАХ HepG2
ПОСЛЕ 48 Ч ИНКУБАЦИИ, МЕ [Q₁–Q₃]

| Соединения | Концентрация, мкМ | Кратное изменение интенсивности флуоресценции белка CYP3A4 |
|--|-------------------|--|
| [CuL ₂] (1) | 25 | 1,77 [1,47–1,86]* |
| [Cu ₂ (bipy) ₂ (ФТ) ₄] (2) | 1 | 1,03 [0,88–1,16] |
| [Cu ₂ (phen) ₂ (ФТ) ₄] (3) | 1 | 1,87 [1,67–2,25]* |
| {[Cu(phen)(MT) ₂]·H ₂ O} _n (4) | 1 | 1,95 [1,89–2,32]* |
| Дексаметазон | 100 | 1,75 [1,48–2,24]* |
| Рифампицин | 100 | 1,84 [1,49–2,48]* |

Примечание. * – отклонение статистически значимо по отношению к контролю ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ингибиование и индукция цитохрома P450 являются основными механизмами, вызывающими фармакокинетическое взаимодействие лекарственных средств. Представители подсемейства CYP2C и CYP3A4 индуцируются многими препаратами, включая фенобарбитал, фенитоин, рифампицин и клинически одобренные глюкокортикоиды [16], и являются, как и CYP1A2, CYP2D6 и CYP2E1, наиболее важными ферментами, влияющими на фармакокинетику лекарственных средств [25]. Изоферменты CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4 в основном локализуются в печени и являются прогностическими маркерами гепатоцеллюлярной карциномы [26].

В данной работе было исследовано влияние четырёх комплексов меди(II) – [CuL₂] (1), [Cu₂(bipy)₂(ФТ)₄] (2), [Cu₂(phen)₂(ФТ)₄] (3) и {[Cu(phen)(MT)₂]·H₂O}_n (4) – на CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4. Комплекс [CuL₂] (1) имеет низкую активность и индуцирует CYP3A4 в более высоких концентрациях по сравнению с остальными исследуемыми комплексами (25 мкМ и 1 мкМ соответственно). Он не влияет на уровни экспрессии CYP2C9 и CYP2C19. Воздействие комплекса с 2,2'-бипиридином (2) не приводит к изменениям экспрессии CYP. Комpleксы с 1,10-фенантролином (3) и (4) индуцируют CYP3A4 и ингибируют CYP2C9. По сравнению с классическими индукторами рифампицином и дексаметазоном, комплексы меди(II) (3) и (4) индуцируют CYP3A4 в более низких концентрациях.

Согласно данным, изменения уровней экспрессии CYP3A4 могут модулировать активность CYP2C9 *in situ* в гепатоцитах человека посредством белок-белковых взаимодействий [27]. Эти две изоформы могут напрямую взаимодействовать через свои N-концы таким образом, что активность CYP2C9 снижается до 84 % [28]. Таким образом, повышение уровня экспрессии CYP3A4 комплексами меди(II) с 1,10-фенантролином (3) и (4) может приводить к одновременному ингибиции CYP2C9 и снижению его активности, что в свою очередь может привести к негативным последствиям в случае ГЦК, так как низ-

TABLE 4
FOLD CHANGES IN THE CYP3A4 PROTEIN FLUORESCENCE
INTENSITY IN HepG2 CELLS AFTER 48 H OF INCUBATION,
ME [Q₁–Q₃]

кий уровень экспрессии CYP2C9 является предиктором неблагоприятного прогноза ГЦК [14].

Ранее было проведено исследование цитотоксической активности новых комплексов на 2D-культурах опухолевых клеточных линий человека. Комплекс [CuL₂] (1) показал низкую активность относительно клеточной линии Нер-2 (карцинома гортани) [20]. В настоящей работе показано, что комплекс [CuL₂] (1) имеет низкую активность также относительно опухолевых клеток HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома). Комплексы с 5-фенилтетразолат-анионом (2) и (3) оказывали избирательное воздействие на клеточные линии человека разного происхождения (Нер-2, HepG2 и MCF-7 – рак молочной железы) [21]. Комплекс с 2,2'-бипиридином (2) был менее активен для HepG2 и Нер-2 по сравнению с MCF-7 – в ~2 и в ~4 раза соответственно. Цитотоксическая активность комплекса с 1,10-фенантролином (3) была сравнима для линий Нер-2 и HepG2 и превышала активность для MCF-7 в ~2 раза. Комплекс с 5-метилтетразолат-анионом оказывал одинаковое влияние на линии Нер-2 и MCF-7.

Цитотоксичность, наблюдаемая в отношении опухолевых клеток, требует ответа на вопрос, является ли она результатом противоопухолевой либо общей токсичности, ответ на который можно получить путём её сравнения с токсичностью для здоровых клеток [29]. Поэтому в данной работе было исследовано влияние новых комплексов меди(II) на нормальные фибробласты человека MRC-5. Комплекс [CuL₂] (1) имеет низкую цитотоксическую активность относительно нормальных фибробластов человека MRC-5, но его антитрополиферативная активность ниже в два раза для опухолевой линии HepG2, чем для MRC-5 (101 ± 1 и $53,1 \pm 0,5$ мкМ соответственно). Комплексы с 5-фенилтетразолат-анионом (2) и (3) оказались токсичными для MRC-5. Комплекс [Cu₂(phen)₂(ФТ)₄] (3) на порядок токсичнее для фибробластов, чем для HepG2; цитотоксическая активность (2) оказалась сравнима для обеих линий. Воздействие комплекса с 5-метилтетразолат-анионом (4) на MRC-5 ($LC_{50} = 3,0 \pm 0,1$ мкМ) также сравнимо с действием комплекса на опухолевые линии HepG2 ($LC_{50} = 3,2 \pm 0,1$ мкМ), Нер-2 и MCF-7. Таким образом, мож-

но сделать вывод, что комплекс $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{MT})_2]\text{H}_2\text{O}\}_n$ (4) вызывает гибель клеток независимо от клеточной линии.

Комплексы с производными тетразола (2), (3) и (4) индуцируют апоптоз в клетках MRC-5. Для опухолевых клеток высокий уровень апоптоза наблюдался только при воздействии комплексов с 5-фенилтетразолат-анионом (2) и (3) на Hep-2 и MCF-7 соответственно. В остальных случаях уровень апоптоза обработанных соединениями клеток не отличался от уровня в контроле, что позволяет допустить возможность реализации других путей клеточной гибели.

На протяжении двух последних десятилетий сложилось понимание того, что стандартные 2D-культуры недостаточно точно отражают процессы жизнедеятельности, и часто соединения, показавшие высокую активность в условиях *in vitro*, не проявляют таковой в условиях *in vivo* из-за ограниченной межклеточной сигнализации, отсутствия градиентов и изменённой клеточной морфологии [30]. 3D-модели клеточных культур позволяют лучше приблизиться к ситуации *in vivo*. Поэтому нами было проведено исследование цитотоксического эффекта новых соединений на сфероидах HepG2. Среди исследованных комплексов только соединения с 1,10-фенантролином (3) и (4) сохраняют свою активность в отношении клеточных сфероидов, в то время как остальные не оказывают существенного влияния на их жизнеспособность после 48 ч воздействия. Комплекс (3) менее активен для сфероидов, чем для 2D-культуры ($LC_{50} = 6,4 \pm 0,8$ мкМ и $2,5 \pm 0,1$ мкМ соответственно), а к воздействию комплекса (4) клетки в сфероиде оказались чувствительнее, чем в монослое ($LC_{50} = 1,7 \pm 0,2$ мкМ и $3,2 \pm 0,1$ мкМ соответственно).

Таким образом, комплекс $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{FT})_4]$ (3) представляет интерес для дальнейшего исследования, так как причина его селективности к клеткам различного происхождения может определить дальнейшие модификации его структуры для создания противоопухолевого соединения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди изученных комплексов меди(II) наиболее перспективным с точки зрения потенциальных противоопухолевых соединений является комплекс $[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{FT})_4]$ (3). Он проявляет дозависимую цитотоксическую активность в отношении изученных клеточных линий, зависящую от происхождения клеток; но следует отметить, что этот эффект не является специфичным для опухолевых линий и выше для нормальных фибробластов MRC-5. Активность комплекса (3) выше, чем у цисплатина и карбоплатина, и сохраняется на 3D-модели HepG2. Комплекс индуцирует CYP3A4 на уровне мРНК и белка, ингибирует CYP2C9 и не влияет на экспрессию CYP2C19. Соединение (3) можно использовать как основу для создания противоопухолевого соединения, но необходима дальнейшая модификация структуры для повышения селективности к опухолевым клеткам или же разработка средства/способа направленной доставки (например, липосомы) с той же целью.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90129. Работа была поддержана бюджетным финансированием (проект FG MU-2022-0004, регистрационный номер 1021050601082-2-1.6.4;3.1.6). Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-73-10207).

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ» ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rumgay H, Ferlay J, de Martel C, Georges D, Ibrahim AS, Zheng R, et al. Global, regional and national burden of primary liver cancer by subtype. *Eur J Cancer*. 2022; 161: 108-118. doi: 10.1016/j.ejca.2021.11.023
- Le Grazie M, Biagini MR, Tarocchi M, Polvani S, Galli A. Chemotherapy for hepatocellular carcinoma: The present and the future. *World J Hepatol*. 2017; 9(21): 907-920. doi: 10.4254/wjh.v9.i21.907
- Tsvetkova D, Ivanova S. Application of approved cisplatin derivatives in combination therapy against different cancer diseases. *Molecules*. 2022; 27(8): 2466. doi: 10.3390/molecules27082466
- Ndagui U, Mhlongo N, Soliman ME. Metal complexes in cancer therapy – An update from drug design perspective. *Drug Des Devel Ther*. 2017; 11: 599-616. doi: 10.2147/DDDT.S119488
- Hordyjewska A, Popolek L, Kocot J. The many “faces” of copper in medicine and treatment. *Biometals*. 2014; 27(4): 611-621. doi: 10.1007/s10534-014-9736-5
- Nasulewicz A, Mazur A, Opolski A. Role of copper in tumour angiogenesis – Clinical implications. *J Trace Elem Med Biol*. 2004; 18(1): 1-8. doi: 10.1016/j.jtemb.2004.02.004
- Lelièvre P, Sancey L, Coll JL, Deniaud A, Busser B. The multi-faceted roles of copper in cancer: A trace metal element with dysregulated metabolism, but also a target or a bullet for therapy. *Cancers*. 2020; 12(12): 3594. doi: 10.3390/cancers12123594
- Fang AP, Chen PY, Wang XY, Liu ZY, Zhang DM, Luo Y, et al. Serum copper and zinc levels at diagnosis and hepatocellular carcinoma survival in the Guangdong Liver Cancer Cohort. *Int J Cancer*. 2019; 144(11): 2823-2832. doi: 10.1002/ijc.31991
- Baldari S, Di Rocco G, Toieta G. Current biomedical use of copper chelation therapy. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(3): 1069. doi: 10.3390/ijms21031069
- Frezz M, Hindo S, Chen D, Davenport A, Schmitt S, Tomco D, et al. Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Curr Pharm Des*. 2010; 16(16): 1813-1825. doi: 10.2174/138161210791209009
- Denoyer D, Masaldan S, La Fontaine S, Cater MA. Targeting copper in cancer therapy: ‘Copper That Cancer.’ *Metallomics*. 2015; 7(11): 1459-1476. doi: 10.1039/c5mt00149h

12. Zhang Z, Wang H, Yan M, Wang H, Zhang C. Novel copper complexes as potential proteasome inhibitors for cancer treatment (Review). *Mol Med Rep.* 2017; 15(1): 3-11. doi: 10.3892/mmr.2016.6022
13. Xia L, Tan S, Zhou Y, Lin J, Wang H, Oyang L, et al. Role of the NF κ B-signaling pathway in cancer. *Onco Targets Ther.* 2018; 11: 2063-2073. doi: 10.2147/OTT.S161109
14. Wang X, Yu T, Liao X, Yang C, Han C, Zhu G, et al. The prognostic value of CYP2C subfamily genes in hepatocellular carcinoma. *Cancer Med.* 2018; 7(4): 966-980. doi: 10.1002/cam4.1299
15. Ashida R, Okamura Y, Ohshima K, Kakuda Y, Uesaka K, Sugiura T, et al. CYP3A4 gene is a novel biomarker for predicting a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genomics Proteomics.* 2017; 14(6): 445-453. doi: 10.21873/cgp.20054
16. Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am Fam Physician.* 2007; 76(3): 391-396.
17. Lu C, Di L. *In vitro* and *in vivo* methods to assess pharmacokinetic drug-drug interactions in drug discovery and development. *Biopharm Drug Dispos.* 2020; 41: 3-31. doi: 10.1002/bdd.2212
18. Choi JM, Oh SJ, Lee SY, Im JH, Oh JM, Ryu CS, et al. HepG2 cells as an *in vitro* model for evaluation of cytochrome P450 induction by xenobiotics. *Arch Pharm Res.* 2015; 38(5): 691-704. doi: 10.1007/s12272-014-0502-6
19. Kyffin JA, Sharma P, Leedale J, Colley HE, Murdoch C, Mishty P, et al. Impact of cell types and culture methods on the functionality of *in vitro* liver systems – A review of cell systems for hepatotoxicity assessment. *Toxicol In Vitro.* 2018; 48: 262-275. doi: 10.1016/j.tiv.2018.01.023
20. Eremina JA, Lider EV, Sukhikh TS, Eltsov IV, Kuratieva NV, Zakharov BA, et al. Synthesis, crystal structures, spectroscopic, and cytotoxicity study of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Pd(II) complexes with 2-anilinomethylidene-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione. *Polyhedron.* 2020; 178. doi: 10.1016/j.poly.2019.114325
21. Eremina JA, Ermakova EA, Smirnova KS, Klyushova LS, Berezin AS, Sukhikh TS, et al. Cu(II), Co(II), Mn(II) complexes with 5-phenyltetrazole and polypyridyl ligands: Synthesis, characterization and evaluation of the cytotoxicity and antimicrobial activity. *Polyhedron.* 2021; 206. doi: 10.1016/j.poly.2021.115352
22. Eremina JA, Lider EV, Kuratieva NV, Samsonenko DG, Klyushova LS, Sheven' DG, et al. Synthesis and crystal structures of cytotoxic mixed-ligand copper(II) complexes with alkyl tetrazole and polypyridine derivatives. *Inorganica Chim Acta.* 2021; 516. doi: 10.1016/j.ica.2020.120169
23. Sirenko O, Mitlo T, Hesley J, Luke S, Owens W, Cromwell EF. High-content assays for characterizing the viability and morphology of 3D cancer spheroid cultures. *Assay Drug Dev Technol.* 2015; 13(7): 402-414. doi: 10.1089/adt.2015.655
24. Mancio-Silva L, Fleming HE, Miller AB, Milstein S, Liebow A, Haslett P, et al. Improving drug discovery by nucleic acid delivery in engineered human microlivers. *Cell Metab.* 2019; 29(3): 727-735. e3. doi: 10.1016/j.cmet.2019.02.003
25. Bibi Z. Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutr Metab (Lond).* 2008; 5: 27. doi: 10.1186/1743-7075-5-27
26. Wang X, Liao X, Yang C, Huang K, Yu T, Yu L, et al. Identification of prognostic biomarkers for patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Oncol Rep.* 2019; 41(3): 1586-1602. doi: 10.3892/or.2019.6953
27. Ramsden D, Tweedie DJ, Chan TS, Tracy TS. Altered CYP2C9 activity following modulation of CYP3A4 levels in human hepatocytes: an example of protein-protein interactions. *Drug Metab Dispos.* 2014; 42(11): 1940-1946. doi: 10.1124/dmd.114.057901
28. Subramanian M, Tam H, Zheng H, Tracy TS. CYP2C9-CYP3A4 protein-protein interactions: Role of the hydrophobic N terminus. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38(6): 1003-1009. doi: 10.1124/dmd.109.030155
29. Dilruba S, Kalayda GV. Platinum-based drugs: past, present and future. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016; 77(6): 1103-1124. doi: 10.1007/s00280-016-2976-z
30. Langhans SA. Three-dimensional *in vitro* cell culture models in drug discovery and drug repositioning. *Front Pharmacol.* 2018; 9(6): 14. doi: 10.3389/fphar.2018.00006

Сведения об авторах

Ключова Любовь Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории биохимии чужеродных соединений, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: klyushovals@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4820-2536>

Голубева Юлия Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории металл-органических координационных полимеров, ФГБНУ Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, e-mail: julia1995@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5404-5357>

Вавилин Валентин Андреевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: drugsmet@niimbb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9769-6512>

Гришанова Алевтина Юрьевна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биохимии чужеродных соединений, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: agrish@niimbb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5894-1159>

Information about the authors

Lubov' S. Klyushova – Junior Research Officer at the Laboratory of Xenobiotic Biochemistry, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: klyushovals@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4820-2536>

Yuliya A. Golubeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Cluster and Supramolecular Compounds, Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: julia1995@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5404-5357>

Valentin A. Vavilin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: drugsmet@niimbb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9769-6512>

Alevtina Yu. Grishanova – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Chief Research Officer at the Laboratory of Xenobiotic Biochemistry, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: agrish@niimbb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5894-1159>

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ INTERNAL DISEASES

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ МЕТОДА ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

РЕЗЮМЕ

Чулков В.С.,
Минина Е.Е.,
Медведева Л.В.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Чулков Василий Сергеевич,
e-mail: vschulkov@rambler.ru

В статье изложен обзор современных представлений о методе индуцированной мокроты, представлены подробное описание методики и протоколы получения мокроты у взрослых и детей, способы обработки полученного материала. В работе детально описываются особенности клеточного состава индуцированной мокроты у здоровых людей и у пациентов с бронхиальной астмой; подчёркивается значимость уровня эозинофилии как прогностического и диагностического критерия астмы; определяются функции других клеток индуцированной мокроты, таких как нейтрофилы, макрофаги, базофилы. Работа иллюстрирована фотографиями микроскопии мокроты. Помимо цитологии мокроты, подчёркивается возможность использования других методов исследования, таких как идентификация вирусных и бактериальных возбудителей, геномика, протеомика, липидомика, метаболомика, определение концентрации различных медиаторов в супернатанте мокроты. Даются представления о биохимических маркерах воспаления и ремоделирования дыхательных путей при астме, которые можно определить в мокроте (анафилатоксин СЗа, кластерин, периостин, нейротоксин эозинофильного происхождения, фолликулин). Кроме того, в статье обобщены сведения о воспалительных фенотипах бронхиальной астмы, подчёркиваются их непостоянство и модификация в зависимости от периода заболевания, назначенного лечения, интеркуррентных респираторных инфекций, курения. Даны подробные характеристики эозинофильного, нейтрофильного, смешанного и малогранулоцитарного фенотипов бронхиальной астмы, отражены наиболее частые корреляции фенотипов с тяжестью и течением заболевания, параметрами функции лёгких и другими показателями. Описаны возможности использования метода индуцированной мокроты для комплексной оценки течения, контролируемости астмы и эффективности проводимой лекарственной терапии, а также для персонализированного подбора противовоспалительного препарата с учётом воспалительного фенотипа.

Ключевые слова: индуцированная мокрота, бронхиальная астма, воспалительный фенотип, эозинофил, нейтрофил, макрофаг

Статья поступила: 28.03.2022

Статья принята: 29.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Чулков В.С., Минина Е.Е., Медведева Л.В. Использование в клинической практике метода индуцированной мокроты у пациентов с бронхиальной астмой. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 42-55. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.5

USING INDUCED SPUTUM METHOD IN CLINICAL PRACTICE IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

ABSTRACT

**Chulkov V.S.,
Minina E.E.,
Medvedeva L.V.**

South Ural State Medical University
(Vorovskogo str. 64, Chelyabinsk 454092,
Russian Federation)

Corresponding author:
Vasiliy S. Chulkov,
e-mail: vschulkov@rambler.ru

This article presents an overview of modern statements of the induced sputum method; detailed description of the methods and protocols for taking sputum in adults and children, methods for processing the obtained substance. The paper describes in detail the features of the cellular composition of induced sputum in healthy individuals and in patients with bronchial asthma, emphasizes the importance of the eosinophilia level as a prognostic and diagnostic criterion of asthma and also determines the functions of other induced sputum cells such as neutrophils, macrophages, basophils. The article is illustrated with photographs of sputum microscopy. In addition to sputum cytology, we give accent to the possibility of using other research methods such as an identification of viral and bacterial pathogens, genomics, proteomics, lipidomics, metabolomics, determination of the concentration of various mediators in the sputum supernatant. The paper presents the ideas on biochemical inflammatory markers and remodelling of the respiratory tract in asthma, which can be determined in sputum (C3a anaphylatoxin, clusterin, periostin, eosinophil-derived neurotoxin, folliculin). In addition, we summarize the information on inflammatory phenotypes of bronchial asthma, emphasize their variability and modification depending on the period of the disease, prescribed treatment, intercurrent respiratory infections, and smoking. The article also presents detailed characteristics of eosinophilic, neutrophilic, mixed and small granulocyte phenotypes of bronchial asthma, and describes the most frequent correlations of phenotypes with the severity and course of the disease, with lung function parameters and other indicators. The paper gives an account of the possibilities of using the induced sputum method for a comprehensive assessment of the course, asthma controllability and the effectiveness of drug therapy, as well as for a personalized selection of an anti-inflammatory drug considering the inflammatory phenotype.

Keywords: induced sputum, bronchial asthma, inflammatory phenotype, eosinophil, neutrophil, macrophage

Received: 28.03.2022

Accepted: 29.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Chulkov V.S., Minina E.E., Medvedeva L.V. Using induced sputum method in clinical practice in patients with bronchial asthma. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 42-55. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.5

ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) является распространённым хроническим респираторным заболеванием, которым страдает 1–18 % населения в разных странах. Рецидивирующие одышки возникают у значительной части детей в возрасте 5 лет и младше, как правило, с вирусными инфекциями верхних дыхательных путей. Определить, когда эти симптомы являются начальными проявлениями БА, сложно, что может приводить к запоздалой диагностике и терапии. В последних пересмотрах «Глобальной инициативы по бронхиальной астме» (GINA, Global Initiative for Asthma) основной целью терапии БА является достижение контроля над заболеванием, который подразумевает как отсутствие клинических проявлений заболевания, так и стабильность показателей спирометрии [1]. В то же время существуют доказательства того, что персистирующее воспаление слизистой оболочки бронхов имеет место даже при лёгком течении БА и отсутствии симптомов заболевания; соответственно, продолжаются процессы тканевого и клеточного ремоделирования дыхательных путей, что может приводить к необратимым структурным изменениям последних [2, 3].

Таким образом, крайне важна комплексная оценка заболевания, включающая не только клинические симптомы, но и лабораторные маркеры воспаления (в том числе определение уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе и количества эозинофилов в мокроте), что необходимо для своевременного назначения адекватной базисной терапии и её коррекции [4–8]. Большинство существующих методик, которые позволяют оценить воспалительный процесс непосредственно в слизистой оболочке дыхательных путей, к сожалению, являются инвазивными и достаточно трудоёмкими, что не позволяет широко применять их в рутинной практике. Одним из перспективных неинвазивных инструментов является метод индуцированной мокроты (ИМ) – диагностическое исследование, позволяющее получить достаточное количество секрета из нижних отделов дыхательных путей у большинства пациентов, не откашливая мокроту спонтанно, – который может быть в дальнейшем использован для подсчёта клеточных элементов и определения уровня цитокинов, иммуноглобулинов и т. д. в супернатанте [9, 10].

К преимуществам данного метода относятся простота процесса индукции мокроты, использование доступного недорогого оборудования, воспроизводимость результатов, возможность многократного получения ИМ у одного пациента, относительная безопасность. Из побочных эффектов индукции мокроты отмечают солёный вкус во рту, гиперсаливацию, а также возможность развития бронхоспазма [10, 11]. Методика ИМ может успешно применяться в том числе и у детей [11–15].

РАЗДЕЛ 1. ОПИСАНИЕ МЕТОДА ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ

В 1958 г. метод ИМ был впервые предложен для диагностики рака лёгких [16], а затем был использован

для диагностики лёгочного туберкулёза и пневмоцистной пневмонии. В настоящее время он может быть использован для выявления цитомегаловирусной инфекции, токсоплазмоза, аспергиллёза, криптококкоза, а также для диагностики базальных бронхолёгочных инфекций. В том числе ИМ используется с целью изучения клеточных и гуморальных факторов воспаления, оценки воспалительных изменений при острых и хронических заболеваниях дыхательной системы (БА, хроническая обструктивная болезнь лёгких) [10, 15]. Чаще всего используется метод индуцирования гипертоническим раствором хлорида натрия, предложенный более 30 лет назад I. Pin и соавт. в модификации Т.А. Роров и соавт. [17, 18].

Применение метода ИМ для оценки патологии дыхательных путей получило широкое распространение, но следует отметить, что исследовательские группы, применяющие этот метод, использовали разные режимы индукции и обработки полученной мокроты. Поэтому целевой группой Европейского респираторного общества (ERS, European Respiratory Society) в 2002 г. были опубликованы рекомендации по стандартизации протокола индукции мокроты, аспектов безопасности, обработки и анализа образцов мокроты [19–24]. Российскими учёными предложен способ получения ИМ, который может применяться у детей, в том числе и раннего возраста [11].

Использование стандартизированной методики позволяет получить достаточное количество исследуемого материала, а также сопоставлять данные, полученные различными исследовательскими группами [9, 10].

Протокол индукции мокроты [9–11]

1. Исследование желательно проводить натощак; предварительно пациент чистит зубы и язык зубной щёткой. У детей раннего возраста исследование проводится строго натощак.

2. Пациенту в доступной форме объясняется ход процедуры.

3. Проведение спирометрии с измерением исходного показателя объёма форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1) (более предпочтительно) или пиковой скорости выдоха (ПСВ).

4. Индукция мокроты проводится под наблюдением врача в помещении, оборудованном для оказания неотложной помощи.

5. Примедикация β 2-агонистом короткого действия (сальбутамол: взрослые и дети старше 12 лет – 200 мкг, дети младше 12 лет – 100 мкг), поскольку ингаляция гипертонического раствора может спровоцировать бронхоспазм; повторное измерение ОФВ1 или ПСВ через 10 минут.

6. Ингаляция стерильным гипертоническим (4,5 %) раствором хлорида натрия через небулайзер (скорость 1 мл/мин). Большинство исследователей считают ультразвуковой небулайзер более предпочтительным, но в то же время есть данные, демонстрирующие отсутствие различий ИМ, полученной при помощи «smart» небулайзера с контролем дыхания и ультразвукового небулайзера, по клеточному составу и уровню цитокинов [25]. Если пациент относится к группе риска (нестабильный пациент, соотношение ОВФ1 к жизненной ёмкости

лёгких (ЖЕЛ) менее 0,7 после ингаляции сальбутамола, тяжёлая астма), ингаляцию начинают с изотонического (0,9 %) раствора с постепенным повышением концентрации при хорошей переносимости. Если при использовании изотонического раствора начинается выделение мокроты, концентрацию не повышают. Концентрацию раствора следует увеличивать (до 3 % и 4,5 %), если пациент не выделяет мокроту на предыдущей концентрации. При повышении концентрации интервалы должны составлять 30 с, 1 мин и 2 мин с измерением ОФВ1 или ПСВ.

7. Длительность ингаляции составляет 15–20 мин или меньше при получении достаточного количества мокроты. Каждые 5 мин или раньше, если у пациента появляется желание откашляться, ингаляция прерывается, пациента просят встать и откашлять мокроту в подготовленную ёмкость. Для улучшения отхождения мокроты возможно проведение вибрационного массажа грудной клетки.

8. После каждого 5-минутного интервала ингаляции проводится повторная спирометрия. Если ОФВ1/ПСВ снижаются более чем на 20 % от значений, полученных после ингаляции сальбутамола, процедуру следует прекратить. Детям до 5–6 лет, которые не способны выполнить дыхательные манёвры, проводится аускультация через те же временные интервалы. Процедура также останавливается при появлении жалоб (одышка, чувство нехватки воздуха, дискомфорт в грудной клетке).

9. Детям, которые самостоятельно не могут откашлять мокроту (возраст до 5–6 лет) возможно проведение стимуляция кашля и последующего отсасывания содержимого глотки с помощью медицинского электроотсоса.

10. Объём полученной мокроты должен быть не менее 1 мл. Полученный материал хранится в холодильнике при температуре 4 °C не более двух часов.

11. Для получения воспроизводимых результатов рекомендуемый интервал между процедурами получения индуцированной мокроты у одного пациента должен составлять не менее 24 часов.

Методика обработки мокроты

Полученная ИМ представляет собой сложный материал, содержащий большое количество муцина, различных типов клеток, слюны. Для получения воспроизводимых результатов важно использовать стандартизованную методику обработки полученных образцов. Основная цель обработки мокроты – получить достаточное для изучения количество клеток дыхательных путей. Дополнительные исследования могут быть проведены с использованием супернатанта мокроты и клеток мокроты: например, изучение медиаторов воспаления в супернатанте мокроты и выполнение широкого спектра исследований клеток мокроты. Образец мокроты разбавляют в соотношении 1:1 фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,1 % дитиотреитола (DTT) или дитиоэритрита (DTE), и встряхивают для гомогенизации; рекомендуется фильтрация через нейлоновую сетку. Клетки окрашивают для оценки жизнеспособности. Затем следует центрифугирование для разделения клеток и супернатанта. Осадок клеток ресуспенсируют, окрашивают по Райту или Гимзе; можно использовать и другие методы окрашивания. Для дифференциального подсчёта бе-

рут 400–500 неплоскоклеточных клеток; результат отображается в процентах (эозинофилы, нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты и бронхиальные эпителиальные клетки). Если образец содержит более 20 % плоских эпителиальных клеток, то это свидетельствует о его загрязнении и неудовлетворительном качестве [9, 10].

Помимо подсчёта количества клеток, есть и другие методы исследования мокроты: молекулярная микробиология, идентификация вирусных и бактериальных возбудителей, геномика, протеомика, липидомика, метаболомика, определение концентрации различных медиаторов в супернатанте мокроты, а также полученный материал может быть использован для получения культуры клеток дыхательных путей [2, 14, 15, 26–28].

Методика обработки, предлагаемая ERS, достаточно трудоёмка и требует наличия определённых реактивов и оборудования, что ограничивает её широкое применение. Чтобы включить индукцию мокроты в качестве экономичного инструмента в повседневную клиническую практику, необходимо сократить время, необходимое для её обработки. Для рутинного исследования клеточного состава ИМ возможно использование полученного материала без предварительной обработки. Образец наносится на предметное стекло тонким слоем, производится фиксация мазка 70–95%-м этиловым спиртом с последующим окрашиванием азур-эозином по Романовскому – Гимзе с ручным подсчётом клеточных элементов (эозинофилы, нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты) не менее чем в 10 полях зрения, не менее 200–400 клеток. Используется световой микроскоп, увеличение на 700–1000. Результат отображается в процентах от общего количества клеток [14, 29]. Фото индуцированной мокроты у пациента с БА и основные клетки мокроты представлены на рисунках 1–3.

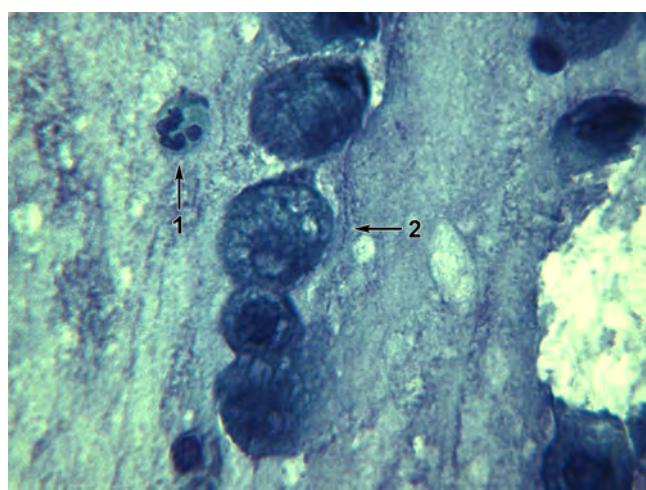
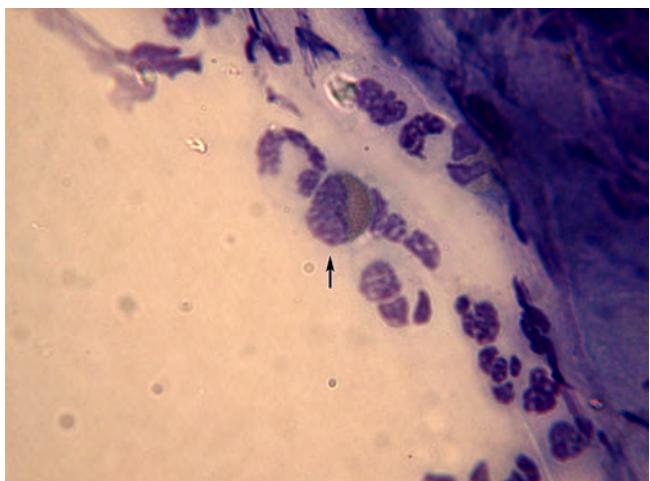


РИС. 1.

Иммерсионная микроскопия мокроты: стрелками обозначены нейтрофил (1) и макрофаг (2). Окрашивание азур-эозином по Романовскому – Гимзе; увеличение $\times 1500$ (собственные данные)

FIG. 1.

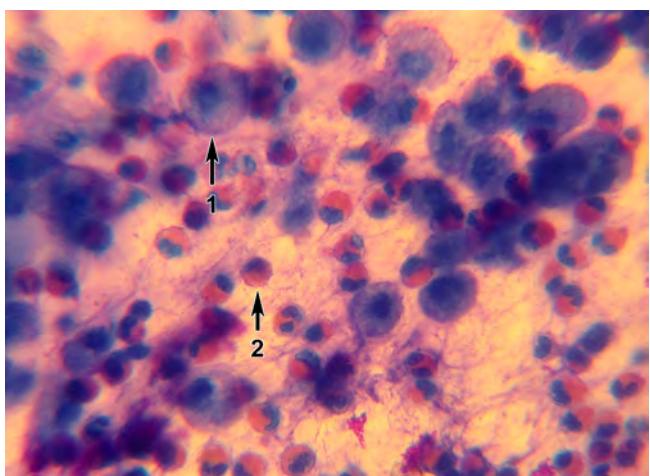
Immersion microscopy of induced sputum: the arrows indicate neutrophil (1) and macrophage (2). Romanovsky – Giemsa staining; magnification $\times 1500$ (own data)

**РИС. 2.**

Иммерсионная микроскопия мокроты: стрелкой обозначен эозинофил. Окрашивание азур-эозином по Романовскому – Гимзе; увеличение $\times 1500$ (собственные данные)

FIG. 2.

Immersion microscopy of induced sputum: the arrow indicates eosinophil. Romanovsky – Giemsa staining; magnification $\times 1500$ (own data)

**РИС. 3.**

Иммерсионная микроскопия мокроты пациента с эозинофильным воспалительным фенотипом бронхиальной астмы: стрелками обозначены макрофаг (1) и эозинофил (2). Окрашивание азур-эозином по Романовскому – Гимзе; увеличение $\times 1000$ (собственные данные)

FIG. 3.

Immersion microscopy of induced sputum of asthmatic patient with an eosinophilic inflammatory phenotype: the arrows indicate macrophage (1) and eosinophil (2). Romanovsky – Giemsa staining; magnification $\times 1000$ (own data)

РАЗДЕЛ 2. КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ У ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Обычно образец мокроты содержит эпителиальные бронхиальные клетки и клетки неэпителиального происхождения. Также из ротовой полости со слюной в образец

мокроты попадают клетки плоского эпителия, при неправильной подготовке к исследованию их количество может быть достаточно большим, что ухудшает качество препарата, но при этом никак не влияет на содержание клеток бронхиального происхождения. О правильной методике проведения свидетельствует наличие в образце ИМ большого количества альвеолярных макрофагов и других воспалительных клеточных элементов (более 80 %); эти образцы подлежат дальнейшему исследованию [9, 10].

При изучении клеточного состава ИМ у здоровых добровольцев большинством исследователей отмечено большое количество макрофагов (46,0–72,3 %), нейтрофилов (26,0–38,3 %) и низкое – лимфоцитов (0–2,0 %) и эозинофилов (не более 1 % или отсутствие) [10, 30–32]. Некоторыми авторами выявлена взаимосвязь нейтрофильного воспаления с фактом активного или пассивного курения: у курильщиков уровень макрофагов был ниже, а нейтрофилов и лимфоцитов – выше [33]. Также показано увеличение содержания нейтрофилов и эозинофилов с возрастом [10, 31].

Содержание эозинофилов ИМ при астме широко варьирует при описании различными исследователями. Считается, что уровень эозинофилов мокроты более 3 % следует расценивать как высокий, а его мониторирование на фоне проводимой базисной противовоспалительной терапии позволяет провести оценку эффективности лечения и влияния на выраженностъ аллергического воспаления на уровне слизистой оболочки бронхов [3, 12–14, 30, 34, 35]. Морфологическими признаками аллергического воспаления являются, помимо повышения содержания эозинофилов в ИМ, повышение уровня нейтрофилов, базофилов и слущивание бронхиального эпителия [36, 37]. Существует ряд работ, где авторы пытались выявить взаимосвязь уровня эозинофилов ИМ со стажем БА, тяжестью и уровнем контроля [12, 15, 38], однако остаётся открытым вопрос, почему у идентичных по клинико-лабораторным данным пациентов выявляется разное количество эозинофилов в ИМ. С. Сао и соавт. (2017) обнаружили, что группы пациентов с классической астмой и атипичной астмой (кашлевой вариант и вариант со стеснением в груди) имеют схожие воспалительные характеристики дыхательных путей по клеточному составу, а также по спектру и уровням белков в супернатантах мокроты [2]. Содержание эозинофилов в мокроте между этими группами не имело значительных различий и в среднем составило $1,5 \pm 1,3$, $2,1 \pm 1,5$ и $2,3 \pm 3,2$ % соответственно. В этом исследовании был проведён протеомный анализ супернатантов мокроты, и идентифицировано 1126 белков; уровни большинства белков также были одинаковыми в трёх группах. Эти данные подтверждают концепцию о том, что все эти варианты астмы имеют сходный патогенетический механизм, и для них можно предложить общую терапевтическую стратегию [2]. М. Pretolani и соавт. (2017) определили, что пациенты с БА с самым высоким уровнем эозинофилии в мокроте ($> 300/\text{мм}^3$) имели небольшой стаж болезни, низкую функцию лёгких, высокую частоту тяжёлых обострений и неконтролируемое течение астмы, в сравнении с пациентами с более низ-

ким количеством эозинофилов [39]. Кроме того, у пациентов с тяжёлой неконтролируемой астмой, требующей использования глюкокортикоидов и пролонгированных β_2 -агонистов, существуют более высокие шансы на обнаружение высокого уровня эозинофилов мокроты по сравнению с субъектами с лёгкой или средней тяжестью БА (отношение шансов (ОШ) – 1,60; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 1,19–2,16) и лицами без астмы (ОШ = 3,93; 95% ДИ: 2,90–5,33) [40]. Y. Guo и соавт. (2019) показали, что около 20 % детей с персистирующими хрипами имеют повышение эозинофилов мокроты, причём выявлена прямая зависимость частоты и тяжести хрипов с уровнем эозинофилов в ИМ [41].

Существуют исследования, где изучалась значимость уровня эозинофилии индуцированной мокроты как прогностического критерия ответа на терапию ингаляционными глюкокортикоидами и фактора возможного обострения при уменьшении их дозы. Показано, что у пациентов с уровнем эозинофилов мокроты более 3 % ответ на терапию кортикоидами лучше и быстрее, чем у пациентов с отсутствием эозинофилов или их более низким содержанием, которым требуется более длительная базисная терапия [30, 34, 41]. A. Zacharasiewicz и соавт. (2005) показали, что снижение дозы ингаляционных глюкокортикоидов у детей с уровнем эозинофилов мокроты 3 % и более с высокой вероятностью приведёт к обострению заболевания, а у бессимптомных детей без эозинофилов в мокроте снижение дозы ингаляционных глюкокортикоидов всегда было успешным; следовательно, уровень эозинофилов ИМ менее 3 % может использоваться в качестве индикатора для отказа от лечения [34]. В проведённом H.L. Petsky и соавт. (2017) метаанализе, включающем 6 исследований и 382 пациента с астмой, показано значительное снижение частоты обострений астмы, когда лечение основывалось на подсчёте эозинофилов в мокроте, по сравнению с клиническими симптомами и функцией лёгких или без неё (объединённое ОШ = 0,57; 95% ДИ: 0,38–0,86). Стратегия лечения астмы заключалась в поддержании уровня эозинофилов в мокроте не более 2–3 % [42]. H. Inoue и соавт. (2016) показали взаимосвязь между высоким уровнем эозинофилов в ИМ и признаками ремоделирования дыхательных путей по данным компьютерной томографии у пациентов со стабильной астмой [3].

Хотя наличие при БА эозинофилов в мокроте считается характерным, в то же время отрицательный результат не исключает этот диагноз. Имеются многочисленные сообщения о «неэозинофильной» астме, но трудно установить, был ли у этих пациентов нейтрофильный или малогранулоцитарный тип воспаления первичным [43, 44]. Исследование по трансгеномике мокроты показало, что эозинофилия ИМ не всегда является синонимом активации Th2-иммунного ответа, и существуют пациенты с астмой с преобладанием нейтрофилов в мокроте [27].

Нейтрофилы также играют важную роль в воспалительном процессе дыхательных путей; их содержание при БА колеблется в широких пределах – от 9,1 % до 81 % по данным разных авторов [14, 15, 29, 30, 38].

Уровень нейтрофилов возрастает со степенью тяжести БА и с уменьшением контролируемости заболевания [38, 43, 45].

Количество макрофагов в ИМ при БА, как правило, достаточно высокое, но меньше, чем у здоровых лиц, и снижается с нарастанием тяжести заболевания, в среднем составляя 37,0–80,9 % [14, 30, 32, 38]. Вклад макрофагов в патогенез астмы, по-видимому, связан не с изменением их количества, так как у большинства пациентов с БА оно не изменено, а с изменением функций. Макрофаги – это очень гетерогенные клетки, которые могут быстро изменять свою функцию в ответ на сигналы местного микроокружения. Хотя описаны отдельные подтипы макрофагов с уникальными функциональными способностями, считается, что макрофаги представляют собой спектр активированных фенотипов, а не отдельные стабильные субпопуляции. Кроме того, в мокроте обнаруживаются альвеолярные макрофаги, расположенные на поверхности альвеолярного эпителия, а интерстициальные макрофаги, расположенные в лёгочной ткани, не присутствуют в мокроте и могут быть обнаружены только при биопсии. Большинство исследователей предполагают, что БА связана с дефектным фагоцитозом и эффициентом (фагоцитарным клиренсом апоптотических клеток) макрофагов, который, вероятно, более выражен при более тяжёлых формах астмы, но точные механизмы остаются плохо изученными. Также происходит изменение продукции противовоспалительных цитокинов и индукция инфламмасомы (мультипротеиновых внутриклеточных комплексов, которые выявляют патогенные микроорганизмы и немикробные агенты и активируют выработку провоспалительных цитокинов). Согласно современным представлениям, активация макрофагов в очаге аллергического воспаления запускает синтез воспалительных медиаторов: RAF, томбоксана, простагландин F2, – что приводит к увеличению сосудистой проницаемости. Кроме того, провоспалительные цитокины, выделяемые макрофагами, способны активировать эндотелиальные клетки и поддерживать жизнедеятельность эозинофилов в очаге воспаления. Макрофаги могут способствовать ремоделированию при астме, хотя у исследователей пока мало тому доказательств. Новые терапевтические стратегии, нацеленные на макрофаги, включают ослабление воспаления за счёт изменения поляризации или ингибирования инфламмасомы NLRP3, а также за счёт воздействия на эффициент. Однако это материал для будущих исследований [46–48].

Уровень лимфоцитов в ИМ у больных с БА составляет 0,6–8,7 % и статистически значимо не отличается от такового в группе здоровых лиц [14, 32, 38].

S. Barril и соавт. (2016) показали, что исследование клеточного состава ИМ полезно использовать в рутинной клинической практике, так как оно смогло представить важную информацию для принятия клинических решений у двух третей (67,3 %) пациентов, поступивших в пульмонологическое отделение, преимущественно имевших диагноз астмы или хронического кашля (у 57,3 % – диагностическую информацию, у 49,7 % – помочь в принятии терапевтического решения). Кроме

того, исследование мокроты позволило изменить в 55 % случаев терапию пациентов, особенно у пациентов с астмой, у которых в 64,7 % случаев изменилась доза глюокортикоидов [49].

Многие современные исследования не только изучают клеточный состав ИМ, но и определяют некоторые биохимические маркеры воспаления и ремоделирования дыхательных путей при астме, которые необходимы для диагностики заболевания и контроля проводимой терапии. Так, в исследовании J. Zhang и соавт. (2015) было показано, что уровень анафилатоксина С3а в ИМ был значительно выше у пациентов с обострением астмы (2,24 нг/мл; диапазон – 1,68–5,58 нг/мл), чем у пациентов в ремиссии астмы, а также было отмечено, что уровень С3а у пациентов с тяжёлым обострением (4,69 нг/мл; диапазон – 2,69–6,59 нг/мл) были значительно выше, чем у пациентов с лёгким обострением [50]. Периостин является системным биомаркером эозинофилии дыхательных путей у пациентов с астмой и может быть полезен при отборе пациентов для новых терапевтических средств против астмы, направленных на воспаление Th2 [51]. Он играет роль медиатора нескольких патогенетических механизмов астмы, таких как рекрутование эозинофилов, регулирование выработки слизи из бокаловидных клеток и субэпителиального фиброза с последующим ремоделированием дыхательных путей. I. Bobolea и соавт. (2015) показали, что у пациентов с тяжёлой астмой с преобладанием эозинофильного воспаления были выше уровни периостина в мокроте по сравнению с пациентами со смешанным фенотипом, а также отмечена положительная корреляционная связь между переостином и стойким ограничением воздушного потока у пациентов с астмой с эозинофилией дыхательных путей [52]. Аналогичные данные получены в исследовании M. Refaat и соавт. (2021), в котором подчёркивается диагностическое значение определения периостина в мокроте у пациентов с тяжёлой астмой [53]. У пациентов с эозинофилией мокроты обнаруживается более высокий уровень кластерина, чем при стабильной астме с отсутствием эозинофилии; кроме того, кластерин был связан с тяжестью астмы. Кластерин может быть маркером, который отражает воспаление дыхательных путей, его можно использовать для оценки эффективности проводимого лечения астмы [54]. S.Y. Kim и соавт. (2018) определяли в ИМ у детей с БА слабый индуктор апоптоза, подобный фактору некроза опухоли (TWEAK, TNF-like weak inducer of apoptosis), который играет роль в патогенезе различных воспалительных заболеваний. У детей с астмой уровни TWEAK были выше, чем у здоровых, и коррелировали с параметрами функции лёгких, отражающими обструкцию дыхательных путей, и с тяжестью астмы, особенно у субъектов с неэозинофильным воспалением [55].

По данным S.H. Kim (2020), определение нейротоксина эозинофильного происхождения (EDN, eosinophil-derived neurotoxin) и периостина в мокроте обладает такой же высокой чувствительностью и специфичностью для диагностики астмы, как и определение этих показателей в плазме крови. Также предлагается определять в мокроте фолликулин, который поддерживает целост-

ность эпителиального барьера за счёт регуляции межклеточного соединения и, скорее всего, является биомаркером малогранулоцитарного фенотипа [56].

S.Y. Kim (2020), кроме клеточных маркеров неконтролируемой астмы (CD66+ нейтрофилы, тромбоцитарно-адгезивные эозинофилы) идентифицировал и метаболические маркеры неконтролируемости – церамиды С16:0 и С24:0 [57]. В обзоре A. Santos (2021) подчёркивается диагностическое значение определения метаболических признаков астмы (метаболических фенотипов). Так, например, при астме с ожирением в мокроте изменяется количество не только провоспалительных цитокинов (интерлейкин (IL) 1 β , IL-4, IL-5, IL-6), но и лептина, адипонектина. Кроме того, определение в мокроте различных метаболитов может быть инструментом для изучения ответа (или отсутствия ответа) на терапию глюокортикоидами или побочных эффектов этих препаратов у пациентов с астмой [28].

РАЗДЕЛ 3. ФЕНОТИПЫ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

В международном документе GINA дано определение БА, в котором подчёркивается гетерогенность заболевания, появилось понятие о фенотипах астмы, говорится о необходимости дальнейших исследований в этом направлении для понимания клинической значимости фенотипической классификации [1, 27, 43, 58, 59]. В то же время тенденция современной медицины – это персонификация, подразумевающая дифференцированный подход к каждому пациенту исходя не только из нозологии, но и из его индивидуальных особенностей [27, 43, 60]. Для этой цели осуществляются попытки разделения пациентов с БА на фенотипы (субтипы) [43, 44, 61], в том числе по типу клеточного воспаления дыхательных путей (по данным исследования мокроты) для возможности дифференцированного назначения противовоспалительной терапии и оценки её эффективности. При астме существует неоднородность воспалительного ответа [1]; для его характеристики используется разделение уровню эозинофилов и/или нейтрофилов.

J.L. Simpson и соавт. в 2006 г., а затем и другими исследователями предложено выделение четырёх основных субтипов (фенотипов) БА по преобладающему типу воспалительных клеток: нейтрофильный (содержание нейтрофилов в мокроте 61 % и более); эозинофильный (содержание эозинофилов 3 % и более); смешанный гранулоцитарный (содержание эозинофилов более или равно 3 %, содержание нейтрофилов более или равно 61 %); малогранулоцитарный (содержание эозинофилов менее 3 % и содержание нейтрофилов менее 61 %) [62, 63]. Некоторые исследователи используют для разделения уровень эозинофилов 1,1 % [62], а нейтрофилов – не 61 %, а 76 % [32].

Эозинофильный фенотип в настоящее время является наиболее изученным; он ассоциирован с хорошим эффектом на ингаляционные глюокортикоиды [43, 64]. Выявлено, что более половины пациентов

с тяжёлой неконтролируемой БА имеют уровень эозинофилов в ИМ $\geq 3\%$. Эозинофильный фенотип БА ассоциируется с большей выраженностью клинических симптомов, более частыми и тяжёлыми обострениями астмы, а также со снижением показателей спирометрии. Тяжёлая эозинофильная БА характеризуется персистирующей неконтролируемой эозинофилией в дыхательных путях и периферической крови, сопровождается повышением IL-4 и IL-5, что делает перспективным использование блокирующих их препаратов (Dupilumab, Reslizumab, Mepolizumab) [5, 44, 65, 66]. G. Suárez-Cuartín и соавт. (2016) было показано, что у половины пациентов с БА, преимущественно с эозинофильным фенотипом, в динамике наблюдается изменение воспалительного фенотипа по данным ИМ; эта изменчивость связана с курением и недавним обострением астмы [67].

Нейтрофильный фенотип является более гетерогенным, наиболее устойчивым в динамике и коррелирует с тяжестью астмы. Этот фенотип ассоциирован с повышением уровня IL-8, недостаточным ответом на проводимую терапию ингаляционными глюкокортикоидами и потерей контроля над заболеванием [14, 26, 29, 45, 68]. S.L. Taylor и соавт. (2018) выявили, что нейтрофильный воспалительный фенотип БА связан с особенностями микробиоты дыхательных путей, которая значительно отличается по своему составу от микробиоты больных с другим воспалительными фенотипами, в частности с эозинофильным [63]. Так, в монографии A. Kozik (2019), поднимается вопрос о том, что при эозинофильном фенотипе астмы грибы играют большую роль, чем бактерии. Протеазы грибов, таких как *Aspergillus fumigatus*, могут вызывать выраженную эозинофильную реакцию дыхательных путей. В то же время при нейтрофильном фенотипе увеличивается количество бактерий, таких как *Haemophilus*, *Moraxella*, *Pseudomonas* и *Klebsiella* [69]. Различия в составе микробиоты могут влиять на ответ на антимикробную и стероидную терапию [63]. Вирусные инфекции вызывают обострения БА через множество механизмов, которые включают в себя гиперреактивность бронхов, активацию эозинофильного и нейтрофильного воспаления дыхательных путей [70]. Кроме того, основным внутренним фактором, который предрасполагает к обострениям БА, является дефицит в продукции противовирусных интерферонов эпителиальными клетками типа I (IFN- β и IFN- λ) [71].

Обнаружение нейтрофилии мокроты у пациентов с астмой привело к ряду клинических испытаний антибиотиков (макролиды), противогрибковых средств (итраконазол) или специфических антineйтрофильных соединений, таких как CXCR2 или иммуномодуляторы против фактора некроза опухолей (TNF, tumor necrosis factor) [43, 65].

В настоящее время не существует терапевтического подхода, который однозначно нацелен на нейтрофилии при астме. Учитывая, что нейтрофильное воспаление дыхательных путей, по-видимому, нечувствительно к глюкокортикоидам, новые стратегии с использованием низкомолекулярных антагонистов рецептора IL-8, CXCR2, скорее фокусируются на снижении активации нейтрофилов, а не на количестве нейтрофилов [72, 73].

Противоположное мнение имеют R. Snelgrove и соавт. (2018), предполагая, что нейтрофилы могут проявлять заметную противовоспалительную способность, например, как они это делают при заживлении ран. Вероятно, нейтрофилы играют плейотропные и потенциально противоположные роли в патофизиологии астмы – и отрицательные, и некоторые потенциально полезные, – поэтому неизбирательная блокада нейтрофилов при новых стратегиях в лечении может быть неприемлема [74].

Малогранулоцитарный фенотип может быть транзиторным; он определяется путём исключения нейтрофильного и эозинофильного фенотипов, чаще ассоциируется с лёгкой степенью тяжести заболевания, хорошей контролируемостью [32, 35] и, скорее всего, представляет собой «доброполезный» фенотип астмы, связанный с хорошим ответом на лечение, а не «истинный» фенотип астмы. В исследовании S. Hinks (2020) показано, что у 80 % пациентов со стабильной персистирующей астмой и малогранулоцитарным фенотипом, которые получали ингаляционные кортикоиды, после отмены поддерживающей терапии произошло формирование эозинофильного фенотипа [65]. Однако есть пациенты с данным фенотипом, астма которых остаётся недостаточно контролируемой, несмотря на оптимальное лечение; эта группа требует дальнейшего изучения для потенциальных новых целевых вмешательств [4]. Уровни выдыхаемого оксида азота, эозинофильно-катионного протеина и IL-8 в супернатанте мокроты более низкие при малогранулоцитарном фенотипе, тогда как при эозинофильном и смешанном фенотипах отмечаются высокие уровни выдыхаемого оксида азота и эозинофильно-катионного протеина, а уровень IL-8 выше у пациентов с нейтрофильным и смешанным фенотипами БА [4]. При нейтрофильном фенотипе уровень С-реактивного белка и фибриногена наиболее высокий, в то время как при эозинофильном уровень фибриногена выше по сравнению со здоровыми субъектами [32].

Смешанный фенотип признан наиболее тяжёлым фенотипом. T. Nishio и соавт. (2019) показали, что у пациентов со смешанным фенотипом были низкие показатели функции лёгких и выраженные клинические симптомы. Кроме того, отмечена связь данного фенотипа с развитием риносинусита и полипоза носа [75]. В исследовании W. Moore (2014) более 83 % пациентов со смешанным клеточным воспалением, несмотря на лечение высокими дозами ингаляционных или пероральных кортикоидов, часто обращались за экстренной медицинской помощью [43]. T. Carr (2019) относит смешанный фенотип к Th2-low/non-type 2, который сопровождается дисфункцией барьера дыхательных путей и эпителиальных клеток, нарушением эффециентоза макрофагов, повышением синтеза IL-8, IL-17, IL-22, IL-23, IFN- γ , TNF α , CXCR2 и дефицитом IL-10. Эти данные позволяют расширить возможности использования таргетной терапии, такой как терапия антагонистами CXCR2, антагонистами TNF α -рецепторов, анти-IL-23 [35]. P. Ntontsi (2017) также отметил, что наличие тяжёлой рефрактерной астмы встречалось чаще при смешанном фенотипе (в 43,7 % случаев). В то же время при смешанном фенотипе наблюдалось

одновременное повышение FeNO и эозинофильного катионного протеина, как при эозинофильном фенотипе, и IL-8 – как при нейтрофильном [4].

Следует отметить, что воспалительные фенотипы не являются устойчивыми во времени; фенотип астмы не может быть надёжно определён с помощью однократного исследования ИМ и может изменяться в зависимости от периода заболевания, назначенного лечения, интеркуррентных респираторных инфекций, курения [13, 14].

В настоящее время роль базофилов в патогенезе астмы остаётся в значительной степени неизученной. Y. Suzuki и соавт. (2017) показали, что количество активированных базофилов увеличивалось в мокроте пациентов с эозинофильной астмой коррелировало с эозинофилами в дыхательных путях и крови. K. Wakahara и соавт. (2018) проанализировали образцы индуцированной мокроты у взрослых пациентов с астмой, которые лечились с помощью ингаляционных кортикоステроидов более 2 месяцев. Базофилы мокроты исследовали методом проточной цитометрии, а эозинофилы и нейтрофилы мокроты исследовали под микроскопом. При эозинофильном воспалении также наблюдалось увеличение базофилов мокроты, но они не увеличивались при смешанном клеточном типе, а также при низкоклеточном и нейтрофильном типах. Компьютерная томография для оценки хронического синусита показала положительную корреляцию между количеством базофилов в мокроте и оценками решётчатой кости. Возможно, базофилы мокроты могут служить биомаркером для мониторинга новых терапевтических подходов к лечению эозинофильной астмы [36, 76].

Исследования N. Ullmann и соавт. (2013) и C.J. Bossley и соавт. (2012) показали устойчивую корреляцию в содержании эозинофилов в жидкости бронхо-альвеолярного лаважа и ИМ у взрослых и детей школьного возраста с тяжёлой астмой, и теперь цитология ИМ входит в международные руководства по лечению тяжёлой астмы у взрослых (International ERS/ATS Guidelines on Definition, Evaluation and Treatment of Severe Asthma) [77–79]. Напротив, в исследовании A. Jochmann (2016), у детей дошкольного возраста в ИМ было больше нейтрофилов и меньше эозинофилов в сравнении с бронхо-альвеолярным лаважем. Скорее всего, это может быть связано с тем, что бронхо-альвеолярный лаваж более репрезентативен для альвеол и мелких бронхов, а индуцированная мокрота – для проксимальных отделов бронхиального дерева. Вдыхание гипертонического раствора может теоретически оказывать стимулирующее действие на эпителиальные клетки дыхательных путей и увеличивать концентрацию нейтрофилов [80]. Индукция мокроты безопасна, неинвазивна и дешевле, чем бронхо-альвеолярный лаваж [81].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, высокая информативность исследования индуцированной мокроты, относительная безопасность её получения и возможность многократного повторения процедуры позволяют рекомендовать метод индуцированной мокроты для диагностики брон-

хиальной астмы, в том числе у детей, использовать его в комплексной оценке течения, контролируемости астмы и эффективности проводимой лекарственной терапии наряду с остальными клинико-функциональными показателями, а также для персонализированного подбора противовоспалительного препарата с учётом воспалительного фенотипа.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Global Initiative for Asthma (GINA). *Global strategy for asthma management and prevention*. 2021. URL: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2021/05/GINA-Main-Report-2021-V2-WMS.pdf> [date of access: 26.03.2022].
2. Cao C, Li W, Hua W, Yan F, Zhang H, Huang H, et al. Proteomic analysis of sputum reveals novel biomarkers for various presentations of asthma. *J Transl Med*. 2017; 15(1): 171. doi: 10.1186/s12967-017-1264-y
3. Inoue H, Ito I, Niimi A, Matsumoto H, Matsuoka H, Jinnai M, et al. CT-assessed large airway involvement and lung function decline in eosinophilic asthma: The association between induced sputum eosinophil differential counts and airway remodeling. *J Asthma*. 2016; 53(9): 914–921. doi: 10.3109/02770903.2016.1167903
4. Nontsiri P, Loukides S, Bakakos P, Kostikas K, Papatheodorou G, Papathanassiou E, et al. Clinical, functional and inflammatory characteristics in patients with paucigranulocytic stable asthma: Comparison with different sputum phenotypes. *Allergy*. 2017; 72(11): 1761–1767. doi: 10.1111/all.13184
5. Мизерницкий Ю.Л., Мельникова И.М., Павленко В.А. Меполизумаб в терапии бронхиальной астмы у детей. *Медицинский совет*. 2020; (1): 81–86. doi: 10.21518/2079-701X-2020-1-81-86
6. Lacwić P, Kupczyk M. Asthma phenotype overlap: More may be less. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021; 9(1): 363–364. doi: 10.1016/j.jaip.2020.10.032
7. Papi A, Brightling C, Pedersen S, Reddel H. *Asthma. Review Lancet*. 2018; 391(10122): 783–800. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33311-1
8. Тютина О.С., Смирнова С.В., Смольникова М.В., Ильинко-ва Н.А. Клинико-иммунологические особенности атопической бронхиальной астмы в зависимости от уровня контроля над заболеванием у детей. *Acta biomedica scientifica*. 2012; 3(2): 204–207.
9. Weiszhar Z, Horvath I. Induced sputum analysis: step by step. *Breathe*. 2013; 9: 300–306. doi: 10.1183/20734735.042912
10. Guiot J, Demarche S, Henket M, Paulus V, Graff S, Schleich F, et al. Methodology for sputum induction and laboratory processing. *J Vis Exp*. 2017; 130: 56612. doi: 10.3791/56612
11. Куличков В.И., Мизерницкий Ю.Л., Рыбакова О.Г., Жаков Я.И., Минина Е.Е. Способ получения индуцированной мокроты у детей для оценки степени и характера воспаления слизистой бронхов: Патент № 2364341 Рос. Федерация; МПК A61B 10/00 (2006.01), G01N 33/53 (2006.01). № 2008116364; заявл. 24.04.2008; опубл. 20.08.2009. Бюл. № 23.
12. Kansal P, Nandan D, Agarwal S, Patharia N, Arya N. Correlation of induced sputum eosinophil levels with clinical parameters in mild and moderate persistent asthma in children aged

- 7–18 years. *J Asthma*. 2018; 55(4): 385-390. doi: 10.1080/02770903.2017.1338725
13. Жаков Я.И., Минина Е.Е., Медведева Л.В. Воспалительные фенотипы при обострении вирус-индуцированной бронхиальной астмы у детей и их изменение в динамике. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2015; 60(4): 229.
14. Жаков Я.И., Минина Е.Е., Медведева Л.В. Влияние тилорона на цитоиммунологические показатели индуцированной мокроты и частоту обострений бронхиальной астмы, обусловленных респираторной вирусной инфекцией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2017; 62(2): 65-70. doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-2-65-70
15. Ghebre MA, Pang PH, Desai D, Hargadon B, Newby C, Woods J, et al. Severe exacerbations in moderate-to-severe asthmatics are associated with increased pro-inflammatory and type 1 mediators in sputum and serum. *BMC Pulm Med*. 2019; 19(1): 144. doi: 10.1186/s12890-019-0906-7
16. Bickerman HA, Sproul EE, Barach AL. An aerosol method of producing bronchial secretions in human subjects: A clinical technique for the detection of lung cancer. *Dis Chest*. 1958; 33: 347-362.
17. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Grgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax*. 1992; 47(1): 25-29. doi: 10.1136/thx.47.1.25
18. Popov TA, Pizzichini MM, Pizzichini E, Kolendowicz R, Punthakee Z, Dolovich J, et al. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Eur Respir J*. 1995; 8(4): 559-565. doi: 10.1183/09031936.95.08040559
19. Djukanović R, Sterk PJ, Fahy JV. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 1s-2s. doi: 10.1183/09031936.02.00000102
20. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Indz PW, Djukanovic R, Maestrelli P, et al. Sputum induction. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 3s-8s. doi: 10.1183/09031936.02.00000302
21. Pizzichini E, Pizzichini MM, Leigh R, Djukanović R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 9s-18s. doi: 10.1183/09031936.02.00000902
22. Efthimiadis A, Spanevello A, Hamid Q, Kelly MM, Linden M, Louis R, et al. Methods of sputum processing for cell counts, immunohistochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 19s-23s. doi: 10.1183/09031936.02.00001902
23. Kelly MM, Keatings V, Leigh R, Peterson C, Shute J, Venge P, et al. Analysis of fluid- phase mediators. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 24s-39s. doi: 10.1183/09031936.02.00002402
24. Gibson PG, Grootendor DC, Henry RL, Pin I, Rytila PL, Wark P, et al. Sputum induction in children. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 44s-46s. doi: 10.1183/09031936.02.00004402
25. Koc-Günel S, Schubert R, Zielen S, Rosewich M. Cell distribution and cytokine levels in induced sputum from healthy subjects and patients with asthma after using different nebulizer techniques. *BMC Pulm Med*. 2018; 18(1): 115. doi: 10.1186/s12890-018-0683-8
26. Kasaian MT, Lee J, Brennan A, Danto SI, Black KE, Fitz L, et al. Proteomic analysis of serum and sputum analytes distinguishes controlled and poorly controlled asthmatics. *Clin Exp Allergy*. 2018; 48(7): 814-824. doi: 10.1111/cea.13151
27. Bush A. Translating asthma: Dissecting the role of metabolomics, genomics and personalized medicine. *Indian J Pediatr*. 2018; 85(8): 643-650. doi: 10.1007/s12098-017-2520-0
28. Santos A, Pité H, Chaves-Loureiro C, Rocha S, Taborda-Barata L. Metabolic phenotypes in asthmatic adults: Relationship with inflammatory and clinical phenotypes and prognostic. *Review Metabolites*. 2021; 11(8): 534. doi: 10.3390/metabo11080534
29. Костина Е.М., Трушина Е.Ю. Роль нейтрофильной эластазы и IL-8 в патогенезе типа воспаления у больных неаллергической бронхиальной астмой. *Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке*. 2019; 21(3): 22-26. doi: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-3-22-26
30. Rytila P, Pelkonen AS, Metso T, Nikander K, Haahtela T, Turpeinen M. Induced sputum in children with newly diagnosed mild asthma: the effect of 6 months of treatment with budesonide or disodium cromoglycate. *Allergy*. 2004; 59(8): 839-844. doi: 10.1111/j.1398-9995.2004.00504.x
31. Luo W, Chen Q, Chen R, Xie Y, Wang H, Lai K. Reference value of induced sputum cell counts and its relationship with age in healthy adults in Guangzhou, Southern China. *Clin Respir J*. 2018; 12(3): 1160-1165. doi: 10.1111/crj.12645
32. Demarche S, Schleich F, Henket M, Paulus V, Van Hees TV, Louis R. Detailed analysis of sputum and systemic inflammation in asthma phenotypes: Are paucigranulocytic asthmatics really non-inflammatory? *BMC Pulmonary Medicine*. 2016; 16: 46. doi: 10.1186/s12890-016-0208-2
33. Mahabee-Gittens EM, Merianos AL, Fulkerson PC, Stone L, Matt GE. The association of environmental tobacco smoke exposure and inflammatory markers in hospitalized children. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(23): 4625. doi: 10.3390/ijerph16234625
34. Zacharasiewicz A, Wilson N, Lex C, Erin EM, Li AM, Hansel T, et al. Clinical use of noninvasive measurements of airway inflammation in steroid reduction in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 171(10): 1077-1082. doi: 10.1164/rccm.200409-1242OC
35. Carr TF, Zeki AA, Kraft M. Eosinophilic and noneosinophilic asthma. *Respir Crit Care Med*. 2018; 197(1): 22-37. doi: 10.1164/rccm.201611-2232PP
36. Suzuki Y, Wakahara K, Nishio T, Ito S, Hasegawa Y. Airway basophils are increased and activated in eosinophilic asthma. *Allergy*. 2017; 72(10): 1532-1539. doi: 10.1111/all.13197
37. Fux M, von Garnier C. Sputum basophils and asthma diagnosis: dawn of a new era? *Allergy*. 2017; 72(10): 1437-1439. doi: 10.1111/all.13214
38. Пospelova С.Н., Собченко С.А., Кравцов В.Ю. Возможности цитологических и иммуноцитохимических показателей индуцированной мокроты в оценке воспаления дыхательных путей при разных уровнях контроля бронхиальной астмы. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2015; 7(2): 68-73.
39. Pretolani M, Soussan D, Poirier I, Thabut G, Aubier M. Clinical and biological characteristics of the French COBRA cohort of adult subjects with asthma. *Eur Respir J*. 2017; 50(2): 1700019. doi: 10.1183/13993003.00019-2017
40. Lima-Matos A, Ponte EV, de Jesus JPV, Almeida PCA, Lima VB, Kwon N, et al. Eosinophilic asthma, according to a blood eosinophil criterion, is associated with disease severity and lack of control among underprivileged urban Brazilians. *Respir Med*. 2018; 145: 95-100. doi: 10.1016/j.rmed.2018.10.025
41. Guo Y, Zou Y, Zhai J, Li J, Liu J, Ma C, et al. Phenotypes of the inflammatory cells in the induced sputum from young children or infants with recurrent wheezing. *Pediatr Res*. 2019; 85(4): 489-493. doi: 10.1038/s41390-018-0268-5

42. Petsky HL, Li A, Chang AB. Tailored interventions based on sputum eosinophils versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 8(8): CD005603. doi: 10.1002/14651858.CD005603.pub3
43. Moore WC, Hastie AT, Li X, Li H, Busse WW, Jarjour NN, et al. Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133(6): 1557-1563.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2013.10.011
44. Chung KF. Asthma phenotyping: a necessity for improved therapeutic precision and new targeted therapies. *J Intern Med*. 2016; 279(2): 192-204. doi: 10.1111/joim.12382
45. Ray A, Kolls JK. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity. *Trends Immunol*. 2017; 38(12): 942-954. doi: 10.1016/j.it.2017.07.003
46. Van der Veen TA, de Groot LES, Melgert BN. The different faces of the macrophage in asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2020; 26(1): 62-68. doi: 10.1097/MCP.0000000000000647
47. Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11(11): 723-737. doi: 10.1038/nri3073
48. Kulkarni N, Kantar A, Costella S, Ragazzo V, Piacentini G, Boner A, et al. Macrophage phagocytosis and allergen avoidance in children with asthma. *Front Pediatr*. 2018; 6: 206. doi: 10.3389/fped.2018.00206
49. Barril S, Sebastián L, Cotta G, Crespo A, Mateus E, Torrejón M, et al. Utility of induced sputum in routine clinical practice. *Arch Bronconeumol*. 2016; 52(5): 250-255. doi: 10.1016/j.arbres.2015.10.002
50. Zhang J, Ding YL, Chen YH, Yao WZ. Changes of C3a in induced sputum in patients with asthma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2015; 35(1): 51-55.
51. Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD, et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130(3): 647-654.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2012.06.025
52. Bobolet I, Barranco P, Del Pozo V, Romero D, Sanz V, López-Carrasco V, et al. Sputum periostin in patients with different severe asthma phenotypes. *Allergy*. 2015; 70(5): 540-546. doi: 10.1111/all.12580
53. Refaat M, Sayed E, El-Fattah W, Elbanna A, Sayed H. Relationship between sputum periostin level and inflammatory asthma phenotypes in Egyptian patients. *J Asthma*. 2021; 58(10): 1285-1291. doi: 10.1080/02770903.2020.1786111
54. Sol IS, Kim YH, Park YA, Lee KE, Hong JY, Kim MN, et al. Relationship between sputum clusterin levels and childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2016; 46(5): 688-695. doi: 10.1111/cea.12686
55. Kim SY, Kim JD, Sol IS, Kim MJ, Kim MN, Hong JY, et al. Sputum TWEAK expression correlates with severity and degree of control in non-eosinophilic childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 2018; 29(1): 42-49. doi: 10.1111/pai.12827
56. Kim SH. Blood molecular biomarkers of the inflammatory phenotypes of asthma. *Editorial Korean J Intern Med*. 2020; 35(4): 857-860. doi: 10.3904/kjim.2020.296
57. Kim SY, Jung HW, Kim M, Moon JY, Ban GY, Kim SJ, et al. Ceramide/sphingosine-1-phosphate imbalance is associated with distinct inflammatory phenotypes of uncontrolled asthma. *Allergy*. 2020; 75(8): 1991-2004. doi: 10.1111/all.14236
58. Kuruvilla ME, Lee FE, Lee GB. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019; 56(2): 219-233. doi: 10.1007/s12016-018-8712-1
59. Conrad LA, Cabana MD, Rastogi D, Bush A. Defining pediatric asthma: Phenotypes to endotypes and beyond. *Review Pediatr Res*. 2021; 90(1): 45-51. doi: 10.1038/s41390-020-01231-6
60. Côté A, Godbout K, Boulet LP. The management of severe asthma in 2020. *Review Biochem Pharmacol*. 2020; 179: 114112. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114112
61. Ricciardolo F, Bertolini F, Carriero V, Sprio AE. Asthma phenotypes and endotypes. *Minerva Med*. 2021; 112(5): 547-563. doi: 10.23736/S0026-4806.21.07498-X
62. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, Gibson PG. Inflammatory subtypes in asthma: Assessment and identification using induced sputum. *Respirology*. 2006; 11: 54-61. doi: 10.1111/j.1440-1843.2006.00784.x
63. Taylor SL, Leong L, Choo JM, Wesselingh S, Yang IA, Upham JW. Inflammatory phenotypes in patients with severe asthma are associated with distinct airway microbiology. *J Allergy Clin Immunol*. 2018; 141(1): 94-103.e15. doi: 10.1016/j.jaci.2017.03.044
64. Nelson RK, Bush A, Stokes J, Nair P, Akuthota P. Eosinophilic asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020; 8(2): 465-473. doi: 10.1016/j.jaip.2019.11.024
65. Hinks TS, Levine SJ, Brusselle GG. Treatment options in type-2 low asthma. *Review Eur Respir J*. 2020; 57b(1): 2000528. doi: 10.1183/13993003.00528-2020
66. Schoettler N, Strek ME. Recent advances in severe asthma: From phenotypes to personalized medicine. *Review Chest*. 2020; 157(3): 516-528. doi: 10.1016/j.chest.2019.10.009
67. Suárez-Cuartín G, Crespo A, Mateus E, Torrejón M, Giner J, Belda A, et al. Variability in asthma inflammatory phenotype in induced sputum. Frequency and causes. *Arch Bronconeumol*. 2016; 52: 76-81. doi: 10.1016/j.arbres.2015.12.012
68. Panettieri RA Jr. Neutrophilic and pauci-immune phenotypes in severe asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016; 36(3): 569-579. doi: 10.1016/j.iac.2016.03.007
69. Kozik AJ, Huang YJ. The microbiome in asthma: Role in pathogenesis, phenotype, and response to treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019; 122(3): 270-275. doi: 10.1016/j.anai.2018.12.005
70. Edwards MR, Strong K, Cameron A, Walton RP, Jackson DJ, Johnston SL. Viral infections in allergy and immunology: How allergic inflammation influences viral infections and illness. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 140(4): 909-920. doi: 10.1016/j.jaci.2017.07.025
71. Adeli M, El-Shareif T, Hendaus MA. Asthma exacerbation related to viral infections: An up to date summary. *J Family Med Prim Care*. 2019; 8: 2753-2759. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_86_19
72. Nair P, Aziz-Ur-Rehman A, Radford K. Therapeutic implications of 'neutrophilic asthma'. *Curr Opin Pulm Med*. 2015; 21(1): 33-38. doi: 10.1097/MCP.0000000000000120
73. Panettieri RA. The role of neutrophils in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2018; 38(4): 629-638. doi: 10.1016/j.iac.2018.06.005
74. Snelgrove RJ, Patel DF, Patel T, Lloyd CM. The enigmatic role of the neutrophil in asthma: Friend, foe or indifferent? *Clin Exp Allergy*. 2018; 48(10): 1275-1285. doi: 10.1111/cea.13191
75. Nishio T, Wakahara K, Suzuki Y, Nishio N, Majima S, Nakamura S, et al. Mixed cell type in airway inflammation is the dominant phenotype in asthma patients with severe chronic rhinosinusitis. *Allergol Int*. 2019; 68(4): 515-520. doi: 10.1016/j.alit.2019.05.004
76. Wakahara K, Nishio T, Suzuki Y, Majima S, Nakamura S, Hasegawa Y. Increasing sputum basophils is a marker for eosinophil-dominant airway inflammation in adult asthma. *Eur Respir J*. 2018; 52: PA4425. doi: 10.1183/13993003.congress-2018.PA4425

77. Ullmann N, Bossley CJ, Fleming L, Silvestri M, Bush A, Saglani S. Blood eosinophil counts rarely reflect airway eosinophilia in children with severe asthma. *Allergy*. 2013; 68: 402-406. doi: 10.1111/all.12101
78. Bossley CJ, Fleming L, Gupta A, Regamey N, Frith J, Oates T, et al. Pediatric severe asthma is characterized by eosinophilia and remodeling without T(H)2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 129: 974-982.e13. doi: 10.1016/j.jaci.2012.01.059
79. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. 2014; 43(2): 343-373. doi: 10.1183/09031936.00202013
80. Sagel SD, Wagner BD, Anthony MM, Emmett P, Zemanick ET. Sputum biomarkers of inflammation and lung function decline in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186: 857-865.
81. Jochmann A, Artusio L, Robson K, Nagakumar P, Collins N, Fleming L, et al. Infection and inflammation in induced sputum from preschool children with chronic airways diseases. *Pediatr Pulmonol*. 2016; 51(8): 778-786. doi: 10.1002/ppul.23366
11. Kulichkov VI, Mizernitsky YuL, Rybakova OG, Zhakov Yal, Minina EE. *A method for obtaining induced sputum in children to assess the degree and nature of inflammation of the bronchial mucosa*: Patent No. 2364341 of the Russian Federation. 2009; (23). (In Russ.).
12. Kansal P, Nandan D, Agarwal S, Patharia N, Arya N. Correlation of induced sputum eosinophil levels with clinical parameters in mild and moderate persistent asthma in children aged 7-18 years. *J Asthma*. 2018; 55(4): 385-390. doi: 10.1080/02770903.2017.1338725
13. Zhakov YI, Minina EE, Medvedeva LV. Inflammatory phenotypes during exacerbation of virus-induced bronchial asthma in children and their changes over time. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2015; 60(4): 229. (In Russ.).
14. Zhakov YI, Minina EE, Medvedeva LV. The effect of ti-lorone on the cytoimmunological parameters of induced sputum and on the frequency of asthma exacerbations caused by respiratory viral infection. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2017; 62(2): 65-70. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-2-65-70
15. Ghebre MA, Pang PH, Desai D, Hargadon B, Newby C, Woods J, et al. Severe exacerbations in moderate-to-severe asthmatics are associated with increased pro-inflammatory and type 1 mediators in sputum and serum. *BMC Pulm Med*. 2019; 19(1): 144. doi: 10.1186/s12890-019-0906-7
16. Bickerman HA, Sproul EE, Barach AL. An aerosol method of producing bronchial secretions in human subjects: A clinical technique for the detection of lung cancer. *Dis Chest*. 1958; 33: 347-362.
17. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Grgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax*. 1992; 47(1): 25-29. doi: 10.1136/thx.47.1.25
18. Popov TA, Pizzichini MM, Pizzichini E, Kolendowicz R, Punthakee Z, Dolovich J, et al. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Eur Respir J*. 1995; 8(4): 559-565. doi: 10.1183/09031936.95.08040559
19. Djukanović R, Sterk PJ, Fahy JV. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 1s-2s. doi: 10.1183/09031936.02.00000102
20. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Indz PW, Djukanovic R, Maestrelli P, et al. Sputum induction. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 3s-8s. doi: 10.1183/09031936.02.00000302
21. Pizzichini E, Pizzichini MM, Leigh R, Djukanović R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 9s-18s. doi: 10.1183/09031936.02.00000902
22. Efthimiadis A, Spanevello A, Hamid Q, Kelly MM, Linden M, Louis R, et al. Methods of sputum processing for cell counts, immunohistochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 19s-23s. doi: 10.1183/09031936.02.00001902
23. Kelly MM, Keatings V, Leigh R, Peterson C, Shute J, Venge P, et al. Analysis of fluid-phase mediators. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 24s-39s. doi: 10.1183/09031936.02.00002402
24. Gibson PG, Grootendor DC, Henry RL, Pin I, Rytila PL, Wark P, et al. Sputum induction in children. *Eur Respir J Suppl*. 2002; 37: 44s-46s. doi: 10.1183/09031936.02.00004402
25. Koc-Günel S, Schubert R, Zielen S, Rosewich M. Cell distribution and cytokine levels in induced sputum from healthy subjects and patients with asthma after using different nebulizer techniques. *BMC Pulm Med*. 2018; 18(1): 115. doi: 10.1186/s12890-018-0683-8
26. Kasaian MT, Lee J, Brennan A, Danto SI, Black KE, Fitz L, et al. Proteomic analysis of serum and sputum analytes distinguishes

- controlled and poorly controlled asthmatics. *Clin Exp Allergy*. 2018; 48(7): 814-824. doi: 10.1111/cea.13151
27. Bush A. Translating asthma: Dissecting the role of metabolomics, genomics and personalized medicine. *Indian J Pediatr*. 2018; 85(8): 643-650. doi: 10.1007/s12098-017-2520-0
28. Santos A, Pité H, Chaves-Loureiro C, Rocha S, Taborda-Barata L. Metabolic phenotypes in asthmatic adults: Relationship with inflammatory and clinical phenotypes and prognostic. *Review Metabolites*. 2021; 11(8): 534. doi: 10.3390/metabo11080534
29. Kostina EM, Trushina EYu. Neutrophilic elastase and IL-8 role in the inflammation type pathogenesis in patients with non-allergical bronchial asthma. *The Journal of Scientific Articles. Health and Millennium Education*. 2019; 21(3): 22-26. (In Russ.). doi: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-3-22-26
30. Ryttilä P, Pelkonen AS, Metso T, Nikander K, Haahtela T, Turpeinen M. Induced sputum in children with newly diagnosed mild asthma: the effect of 6 months of treatment with budesonide or disodium cromoglycate. *Allergy*. 2004; 59(8): 839-844. doi: 10.1111/j.1398-9995.2004.00504.x
31. Luo W, Chen Q, Chen R, Xie Y, Wang H, Lai K. Reference value of induced sputum cell counts and its relationship with age in healthy adults in Guangzhou, Southern China. *Clin Respir J*. 2018; 12(3): 1160-1165. doi: 10.1111/crj.12645
32. Demarche S, Schleich F, Henket M, Paulus V, Van Hees TV, Louis R. Detailed analysis of sputum and systemic inflammation in asthma phenotypes: Are paucigranulocytic asthmatics really non-inflammatory? *BMC Pulmonary Medicine*. 2016; 16: 46. doi: 10.1186/s12890-016-0208-2
33. Mahabee-Gittens EM, Merianos AL, Fulkerson PC, Stone L, Matt GE. The association of environmental tobacco smoke exposure and inflammatory markers in hospitalized children. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(23): 4625. doi: 10.3390/ijerph16234625
34. Zacharasiewicz A, Wilson N, Lex C, Erin EM, Li AM, Hansel T, et al. Clinical use of noninvasive measurements of airway inflammation in steroid reduction in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 171(10): 1077-1082. doi: 10.1164/rccm.200409-1242OC
35. Carr TF, Zeki AA, Kraft M. Eosinophilic and noneosinophilic asthma. *Respir Crit Care Med*. 2018; 197(1): 22-37. doi: 10.1164/rccm.201611-2232PP
36. Suzuki Y, Wakahara K, Nishio T, Ito S, Hasegawa Y. Airway basophils are increased and activated in eosinophilic asthma. *Allergy*. 2017; 72(10): 1532-1539. doi: 10.1111/all.13197
37. Fux M, von Garnier C. Sputum basophils and asthma diagnosis: dawn of a new era? *Allergy*. 2017; 72(10): 1437-1439. doi: 10.1111/all.13214
38. Pospelova SN, Sobchenko SA, Kravtsov VYu. Possibilities of cytological and immunocytochemical markers of induced sputum in the evaluation of airway inflammation in patients with different levels of asthma control. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2015; 7(2): 68-73. (In Russ.).
39. Pretolani M, Soussan D, Poirier I, Thabut G, Aubier M. Clinical and biological characteristics of the French COBRA cohort of adult subjects with asthma. *Eur Respir J*. 2017; 50(2): 1700019. doi: 10.1183/13993003.00019-2017
40. Lima-Matos A, Ponte EV, de Jesus JPV, Almeida PCA, Lima VB, Kwon N, et al. Eosinophilic asthma, according to a blood eosinophil criterion, is associated with disease severity and lack of control among underprivileged urban Brazilians. *Respir Med*. 2018; 145: 95-100. doi: 10.1016/j.rmed.2018.10.025
41. Guo Y, Zou Y, Zhai J, Li J, Liu J, Ma C, et al. Phenotypes of the inflammatory cells in the induced sputum from young children or infants with recurrent wheezing. *Pediatr Res*. 2019; 85(4): 489-493. doi: 10.1038/s41390-018-0268-5
42. Petsky HL, Li A, Chang AB. Tailored interventions based on sputum eosinophils versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 8(8): CD005603. doi: 10.1002/14651858.CD005603.pub3
43. Moore WC, Hastie AT, Li X, Li H, Busse WW, Jarjour NN, et al. Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133(6): 1557-1563.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2013.10.011
44. Chung KF. Asthma phenotyping: a necessity for improved therapeutic precision and new targeted therapies. *J Intern Med*. 2016; 279(2): 192-204. doi: 10.1111/joim.12382
45. Ray A, Kolls JK. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity. *Trends Immunol*. 2017; 38(12): 942-954. doi: 10.1016/j.it.2017.07.003
46. Van der Veen TA, de Groot LES, Melgert BN. The different faces of the macrophage in asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2020; 26(1): 62-68. doi: 10.1097/MCP.0000000000000647
47. Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11(11): 723-737. doi: 10.1038/nri3073
48. Kulkarni N, Kantar A, Costella S, Ragazzo V, Piacentini G, Boner A, et al. Macrophage phagocytosis and allergen avoidance in children with asthma. *Front Pediatr*. 2018; 6: 206. doi: 10.3389/fped.2018.00206
49. Barril S, Sebastián L, Cotta G, Crespo A, Mateus E, Torrejón M, et al. Utility of induced sputum in routine clinical practice. *Arch Bronconeumol*. 2016; 52(5): 250-255. doi: 10.1016/j.arbres.2015.10.002
50. Zhang J, Ding YL, Chen YH, Yao WZ. Changes of C3a in induced sputum in patients with asthma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2015; 35(1): 51-55.
51. Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD, et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130(3): 647-654.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2012.06.025
52. Bobolea I, Barranco P, Del Pozo V, Romero D, Sanz V, López-Carrasco V, et al. Sputum periostin in patients with different severe asthma phenotypes. *Allergy*. 2015; 70(5): 540-546. doi: 10.1111/all.12580
53. Refaat M, Sayed E, El-Fattah W, Elbanna A, Sayed H. Relationship between sputum periostin level and inflammatory asthma phenotypes in Egyptian patients. *J Asthma*. 2021; 58(10): 1285-1291. doi: 10.1080/02770903.2020.1786111
54. Sol IS, Kim YH, Park YA, Lee KE, Hong JY, Kim MN, et al. Relationship between sputum clusterin levels and childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2016; 46(5): 688-695. doi: 10.1111/cea.12686
55. Kim SY, Kim JD, Sol IS, Kim MJ, Kim MN, Hong JY, et al. Sputum TWEAK expression correlates with severity and degree of control in non-eosinophilic childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 2018; 29(1): 42-49. doi: 10.1111/pai.12827
56. Kim SH. Blood molecular biomarkers of the inflammatory phenotypes of asthma. *Editorial Korean J Intern Med*. 2020; 35(4): 857-860. doi: 10.3904/kjim.2020.296
57. Kim SY, Jung HW, Kim M, Moon JY, Ban GY, Kim SJ, et al. Ceramide/sphingosine-1-phosphate imbalance is associated

- with distinct inflammatory phenotypes of uncontrolled asthma. *Allergy*. 2020; 75(8): 1991-2004. doi: 10.1111/all.14236
58. Kuruvilla ME, Lee FE, Lee GB. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019; 56(2): 219-233. doi: 10.1007/s12016-018-8712-1
59. Conrad LA, Cabana MD, Rastogi D, Bush A. Defining pediatric asthma: Phenotypes to endotypes and beyond. *Review Pediatr Res*. 2021; 90(1): 45-51. doi: 10.1038/s41390-020-01231-6
60. Côté A, Godbout K, Boulet LP. The management of severe asthma in 2020. *Review Biochem Pharmacol*. 2020; 179: 114112. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114112
61. Ricciardolo F, Bertolini F, Carriero V, Sprio AE. Asthma phenotypes and endotypes. *Minerva Med*. 2021; 112(5): 547-563. doi: 10.23736/S0026-4806.21.07498-X
62. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, Gibson PG. Inflammatory subtypes in asthma: Assessment and identification using induced sputum. *Respirology*. 2006; 11: 54-61. doi: 10.1111/j.1440-1843.2006.00784.x
63. Taylor SL, Leong L, Choo JM, Wesselingh S, Yang IA, Upham JW. Inflammatory phenotypes in patients with severe asthma are associated with distinct airway microbiology. *J Allergy Clin Immunol*. 2018; 141(1): 94-103.e15. doi: 10.1016/j.jaci.2017.03.044
64. Nelson RK, Bush A, Stokes J, Nair P, Akuthota P. Eosinophilic asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020; 8(2): 465-473. doi: 10.1016/j.jaip.2019.11.024
65. Hinks TS, Levine SJ, Brusselle GG. Treatment options in type-2 low asthma. *Review Eur Respir J*. 2020; 57b(1): 2000528. doi: 10.1183/13993003.00528-2020
66. Schoettler N, Strek ME. Recent advances in severe asthma: From phenotypes to personalized medicine. *Review Chest*. 2020; 157(3): 516-528. doi: 10.1016/j.chest.2019.10.009
67. Suárez-Cuártin G, Crespo A, Mateus E, Torrejón M, Giner J, Belda A, et al. Variability in asthma inflammatory phenotype in induced sputum. Frequency and causes. *Arch Bronconeumol*. 2016; 52: 76-81. doi: 10.1016/j.arbr.2015.12.012
68. Panettieri RA Jr. Neutrophilic and pauci-immune phenotypes in severe asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016; 36(3): 569-579. doi: 10.1016/j.iac.2016.03.007
69. Kozik AJ, Huang YJ. The microbiome in asthma: Role in pathogenesis, phenotype, and response to treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019; 122(3): 270-275. doi: 10.1016/j.anai.2018.12.005
70. Edwards MR, Strong K, Cameron A, Walton RP, Jackson DJ, Johnston SL. Viral infections in allergy and immunology: How allergic inflammation influences viral infections and illness. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 140(4): 909-920. doi: 10.1016/j.jaci.2017.07.025
71. Adeli M, El-Shareif T, Hendaus MA. Asthma exacerbation related to viral infections: An up to date summary. *J Family Med Prim Care*. 2019; 8: 2753-2759. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_86_19
72. Nair P, Aziz-Ur-Rehman A, Radford K. Therapeutic implications of 'neutrophilic asthma'. *Curr Opin Pulm Med*. 2015; 21(1): 33-38. doi: 10.1097/MCP.0000000000000120
73. Panettieri RA. The role of neutrophils in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2018; 38(4): 629-638. doi: 10.1016/j.iac.2018.06.005
74. Snelgrove RJ, Patel DF, Patel T, Lloyd CM. The enigmatic role of the neutrophil in asthma: Friend, foe or indifferent? *Clin Exp Allergy*. 2018; 48(10): 1275-1285. doi: 10.1111/cea.13191
75. Nishio T, Wakahara K, Suzuki Y, Nishio N, Majima S, Nakamura S, et al. Mixed cell type in airway inflammation is the dominant phenotype in asthma patients with severe chronic rhinosinusitis. *Allergol Int*. 2019; 68(4): 515-520. doi: 10.1016/j.alit.2019.05.004
76. Wakahara K, Nishio T, Suzuki Y, Majima S, Nakamura S, Hasegawa Y. Increasing sputum basophils is a marker for eosinophil-dominant airway inflammation in adult asthma. *Eur Respir J*. 2018; 52: PA4425. doi: 10.1183/13993003.congress-2018.PA4425
77. Ullmann N, Bossley CJ, Fleming L, Silvestri M, Bush A, Saglani S. Blood eosinophil counts rarely reflect airway eosinophilia in children with severe asthma. *Allergy*. 2013; 68: 402-406. doi: 10.1111/all.12101
78. Bossley CJ, Fleming L, Gupta A, Regamey N, Frith J, Oates T, et al. Pediatric severe asthma is characterized by eosinophilia and remodeling without T(H)2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 129: 974-982.e13. doi: 10.1016/j.jaci.2012.01.059
79. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. 2014; 43(2): 343-373. doi: 10.1183/09031936.00202013
80. Sagel SD, Wagner BD, Anthony MM, Emmett P, Zemanick ET. Sputum biomarkers of inflammation and lung function decline in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186: 857-865.
81. Jochmann A, Artusio L, Robson K, Nagakumar P, Collins N, Fleming L, et al. Infection and inflammation in induced sputum from preschool children with chronic airways diseases. *Pediatr Pulmonol*. 2016; 51(8): 778-786. doi: 10.1002/ppul.23366

Сведения об авторах

- Чулков Василий Сергеевич** – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: vschulkov@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0952-6856>
- Минина Елена Евгеньевна** – кандидат медицинских наук, старший лаборант кафедры факультетской педиатрии им. Н.С. Тюриной, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: eminina79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1405-251X>
- Медведева Лариса Валентиновна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской педиатрии им. Н.С. Тюриной, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: larisa-medved@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1906-8465>

Information about the authors

- Vasiliy S. Chulkov** – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Intermediate-Level Therapy, South Ural State Medical University, e-mail: vschulkov@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0952-6856>
- Elena E. Minina** – Cand. Sc. (Med.), Senior Teaching Assistant at the Department of Intermediate-Level Pediatrics named after N.S. Tuyrina, South Ural State Medical University, e-mail: eminina79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1405-251X>
- Larisa V. Medvedeva** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Intermediate-Level Pediatrics named after N.S. Tuyrina, South Ural State Medical University, e-mail: larisa-medved@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1906-8465>

КОМОРБИДНОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ КИШЕЧНИКА И ОЖИРЕНИЯ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ МИКРОБИОМА

РЕЗЮМЕ

Клименко Е.С.,
Белькова Н.Л.,
Погодина А.В.,
Рычкова Л.В.,
Даренская М.А.

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Клименко Елизавета
Станиславовна,
e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com

Бактериальная экосистема кишечника играет фундаментальную роль в нормальном функционировании метаболической и иммунной системы. Функциональные заболевания кишечника и ожирение имеют широкое распространение среди населения и приводят к высокой нагрузке на здравоохранение. Считается, что для ожирения и функционального расстройства кишечника (ФРК) может быть характерна как коморбидность, так и мультиморбидность. Изменения в микробиоме могут быть как причиной, так и следствием каждого из заболеваний: ФРК изменяет композицию микробиомы, вследствие чего развивается ожирение, и наоборот. Для ФРК и ожирения характерен схожий тип дисбиоза.

Целью данного обзора стал анализ имеющихся на сегодняшний день результатов исследований для установления взаимосвязи между кишечным микробиомом, функциональными заболеваниями кишечника и ожирением. В исследованиях показано, что у пациентов с ФРК кишечный микробиом отличается от микробиома здорового человека. Для ФРК описаны общие закономерности состава кишечной микробиомы, определены характерные таксономические группы бактерий. С другой стороны, следует отметить отсутствие чётких взаимосвязей между ФРК и ожирением с точки зрения микробиомы. Эту неоднозначность результатов можно объяснить высокой гетерогенностью ФРК, а также отсутствием унифицированного подхода к созданию дизайна исследования, разным размером популяционных выборок и разными критериями для постановки диагнозов. Обсуждается вопрос по формированию критерии при разработке дизайна будущих исследований.

Ключевые слова: кишечный микробиом, функциональные заболевания кишечника, синдром раздражённого кишечника, функциональный запор, функциональная диарея, ожирение, избыточный вес

Статья поступила: 05.07.2022
Статья принята: 26.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: 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. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.6

COMORBIDITY OF FUNCTIONAL BOWEL DISORDERS AND OBESITY IN TERMS OF MICROBIOME

ABSTRACT

Klimenko E.S.,
Belkova N.L.,
Pogodina A.V.,
Rychkova L.V.,
Darenskaya M.A.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Elizaveta S. Klimenko,
e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com

Bacterial ecosystem of the gut plays a fundamental role in the normal functioning of the metabolic and immune systems. Functional bowel disease and obesity are highly prevalent in the population and place a heavy burden on healthcare system. Both comorbidity and multimorbidity are considered to be common for obesity and intestinal functional disorders. Changes in the microbiota can be both the cause and consequence of each disease: intestinal functional disorder changes the composition of the microbiota, resulting in obesity, and vice versa. Intestinal functional disorders and obesity are characterized by a similar type of dysbiosis.

The aim of the review is to analyze the research findings available to date in order to establish the relationship between the gut microbiome, functional bowel disease and obesity. The researches have shown that patients with intestinal functional disorders have a different gut microbiome than healthy individuals. For intestinal functional disorders, the general patterns of the intestinal microbiota composition were described, and the characteristic taxonomic groups of bacteria were identified. On the other side, it must be noted that there is no clear correlation between intestinal functional disorders and obesity in terms of the microbiota. This can be explained by the high heterogeneity of intestinal functional disorders, as well as by the lack of a unified approach to creating a study design, by different sizes of population samples and also by different diagnostic criteria. The necessity to determine the criteria in the development of the design of future studies is discussed.

Key words: gut microbiome, functional bowel disease, irritable bowel syndrome, functional constipation, functional diarrhea, obesity, overweight

Received: 05.07.2022

Accepted: 26.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Klimenko E.S., Belkova N.L., Pogodina A.V., Rychkova L.V., Darenskaya M.A. Comorbidity of functional bowel disorders and obesity in terms of microbiome. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 56-66. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.6

ВВЕДЕНИЕ

Недавние достижения в области независимых от культивирования методов значительно расширили понимание микробиоты кишечника человека и её функций. Становится всё более очевидным, что бактерии, населяющие кишечный тракт, играют ключевую роль в гомеостазе хозяина и участвуют в прогрессировании и развитии многочисленных заболеваний человека. Доказано влияние кишечной микробиоты на развитие атеросклероза, ожирения, метаболического синдрома, сахарного диабета 2-го типа, неалкогольной жировой болезни печени, воспалительных заболеваний кишечника. Установлено, что дисбаланс кишечной микробиоты является причинным фактором метаболических и аутоиммунных заболеваний. Бактериальная экосистема кишечника играет фундаментальную роль в нормальном функционировании метаболической и иммунной систем [1, 2].

Функциональные расстройства кишечника (ФРК) считаются распространённым явлением и ложатся экономическим бременем на семьи пациентов и систему здравоохранения. Они представлены рядом хронических или повторяющихся желудочно-кишечных симптомов, которые нельзя объяснить структурными или биохимическими отклонениями, и часто связаны с дисбиотическим состоянием микробиоты кишечника [3–6].

Ожирение является хроническим мультифакторным гетерогенным заболеванием, развивающимся в результате дисбаланса потребления и расхода энергии и проявляющимся избыточным развитием жировой ткани. Данное заболевание несёт для человека высокий кардиометаболический риск и приводит к различным осложнениям [3, 7–10].

Учитывая, что заболевания, связанные с функциональными расстройствами кишечника и ожирением, являются быстро растущими проблемами здравоохранения во всём мире, в статье мы представляем краткий обзор данных о взаимосвязи между кишечным микробиомом, функциональными заболеваниями кишечника и ожирением. Для поиска источников литературы использовали базы данных PubMed и eLIBRARY с глубиной поиска 20 лет, отдавая предпочтение работам последних 5 лет. Для поиска в базе данных PubMed использовали следующие ключевые слова: *gut microbiome, functional bowel disease, irritable bowel syndrome, obesity, overweight*. Для поиска в базе данных eLIBRARY использовали ключевые слова: кишечная микробиота, микробиом кишечника, микрофлора кишечника, функциональные расстройства кишечника, ФГИР, СРК, ожирение.

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ РАССТРОЙСТВАХ

Согласно Римским критериям IV, к функциональным кишечным расстройствам относятся такие заболевания, как синдром раздражённого кишечника (СРК), неклассифицируемый СРК, функциональный запор, функцио-

нальная диарея, функциональное абдоминальное вздутие и неспецифическое функциональное кишечное расстройство [11].

СРК относится к одним из самых распространённых заболеваний желудочно-кишечного тракта. Согласно недавнему исследованию с использованием диагностических Римских критериев IV, распространённость функциональных расстройств составляет примерно 40 % от всего мирового населения [5]. Данный синдром ассоциирован с рецидивирующей абдоминальной болью, вздутием и нарушением моторно-эвакуаторной функции кишечника. Синдром раздражённого кишечника имеет три фенотипа: СРК с преобладанием запоров (СРК-З), СРК с преобладанием диареи (СРК-Д) и смешанный тип.

Кишечная микробиота наиболее изучена при СРК, для остальных расстройств группы не было обнаружено публикаций, описывающих особенности микробиоты кишечника. Это может быть связано со сложностью диагностики функциональных кишечных расстройств.

В результате исследований, опирающихся на высокопроизводительные технологии секвенирования кишечного микробиома, выявлены некоторые общие закономерности для структуры микробиоты при СРК: пристеночная микробиота ободочной кишки отличается от просветной; по видовому разнообразию просветной микробиоты можно спрогнозировать степень тяжести заболевания [12, 13]. Кроме того, исследователи отмечают снижение бактериального разнообразия и некоторые отличия на уровне видов в сравнении с микробиомом условно здорового человека [12, 14]. Для СРК характерно увеличение численности *Firmicutes* и уменьшение численности *Bacteroides*. Увеличение численности *Firmicutes* было связано с представленностью такими филотипами, как *Eubacterium, Ruminococcaceae* spp. и кластером *Clostridum XIVa*. На более низком таксономическом уровне все случаи СРК можно разделить на две группы. Для первой группы характерно наличие повышенной численности представителей семейства *Lachnospiraceae*, кластера *Clostridum XIVa* и *Lachnospiraceae incertae sedis*. Для второй группы характерен относительный избыток некультивируемых представителей порядка *Clostridiales*, представленных в основном *Ruminococcaceae*, и кластера *Clostridium IV*. Хотя представители этих бактериальных таксонов были в целом не охарактеризованы, они, как правило, описывались как часть нормобиоты кишечника [14].

У большинства пациентов с СРК в составе пристеночной и фекальной микробиоты снижено число представителей рода *Bifidobacterium*. Это обстоятельство объясняет эффективность приёма пробиотиков, содержащих штаммы *Bifidobacterium*, в уменьшении выраженности симптомов СРК [15, 16].

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА И ОЖИРЕНИЕ

Заболеваемость ожирением продолжает расти угрожающими темпами во всём мире, и ожирение действительно представляет собой глобальную эпидемию.

По данным Всемирной организации здравоохранения, с 1975 по 2016 г. распространённость ожирения во всём мире увеличилась в 3 раза. Более 1,9 млрд взрослых старше 18 лет (39 % мужчин, 40 % женщин) имеют избыточный вес, из них 650 млн (11 % мужчин, 15 % женщин) страдают ожирением [17]. Взаимосвязи ожирения и микробиома посвящено множество публикаций отечественных исследователей [18–22].

Микробиота кишечника рассматривается как важнейший фактор, регулирующий процесс накопления избыточной массы тела, поскольку она участвует в энергетическом обмене организма хозяина и поддерживает гомеостаз внутренней среды. [23]. Firmicutes и Bacteroidetes являются двумя наиболее распространёнными филумами микробиоты кишечника человека. Firmicutes – это грамположительные бактерии с низким содержанием GC, представлены в кишечном микробиоме родами *Clostridium*, *Lactobacillus* и *Coprococcus*. Bacteroidetes в основном представлены родами *Bacteroides*, *Prevotella* и *Desulfuribacillus*. Считается, что численность Firmicutes у взрослых с избыточным весом увеличивается, тогда как численность Bacteroidetes уменьшается [24], что приводит к увеличению отношения Firmicutes/Bacteroidetes. Тот же результат наблюдался в микробиоте кишечника детей с избыточным весом/ожирением [25].

Численность *Verrucomicrobia* в микробиоте кишечника человека относительно невелика. Анаэробная бактерия *Akkermansia muciniphila* является единственным известным представителем *Verrucomicrobia* в кишечном тракте человека [26]. Дети с избыточным весом имеют более низкую численность *Akkermansia muciniphila* [27], что также наблюдается у взрослых с ожирением [28]. Счи-

тается, что это потенциальный пробиотик против метаболического воспаления и ожирения [29].

В фекалиях детей с ожирением наблюдается большое количество протеобактерий, и эти бактерии имеют значительную положительную корреляцию с уровнями индекса массы тела (ИМТ) [30, 31]. Следует отметить, что физические упражнения значительно снижают количество протеобактерий у детей с ожирением [32].

Высокая численность актинобактерий, в частности *Bifidobacterium*, отрицательно коррелирует с ИМТ у детей с ожирением [33, 34]. *Bifidobacterium* – это род актинобактерий, обладающих пробиотическими свойствами. Эти бактерии способны ингибировать рост условно-патогенных энтеробактерий и энтерококков, а также способствуют развитию и созреванию слизистой оболочки кишечника младенцев, тем самым снижая заболеваемость диареей [35, 36]. Исследования показали, что количество бифидобактерий у детей с ожирением значительно ниже, чем у детей с нормальным весом, и предполагается, что они участвуют в накоплении жира [37]. После снижения веса до нормального значения количество бифидобактерий восстанавливается [38].

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПРИ СОЧЕТАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ РАССТРОЙСТВ И ОЖИРЕНИЯ

На сегодняшний день существует очень мало работ, посвящённых исследованию микробиома в случае сочетания ожирения и функциональных расстройств кишечника. Краткое описание размера выборки и дизай-

ТАБЛИЦА 1
КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПУБЛИКАЦИЙ

TABLE 1
BRIEF DESCRIPTION OF PUBLICATIONS

| Авторы | Выборка | Дизайн |
|---------------------------------|---|---|
| Aasbrenn M. et al., 2018 [39] | Ожирение + СРК ($n = 28$), ожирение ($n = 71$), СРК ($n = 63$), здоровые ($n = 91$) | В исследование включали пациентов клиники с установленными диагнозами ожирения и СРК. Присутствие определённых бактериальных таксонов в фекальном материале выявляли с помощью тест-системы из 54 родоспецифичных зондов с последующей оценкой результата от 1 до 5. Значения ниже 2 принимались за отсутствие дисбиоза. |
| Романица А.И. и др., 2021 [40] | 20 пациентов СРК + ожирение ($n = 13$), здоровые ($n = 7$) | Ожирение диагностировали по значению стандартного отклонения ИМТ $> 2,0$. В контрольную группу включали пациентов со значением стандартного отклонения ИМТ от -2 до 1 . Симптомы кишечного расстройства оценивали с помощью анкетирования медработником; анкеты разработаны на основе Римских критерииев IV. Микробиоту фекального материала изучали бактериологическими методами. |
| Немченко У.М. и др., 2021 [41] | 20 пациентов Ожирение + ФРК ($n = 13$) здоровые ($n = 7$) | Ожирение диагностировали по значению стандартного отклонения ИМТ $> 2,0$. В контрольную группу включали пациентов со значением стандартного отклонения ИМТ от -2 до 1 . Симптомы кишечного расстройства оценивали с помощью анкетирования медработником; анкеты разработаны на основе Римских критерииев IV. Микробиоту фекального материала изучали бактериологическими методами. |
| Kumbhare S.V. et al., 2022 [42] | 104 пациента | Все пациенты имели избыточный вес или ожирение и достигли снижения веса на 5 % или более. Рассматривались следующие варианты ФГИР: СРК, диарея, запор, вздутие живота, газообразование и наличие спазмов. Проявление симптомов ФГИР у пациентов оценивалось с помощью анкетирования. Фекальный материал от пациентов был секвенирован по V3–V4 вариабельным фрагментам гена 16S рРНК. |

на исследования обнаруженных публикаций представлено в таблице 1.

Исследование M. Aasbrenn и соавт. было посвящено оценке диагностических свойств нового теста на фекальный дисбиоз, предназначенного для быстрого скрининга СРК. В этом исследовании также сравнивались показатели распространённости дисбиоза, связанного с СРК, и патологического ожирения [39].

В данном исследовании применялся диагностический тест GA-map Dysbiosis Test (Genetic Analysis AS, Норвегия), который позволяет картировать профиль кишечной микробиоты для определённой группы бактерий и используется для выявления и характеристики дисбиоза в клинических условиях. Этот тест был разработан C. Casen и соавт. и представлял собой 54 ДНК-зонда. Зонды были сделаны на V3-V7 вариабельные участки гена 16S рРНК для следующих таксономических групп: Actinobacteria (*Atopobium*, *Bifidobacterium*), Bacteroidetes (*Alistipes*, *Bacteroides*, *Bacteroides/Prevotella*, *Parabacteroides*, *Prevotella*), Firmicutes (*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pedicoccus/Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Streptococcus/Eubacterium*, *Anaerotruncus*, *Blautia*, *Clostridium*, *Desulfitospira*, *Dorea*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Catenibacterium*, *Coprobacillus*, *Unclassified Erysipelotrichaceae*, *Dialister*, *Megasphaera/Dialister*, *Phascolarctobacterium*, *Veillonella/Helicobacter*, Firmicutes/Tenericutes/Bacteroidetes species, Proteobacteria (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Cronobacter*, *Enterobacter*, *Shigella/Escherichia*), Tenericutes (*Mycoplasma*), Verrucomicrobia (*Akkermansia*). Таксоны были выбраны авторами теста на основе математической модели дисбиоза с бактериальным профилем. Модель алгоритмически оценивает обилие и профиль фекальных бактерий, а также потенциальное клинически значимое отклонение микробиома от нормобиоза. Эта модель была протестирована на различных образцах здоровых добровольцев и больных СРК и воспалительными заболеваниями кишечника ($n = 330$) для определения способности выявлять дисбиоз [43].

M. Aasbrenn с соавт. сообщают, что дисбиотическое состояние кишечной микробиоты присутствовало у лиц с морбидным ожирением независимо от наличия СРК. У здоровых участников эксперимента дисбиотические маркеры были менее распространены [39].

Сложность интерпретации результатов данного исследования заключается в том, что используемый тест включает в себя только 54 родоспецифичных зонда и анализирует лишь небольшую часть генетического материала, основывается на ограниченной информации о всём разнообразии фекальной микробиоты. Помимо этого, тест не даёт никакой количественной или полу-количественной оценки численности бактерий напрямую – он даёт лишь информацию о том, присутствует риск дисбиоза или нет.

Показатели распространённости дисбиоза, измеренные с помощью теста, по-видимому, сильно различаются между разными группами здоровых добровольцев, а также между группами субъектов с одним и тем же заболеванием. Имеет значение большое количество фак-

торов (диета, географическое положение и консистенция стула) [44].

S.V. Kunbhare и соавт. с помощью регрессионного анализа пытались определить биомаркеры ФГИР у людей с ожирением или избыточным весом. Согласно результатам исследования, наличие представителей родов *Fusicatenibacter*, *Intestinimonas* и *Megasphaera* связано с уменьшением симптомов ФГИР [42]. Эти бактерии являются продуцентами короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) [45–48]. КЖК играют важную роль в поддержании гомеостаза слизистой оболочки [49], и этот факт может объяснить, почему эти таксоны были либо отрицательно связаны со статусом ФГИР, либо коррелировали с уменьшением симптомов в исследуемой когорте. Также было показано, что наличие бактерий рода *Lactobacillus* коррелирует с уменьшением симптомов диареи [42]. Этот эффект описывается в других исследованиях [50–52].

С присутствием ФГИР или усилением их симптомов коррелировали представители родов *Desulfovibrio*, *Akkermansia* и подгруппы *Ruminococcus torques* [42]. Бактерии рода *Desulfovibrio* через диссимиляционный путь восстановления сульфата продуцируют газообразный сероводород, который может приводить к воспалительным заболеваниям кишечника [53, 54]. Предполагается, что представители рода *Akkermansia* положительно влияют на здоровье кишечника. Однако также сообщается и об обратной корреляции с облегчением симптомов ФГИР [55]. *Akkermansia* отрицательно коррелирует с ожирением, и при увеличении численности этого микроорганизма происходит снижение массы тела [56]. Присутствие данных бактерий можно объяснить тем фактом, что в исследуемую когорту отбирались пациенты, которые успешно похудели.

Различные подгруппы *Ruminococcus torques* были связаны в литературе с СРК-Д и смешанным СРК [57]. С проявлением ФГИР также ассоциирован род *Terrisporobacter*, который в литературе связывают с воспалением и дисбактериозом кишечника [58].

S.V. Kunbhare и соавт. сообщают о том, что критерии включения не учитывали факторы, которые влияют на состав микробиома (использование пробиотиков или антибиотиков) или сопутствующие заболевания (кожные заболевания, гипотиреоз, диабет, холестерин, гипертония), которые могут исказить результаты. Помимо этого, анкета, в которой участников просили оценить тяжесть симптомов различных ФГИР по шкале от 1 до 5, не являлась утверждённым клиническим инструментом [42].

Следует отметить, что регрессионная модель, реализованная в этой работе, лучше всего подходит именно для проанализированной когорты и не предназначена для выводов о микробиоме при ФГИР и ожирении в рамках генеральной совокупности.

Согласно данным А.И. Романицы и соавт., существует связь клинических симптомов ФРК с диагностически значимыми изменениями состава кишечной микробиоты у подростков с ожирением. Авторами было выявлено, что для подростков с ожирением и ФРК характерно снижение концентрации индигенных микроорганизмов, уменьшение численности бифидобактерий, а так-

же появление штаммов *E. coli* с изменёнными свойствами и представителей условно-патогенной микробиоты (УПМ). Уменьшение численности бифидо- и лактобактерий наблюдалось также и в группе контроля, но *E. coli* с изменёнными свойствами и УПМ сем. Enterobacteriaceae в диагностически значимой концентрации регистрировали только в основной группе. Это говорит о наличии более глубоких дисбиотических нарушений в биоценозе толстой кишки у подростков с ожирением [40].

Считается, что представители УПМ сем. Enterobacteriaceae были связаны с абдоминальной болью и запорами. Также с запорами было связано наличие *Enterococcus* spp. С диареей ассоциировалась высокая численность *E. coli* с изменёнными свойствами и присутствие *Clostridium* spp. Неустойчивый стул был ассоциирован со сниженной численностью лактобактерий и *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами, а также с присутствием *E. coli* с изменёнными свойствами, УПМ сем. Enterobacteriaceae и *Clostridium* spp [40, 41].

Связь между УПМ сем. Enterobacteriaceae и абдоминальной болью можно объяснить способностью энтеробактерий к продукции аммиака и сероводорода с последующим накоплением газа в просвете кишечника.

Для бактерий рода *Clostridium* давно описана связь с симптомами СРК. L. Rigsbee и соавт. установили, что изменение метаболизма кишечных газов и повышенная чувствительность толстой кишки связаны с наличием *Clostridium* spp и симптомами СРК [59].

В целом в литературе и для ожирения, и для СРК описывается схожий тип дисбиоза, характеризующийся увеличением численности Firmicutes и уменьшением Bacteroides [14, 24, 25]. Эти изменения приводят к нарушениям эпителиального барьера и активируют воспаление слизистой оболочки и секретомоторные рефлексы. Кроме того, такое соотношение представителей основных бактериальных филумов способствует более активному расщеплению углеводородных комплексов в перевариваемой пище и, как следствие, повышенной способности извлекать энергию из пищи [3, 60].

Из-за сильно различающегося дизайна исследований, разных размеров выборок, отсутствия единых критериев постановки диагноза и разных методик оценки бактериального разнообразия сложно определить, что было первично – дисбиоз или кишечные расстройства и ожирение. С одной стороны, изменение состава кишечной микробиоты может быть связано с развитием ФРК, а с другой стороны, изменённая микробиота может быть фактором, который вызывает неправильный энергетический обмен и способствует развитию ожирения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ имеющихся публикаций по теме исследования показал наличие предпосылок взаимосвязи данных заболеваний, но отсутствие убедительных доказательств их коморбидности. Неоднозначность результатов исследований кишечного микробиома объясняется не только высокой гетерогенностью функциональных расстройств

кишечника, но и отсутствием унифицированного подхода к созданию дизайна исследования, разным размером популяционных выборок и разными критериями для постановки диагнозов.

Планирование новых исследований, основанных на единых диагностических критериях, создание стандартных операционных процедур, формирование более жёстких критериев исключения в основную группу, дополнение их результатами биохимических тестов, а также использование метагеномного секвенирования позволяют выявить более глубокие взаимосвязи между функциональными расстройствами кишечника, ожирением и микробиомом.

Информация о финансировании

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ-3382.2022.1.4).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карпеева Ю.С., Новикова В.П., Хавкин А.И., Ковтун Т.А., Макаркин Д.В., Федотова О.Б. Микробиота и болезни человека: возможности диетической коррекции. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2020; 65(5): 116-125. doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-116-125
2. Бобунов Д.Н., Иорданишвили А.К., Михайлов В.Д., Шапурко О.Н. Роль микробиоты кишечника в реабилитации больных с ожирением. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; (5): 105-110. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-165-5-105-110
3. Погодина А.А., Романица А.И., Рычкова Л.В. Ожирение и функциональные заболевания кишечника: существует ли связь? *Ожирение и метаболизм*. 2021; 18(2): 132-141. doi: 10.14341/omet12706
4. Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Романица А.И., Погодина А.В., Рычкова Л.В. Разнообразие и метаболический потенциал кишечного микробиома подростков с функциональным расстройством кишечника. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 172(12): 675-680. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-12-675-680
5. Sperber AD, Bangdiwala SI, Drossman DA, Ghoshal UC, Simren M, Tack J, et al. Worldwide prevalence and burden of functional gastrointestinal disorders, results of Rome Foundation global study. *Gastroenterology*. 2021; 160(1): 99-114.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2020.04.014
6. Gagliardi A, Totino V, Cacciotti F, Iebba V, Neroni B, Bonfiglio G, et al. Rebuilding the gut microbiota ecosystem. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(8): 1679. doi: 10.3390/ijerph15081679
7. Симаненков В.И., Тихонов С.В., Декканова В.Д. Ожирение и синдром раздраженного кишечника. Есть ли связь? *Медицинский алфавит*. 2019; 2(13): 14-19. doi: 10.33667/2078-5631-2019-2-13(388)-14-19
8. Колосов Ю.А., Колесников С.И., Анищенко А.П., Бурдюкова Е.В., Гуревич К.Г. Избыточная масса тела и ожирение у детей,

- подростков и взрослых: причины развития и факторы риска. *Патогенез*. 2016; 14(4): 9-14.
9. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Колесников С.И. Состояние липидного обмена и антиоксидантный статус при экзогенно-конституциональном ожирении у девушки Бурятии. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2021; 66(1): 80-86. doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-80-86
10. Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Семенова Н.В., Никитина О.А., Бричагина А.С., и др. Определение наиболее информативных показателей биохимического статуса у юношей различной этнической принадлежности с ожирением с помощью дискриминантного анализа. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 173(4): 468-473. doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-4-468-473
11. Black CJ, Ford AC. Assessing the impact of changes to the Rome IV criteria for clinical practice in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2022; 162(6): 1752-1754.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2022.01.021
12. Плотникова Е.Ю. Уникальный штамм *Bifidobacterium longum* и его эффективность при синдроме раздраженного кишечника. *Медицинский совет*. 2020; (21): 144-150. doi: 10.21518/2079-701X-2020-21-144-150
13. Bennet SMP, Böhn L, Störsrud S, Liljebo T, Collin L, Lindfors P, et al. Multivariate modelling of faecal bacterial profiles of patients with IBS predicts responsiveness to a diet low in FODMAPs. *Gut*. 2018; 67(5): 872-881. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313128
14. Jeffery IB, Quigley EM, Öhman L, Simrén M, O'Toole PW. The microbiota link to irritable bowel syndrome: An emerging story. *Gut Microbes*. 2012; 3(6): 572-576. doi: 10.4161/gmic.21772
15. Ивашин К.В., Гречишникова В.Р., Решетова М.С., Ивашин В.Т. Связь синдрома раздраженного кишечника и синдрома избыточного бактериального роста: бактериальная гипотеза в основе функционального заболевания. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2021; 31(1): 54-63. doi: 10.22416/1382-4376-2021-31-1-54-63
16. Yuan F, Ni H, Asche CV, Kim M, Walayat S, Ren J. Efficacy of *Bifidobacterium infantis* 35624 in patients with irritable bowel syndrome: A meta-analysis. *Curr Med Res Opin*. 2017; 33(7): 1191-1197. doi: 10.1080/03007995.2017.1292230
17. Sehgal K, Khanna S. Gut microbiota: A target for intervention in obesity. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021; 15(10): 1169-1179. doi: 10.1080/17474124.2021.1963232
18. Самойлова Ю.Г., Олейник О.А., Саган Е.В., Ворожцова И.Н., Филиппова Т.А., Денисов Н.С., и др. 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
19. Олейник О.А., Самойлова Ю.Г., Саган Е.В., Подчиненова Д.В., Дириаева Н.М. Особенности состава микробиоты биотопа тонкого кишечника и секреции инкретинов при ожирении у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2021; 24(4): 269-269.
20. Новикова Е.А., Баирова Т.А. Питание и кишечная микробиота при ожирении: региональные и этнические аспекты (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1): 19-25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.1.3
21. Чуркина А.И., Фрейлихман О.А., Максимова К.В., Кондратенко Ю.Д., Федорова О.В., Калинина О.В., и др. Анализ профиля микробиома кишечника пациентов с ожирением. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2020; 1-2: 93.
22. 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. doi: 10.21886/2219-8075-2020-11-2-38-45
23. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: A review. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2020; 113(12): 2019-2040. doi: 10.1007/s10482-020-01474-7
24. Zhang S, Dang Y. Roles of gut microbiota and metabolites in overweight and obesity of children. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 994930. doi: 10.3389/fendo.2022.994930
25. Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*. 2018; 9(4): 308-325. doi: 10.1080/19490976.2018.1465157
26. Becken B, Davey L, Middleton DR, Mueller KD, Sharma A, Holmes ZC, et al. Genotypic and phenotypic diversity among human isolates of *Akkermansia muciniphila*. *mBio*. 2021; 12(3): e00478-21. doi: 10.1128/mBio.00478-21
27. Karlsson CL, Onnerfält J, Xu J, Molin G, Ahrné S, Thorsgren-Jerneck K. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring)*. 2012; 20(11): 2257-2261. doi: 10.1038/oby.2012.110
28. Depommier C, Everard A, Druart C, Maiter D, Thissen JP, Loumiae A, et al. Serum metabolite profiling yields insights into health promoting effect of *A. muciniphila* in human volunteers with a metabolic syndrome. *Gut Microbes*. 2021; 13(1): 1994270. doi: 10.1080/19490976.2021.1994270
29. Edwards PT, Kashyap PC, Preidis GA. Microbiota on biotics: probiotics, prebiotics, and synbiotics to optimize growth and metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020; 319(3): G382-G390. doi: 10.1152/ajpgi.00028.2020
30. Méndez-Salazar EO, Ortiz-López MG, Granados-Silvestre MLÁ, Palacios-González B, Menjivar M. Altered gut microbiota and compositional changes in *Firmicutes* and *Proteobacteria* in Mexican undernourished and obese children. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2494. doi: 10.3389/fmicb.2018.02494
31. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013; 57(2): 601-609. doi: 10.1002/hep.26093
32. Quiroga R, Nistal E, Estébanez B, Porras D, Juárez-Fernández M, Martínez-Flórez S, et al. Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. *Exp Mol Med*. 2020; 52(7): 1048-1061. doi: 10.1038/s12276-020-0459-0
33. Bai J, Hu Y, Bruner DW. Composition of gut microbiota and its association with body mass index and lifestyle factors in a cohort of 7–18 years old children from the American Gut Project. *Pediatr Obes*. 2019; 14(4): e12480. doi: 10.1111/ijpo.12480
34. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, Russo A, De Stefanis C, Gnani D, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology*. 2017; 65(2): 451-464. doi: 10.1002/hep.28572
35. Bozzi Cionci N, Baffoni L, Gaggia F, Di Gioia D. Therapeutic microbiology: The role of *Bifidobacterium breve* as food supplement

- for the prevention/treatment of paediatric diseases. *Nutrients*. 2018; 10(11): 1723. doi: 10.3390/nu10111723
36. Nagpal R, Kurakawa T, Tsuji H, Takahashi T, Kawashima K, Nagata S, et al. Evolution of gut *Bifidobacterium* population in healthy Japanese infants over the first three years of life: A quantitative assessment. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 10097. doi: 10.1038/s41598-017-10711-5
37. Da Silva CC, Monteil MA, Davis EM. Overweight and obesity in children are associated with an abundance of firmicutes and reduction of *Bifidobacterium* in their gastrointestinal microbiota. *Child Obes*. 2020; 16(3): 204-210. doi: 10.1089/chi.2019.0280
38. Hou YP, He QQ, Ouyang HM, Peng HS, Wang Q, Li J, et al. Human gut microbiota associated with obesity in Chinese children and adolescents. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 7585989. doi: 10.1155/2017/7585989
39. Aasbrenn M, Valeur J, Farup PG. Evaluation of a faecal dysbiosis test for irritable bowel syndrome in subjects with and without obesity. *Scand J Clin Lab Invest*. 2018; 78(1-2): 109-113. doi: 10.1080/00365513.2017.1419372
40. Романица А.И., Немченко У.М., Погодина А.В., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Воропаева Н.М., и др. Ассоциации клинических проявлений функциональных кишечных расстройств с характеристиками микробиоты толстой кишки у подростков: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(6-2): 73-81. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.8
41. Немченко У.М., Григорова Е.В., Погодина А.В., Белькова Н.Л., Воропаева Н.М., Романица А.И., и др. Взаимосвязь состава микробиоты и функциональных расстройств кишечника у подростков с ожирением. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(2): 106-109. doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-106-109
42. Kumbhare SV, Francis-Lyon PA, Kachru D, Uday T, Iru-dayanathan C, Muthukumar KM, et al. Digital therapeutics care utilizing genetic and gut microbiome signals for the management of functional gastrointestinal disorders: Results from a preliminary retrospective study. *Front Microbiol*. 2022; 13: 826916. doi: 10.3389/fmicb.2022.826916
43. Casén C, Vebø HC, Sekelja M, Hegge FT, Karlsson MK, Cierniejewska E, et al. Deviations in human gut microbiota: A novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 42(1): 71-83. doi: 10.1111/apt.13236
44. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*. 2016; 352(6285): 560-564. doi: 10.1126/science.aad3503
45. Takeshita K, Mizuno S, Mikami Y, Sujino T, Saigusa K, Matsuoka K, et al. A single species of *Clostridium* subcluster XIVa decreased in ulcerative colitis patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2016; 22(12): 2802-2810. doi: 10.1097/MIB.0000000000000972
46. Jin M, Kalainy S, Baskota N, Chiang D, Deehan EC, McDougall C, et al. Faecal microbiota from patients with cirrhosis has a low capacity to ferment non-digestible carbohydrates into short-chain fatty acids. *Liver Int*. 2019; 39(8): 1437-1447. doi: 10.1111/liv.14106
47. Bui TPN, Troise AD, Nijssse B, Roviello GN, Fogliano V, de Vos WM. Intestinimonas-like bacteria are important butyrate producers that utilize Nε-fructosyllysine and lysine in formula-fed infants and adults. *J Funct Foods*. 2020; 70: 103974. doi: 10.1016/j.jff.2020.103974
48. Luu M, Riester Z, Baldrich A, Reichardt N, Yuille S, Busetti A, et al. Microbial short-chain fatty acids modulate CD8+ T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 4077. doi: 10.1038/s41467-021-24331-1
49. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 2014; 121: 91-119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9
50. McFarland LV, Goh S. Are probiotics and prebiotics effective in the prevention of travellers' diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2019; 27: 11-19. doi: 10.1016/j.tmaid.2018.09.007
51. Lai HH, Chiu CH, Kong MS, Chang CJ, Chen CC. Probiotic *Lactobacillus casei*: Effective for managing childhood diarrhea by altering gut microbiota and attenuating fecal inflammatory markers. *Nutrients*. 2019; 11(5): 1150. doi: 10.3390/nu11051150
52. Yang B, Yue Y, Chen Y, Ding M, Li B, Wang L, et al. *Lactobacillus plantarum* CCFM1143 alleviates chronic diarrhea via inflammation regulation and gut microbiota modulation: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Front Immunol*. 2021; 12: 746585. doi: 10.3389/fimmu.2021.746585
53. Singh SB, Lin HC. Hydrogen sulfide in physiology and diseases of the digestive tract. *Microorganisms*. 2015; 3(4): 866-889. doi: 10.3390/microorganisms3040866
54. Kushkevych I, Dordević D, Kollar P, Vítězová M, Drago L. Hydrogen sulfide as a toxic product in the small-large intestine axis and its role in IBD development. *J Clin Med*. 2019; 8(7): 1054. doi: 10.3390/jcm8071054
55. Cruz-Agular RM, Wantia N, Clavel T, Vehreschild MJGT, Buch T, Bajbouj M, et al. An open-labeled study on fecal microbiota transfer in irritable bowel syndrome patients reveals improvement in abdominal pain associated with the relative abundance of *Akkermansia muciniphila*. *Digestion*. 2019; 100(2): 127-138. doi: 10.1159/000494252
56. Dahiya DK, Renuka A, Puniya M, Shandilya UK, Dhewa T, Kumar N, et al. Gut microbiota modulation and its relationship with obesity using prebiotic fibers and probiotics: A review. *Front Microbiol*. 2017; 8: 563. doi: 10.3389/fmicb.2017.00563
57. Lyra A, Rinttilä T, Nikkilä J, Krogius-Kurikka L, Kajander K, Malinen E, et al. Diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome distinguishable by 16S rRNA gene phylotype quantification. *World J Gastroenterol*. 2009; 15(47): 5936-5945. doi: 10.3748/wjg.15.5936
58. Lee SH, You HS, Kang HG, Kang SS, Hyun SH. Association between altered blood parameters and gut microbiota after symbiotic intake in healthy, elderly Korean women. *Nutrients*. 2020; 12(10): 3112. doi: 10.3390/nu12103112
59. Rigsbee L, Agans R, Shankar V, Kenche H, Khamis HJ, Michail S, et al. Quantitative profiling of gut microbiota of children with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2012; 107(11): 1740-51. doi: 10.1038/ajg.2012.287
60. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Feranchuk SI, Romanitsa AI, Novikova EA, et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bull Exp Biol Med*. 2019; 167(6): 759-762. doi: 10.1007/s10517-019-04617-7

REFERENCES

1. Karpeeva YuS, Novikova VP, Khavkin AI, Kovtun TA, Makarkin DV, Fedotova OB. Microbiota and human diseases: Dietary cor-

- rection. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2020; 65(5): 116-125. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-116-125
2. Bobunov DN, Iordanishvili AK, Mikhailov VD, Shapurko ON. Role of normal intestinal microflora (microbiotas) in rehabilitation of patients with obesity. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019; (5): 105-110. (In Russ.). doi: 10.31146/1682-8658-ecg-165-5-105-110
3. Pogodina AV, Romanitsa AI, Rychkova LV. Obesity and functional bowel disorders: are they linked? *Obesity and Metabolism*. 2021; 18(2): 132-141. (In Russ.). doi: 10.14341/omet12706
4. Klimenko ES, Belkova NL, Romanitsa AI, Pogodina AV, Rychkova LV. Diversity and metabolic potential of the gut microbiome of adolescents with functional bowel disorder. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 172(12): 675-680. (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-12-675-680
5. Sperber AD, Bangdiwala SI, Drossman DA, Ghoshal UC, Simren M, Tack J, et al. Worldwide prevalence and burden of functional gastrointestinal disorders, results of Rome Foundation global study. *Gastroenterology*. 2021; 160(1): 99-114.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2020.04.014
6. Gagliardi A, Totino V, Cacciotti F, Iebba V, Neroni B, Bonfiglio G, et al. Rebuilding the gut microbiota ecosystem. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(8): 1679. doi: 10.3390/ijerph15081679
7. Simanenkov VI, Tikhonov SV, Dekkanova VD. Irritable bowel syndrome in a patient with obesity: Accident or regularity? *Medical Alphabet*. 2019; 2(13): 14-19. (In Russ.). doi: 10.33667/2078-5631-2019-2-13(388)-14-19
8. Kolosov YuA, Kolesnikov SI, Anishchenko AP, Burdyukova EV, Gurevich KG. Overweight and obesity in children, adolescents and adults. *Pathogenesis*. 2016; 14(4): 9-14. (In Russ.).
9. Kolesnikova LI, Darenetskaya MA, Rychkova LV, Grebenkina LA, Semenova NV, Kolesnikov SI. Lipids metabolism and antioxidant status in exogenous constitutional obesity in girls of Buryatia. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2021; 66(1): 80-86. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-80-86
10. Darenetskaya MA, Rychkova LV, Kolesnikov SI, Semenova NV, Nikitina OA, Brichagina AS, et al. Biochemical status of different ethnicity male adolescents with obesity: discriminant analysis in the most informative indicators determination. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022; 173(4): 468-473. (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-4-468-473
11. Black CJ, Ford AC. Assessing the impact of changes to the Rome IV criteria for clinical practice in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2022; 162(6): 1752-1754.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2022.01.021
12. Plotnikova EYu. Unique strain of *Bifidobacterium longum* and its efficacy in irritable bowel syndrome. *Medical Council*. 2020; (21): 144-150. (In Russ.). doi: 10.21518/2079-701X-2020-21-144-150
13. Bennet SMP, Böhn L, Störsrud S, Liljebo T, Collin L, Lindfors P, et al. Multivariate modelling of faecal bacterial profiles of patients with IBS predicts responsiveness to a diet low in FODMAPs. *Gut*. 2018; 67(5): 872-881. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313128
14. Jeffery IB, Quigley EM, Öhman L, Simrén M, O'Toole PW. The microbiota link to irritable bowel syndrome: An emerging story. *Gut Microbes*. 2012; 3(6): 572-576. doi: 10.4161/gmic.21772
15. Ivashkin KV, Grechishnikova VR, Reshetova MS, Ivashkin VT. Irritable bowel and bacterial overgrowth syndromes: A bacterial link hypothesis of functional disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2021; 31(1): 54-63. (In Russ.). doi: 10.22416/1382-4376-2021-31-1-54-63
16. Yuan F, Ni H, Asche CV, Kim M, Walayat S, Ren J. Efficacy of *Bifidobacterium infantis* 35624 in patients with irritable bowel syndrome: A meta-analysis. *Curr Med Res Opin*. 2017; 33(7): 1191-1197. doi: 10.1080/03007995.2017.1292230
17. Sehgal K, Khanna S. Gut microbiota: A target for intervention in obesity. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021; 15(10): 1169-1179. doi: 10.1080/17474124.2021.1963232
18. Samoilova JG, Oleynik OA, Sagan EV, Vorozhtsova IN, Filippova TA, Denisov NS, et al. Composition and metabolic activity of the gut microbiota in obese children and adolescents. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2020; 35(3): 38-46. (In Russ.). doi: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46
19. Oleinik OA, Samoilova YuG, Sagan EV, Podchinenova DV, Dirayeva NM. Features of the composition of the microbiota of the biotope of the small intestine and the secretion of incretins in obesity in children. *Russian Pediatric Journal*. 2021; 24(4): 269-269. (In Russ.).
20. Novikova EA, Bairova TA. Obesity: Ethnic and regional differences in the diet and gut microbiota (review). *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1): 19-25. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2019-4.1.3
21. Churkina AI, Freilikhman OA, Maksimova KV, Kondratenko YuD, Fedorova OV, Kalinina OV, et al. Analysis of the gut microbiome profile of obese patients. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga*. 2020; 1-2: 93. (In Russ.).
22. Volkova NI, Naboka YL, Ganenko LA, Oksenuk 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
23. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: A review. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2020; 113(12): 2019-2040. doi: 10.1007/s10482-020-01474-7
24. Zhang S, Dang Y. Roles of gut microbiota and metabolites in overweight and obesity of children. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 994930. doi: 10.3389/fendo.2022.994930
25. Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*. 2018; 9(4): 308-325. doi: 10.1080/19490976.2018.1465157
26. Becken B, Davey L, Middleton DR, Mueller KD, Sharma A, Holmes ZC, et al. Genotypic and phenotypic diversity among human isolates of *Akkermansia muciniphila*. *mBio*. 2021; 12(3): e00478-21. doi: 10.1128/mBio.00478-21
27. Karlsson CL, Onnerfält J, Xu J, Molin G, Ahrné S, Thorsgren-Jerneck K. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring)*. 2012; 20(11): 2257-2261. doi: 10.1038/oby.2012.110
28. Depommier C, Everard A, Druart C, Maiter D, Thissen JP, Loumaye A, et al. Serum metabolite profiling yields insights into health promoting effect of *A. muciniphila* in human volunteers with a metabolic syndrome. *Gut Microbes*. 2021; 13(1): 1994270. doi: 10.1080/19490976.2021.1994270
29. Edwards PT, Kashyap PC, Preidis GA. Microbiota on biotics: probiotics, prebiotics, and synbiotics to optimize growth and metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020; 319(3): G382-G390. doi: 10.1152/ajpgi.00028.2020
30. Méndez-Salazar EO, Ortiz-López MG, Granados-Silvestre MLÁ, Palacios-González B, Menjivar M. Altered gut microbiota and compositional changes in *Firmicutes* and *Proteobacteria*

- in Mexican undernourished and obese children. *Front Microbiol.* 2018; 9: 2494. doi: 10.3389/fmicb.2018.02494
31. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology.* 2013; 57(2): 601-609. doi: 10.1002/hep.26093
 32. Quiroga R, Nistal E, Estébanez B, Porras D, Juárez-Fernández M, Martínez-Flórez S, et al. Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. *Exp Mol Med.* 2020; 52(7): 1048-1061. doi: 10.1038/s12276-020-0459-0
 33. Bai J, Hu Y, Bruner DW. Composition of gut microbiota and its association with body mass index and lifestyle factors in a cohort of 7–18 years old children from the American Gut Project. *Pediatr Obes.* 2019; 14(4): e12480. doi: 10.1111/ijpo.12480
 34. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, Russo A, De Stefanis C, Gnani D, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology.* 2017; 65(2): 451-464. doi: 10.1002/hep.28572
 35. Bozzi Cionci N, Baffoni L, Gaggia F, Di Gioia D. Therapeutic microbiology: The role of *Bifidobacterium breve* as food supplement for the prevention/treatment of paediatric diseases. *Nutrients.* 2018; 10(11): 1723. doi: 10.3390/nu10111723
 36. Nagpal R, Kurakawa T, Tsuji H, Takahashi T, Kawashima K, Nagata S, et al. Evolution of gut *Bifidobacterium* population in healthy Japanese infants over the first three years of life: A quantitative assessment. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 10097. doi: 10.1038/s41598-017-10711-5
 37. Da Silva CC, Monteil MA, Davis EM. Overweight and obesity in children are associated with an abundance of firmicutes and reduction of *Bifidobacterium* in their gastrointestinal microbiota. *Child Obes.* 2020; 16(3): 204-210. doi: 10.1089/chi.2019.0280
 38. Hou YP, He QQ, Ouyang HM, Peng HS, Wang Q, Li J, et al. Human gut microbiota associated with obesity in Chinese children and adolescents. *Biomed Res Int.* 2017; 2017: 7585989. doi: 10.1155/2017/7585989
 39. Aasbrenn M, Valeur J, Farup PG. Evaluation of a faecal dysbiosis test for irritable bowel syndrome in subjects with and without obesity. *Scand J Clin Lab Invest.* 2018; 78(1-2): 109-113. doi: 10.1080/00365513.2017.1419372
 40. Romanitsa AI, Nemchenko UM, Pogodina AV, Grigorova EV, Belkova NL, Voropayeva NM, et al. Associations of clinical features of functional bowel disorders with gut microbiota characteristics in adolescents: A pilot study. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(6-2): 73-81. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.8
 41. Nemchenko UM, Grigorova EV, Pogodina AV, Belkova NL, Voropayeva NM, Romanitsa AI, et al. The relationship between the composition of the microbiota and functional intestinal disorders in obese adolescents. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2022; 67(2): 106-109. (In Russ.). doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-106-109
 42. Kumbhare SV, Francis-Lyon PA, Kachru D, Uday T, Iru-dayanathan C, Muthukumar KM, et al. Digital therapeutics care utilizing genetic and gut microbiome signals for the management of functional gastrointestinal disorders: Results from a preliminary retrospective study. *Front Microbiol.* 2022; 13: 826916. doi: 10.3389/fmicb.2022.826916
 43. Casén C, Vebø HC, Sekelja M, Hegge FT, Karlsson MK, Ciemniewska E, et al. Deviations in human gut microbiota: A novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015; 42(1): 71-83. doi: 10.1111/apt.13236
 44. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science.* 2016; 352(6285): 560-564. doi: 10.1126/science.aad3503
 45. Takeshita K, Mizuno S, Mikami Y, Sujino T, Saigusa K, Matsuoka K, et al. A single species of *Clostridium* subcluster XIVa decreased in ulcerative colitis patients. *Inflamm Bowel Dis.* 2016; 22(12): 2802-2810. doi: 10.1097/MIB.0000000000000972
 46. Jin M, Kalainy S, Baskota N, Chiang D, Deehan EC, McDougall C, et al. Faecal microbiota from patients with cirrhosis has a low capacity to ferment non-digestible carbohydrates into short-chain fatty acids. *Liver Int.* 2019; 39(8): 1437-1447. doi: 10.1111/liv.14106
 47. Bui TPN, Troise AD, Nijssse B, Roviello GN, Fogliano V, de Vos WM. Intestinimonas-like bacteria are important butyrate producers that utilize Nε-fructosyllysine and lysine in formula-fed infants and adults. *J Funct Foods.* 2020; 70: 103974. doi: 10.1016/j.jff.2020.103974
 48. Luu M, Riester Z, Baldrich A, Reichardt N, Yuille S, Busetti A, et al. Microbial short-chain fatty acids modulate CD8+ T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer. *Nat Commun.* 2021; 12(1): 4077. doi: 10.1038/s41467-021-24331-1
 49. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol.* 2014; 121: 91-119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9
 50. McFarland LV, Goh S. Are probiotics and prebiotics effective in the prevention of travellers' diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis.* 2019; 27: 11-19. doi: 10.1016/j.tmaid.2018.09.007
 51. Lai HH, Chiu CH, Kong MS, Chang CJ, Chen CC. Probiotic *Lactobacillus casei*: Effective for managing childhood diarrhea by altering gut microbiota and attenuating fecal inflammatory markers. *Nutrients.* 2019; 11(5): 1150. doi: 10.3390/nu11051150
 52. Yang B, Yue Y, Chen Y, Ding M, Li B, Wang L, et al. *Lactobacillus plantarum* CCFM1143 alleviates chronic diarrhea via inflammation regulation and gut microbiota modulation: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Front Immunol.* 2021; 12: 746585. doi: 10.3389/fimmu.2021.746585
 53. Singh SB, Lin HC. Hydrogen sulfide in physiology and diseases of the digestive tract. *Microorganisms.* 2015; 3(4): 866-889. doi: 10.3390/microorganisms3040866
 54. Kushkevych I, Dordević D, Kollar P, Vítězová M, Drago L. Hydrogen sulfide as a toxic product in the small-large intestine axis and its role in IBD development. *J Clin Med.* 2019; 8(7): 1054. doi: 10.3390/jcm8071054
 55. Cruz-Agular RM, Wantia N, Clavel T, Vehreschild MJGT, Buch T, Bajbouj M, et al. An open-labeled study on fecal microbiota transfer in irritable bowel syndrome patients reveals improvement in abdominal pain associated with the relative abundance of *Akkermansia muciniphila*. *Digestion.* 2019; 100(2): 127-138. doi: 10.1159/000494252
 56. Dahiya DK, Renuka A, Puniya M, Shandilya UK, Dhewa T, Kumar N, et al. Gut microbiota modulation and its relationship with obesity using prebiotic fibers and probiotics: A review. *Front Microbiol.* 2017; 8: 563. doi: 10.3389/fmicb.2017.00563

57. Lyra A, Rinttilä T, Nikkilä J, Krogius-Kurikka L, Kajander K, Malinen E, et al. Diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome distinguishable by 16S rRNA gene phylotype quantification. *World J Gastroenterol.* 2009; 15(47): 5936-5945. doi: 10.3748/wjg.15.5936
58. Lee SH, You HS, Kang HG, Kang SS, Hyun SH. Association between altered blood parameters and gut microbiota after symbiotic intake in healthy, elderly Korean women. *Nutrients.* 2020; 12(10): 3112. doi: 10.3390/nu12103112
59. Rigsbee L, Agans R, Shankar V, Kenche H, Khamis HJ, Michail S, et al. Quantitative profiling of gut microbiota of children with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107(11): 1740-51. doi: 10.1038/ajg.2012.287
60. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Feranchuk SI, Romanitsa AI, Novikova EA, et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bull Exp Biol Med.* 2019; 167(6): 759-762. doi: 10.1007/s10517-019-04617-7

Сведения об авторах

- Клименко Елизавета Станиславовна** – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, 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, ведущий научный сотрудник, 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>
- Погодина Анна Валерьевна** – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: pogodina_av@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>
- Рычкова Любовь Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rychkova.nc@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>
- Даренская Марина Владимировна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Information about the authors

- Elizaveta S. Klimenko** – Junior Research Officer at the Laboratory of Microecology and the Microbiome, 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), Docent, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Microecology and the Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>
- Anna V. Pogodina** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: pogodina_av@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>
- Lyubov V. Rychkova** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rychkova.nc@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>
- Marina V. Darenskaya** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

INFECTIOUS DISEASES

ВЕРИФИКАЦИЯ СЛУЧАЯ МИКСТ ИНФЕКЦИИ БОЛЕЗНИ ЛАЙМА, КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И COVID-19

РЕЗЮМЕ

Леонова Г.Н.¹,
Шутикова А.Л.¹,
Попов А.Ф.^{2,3},
Щелканов М.Ю.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора (690087, г. Владивосток, Сельская ул., 1, Россия)

² ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 2, Россия)

³ Дальневосточный филиал, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России (690080, г. Владивосток, ул. Борисенко, 100/д, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Леонова Галина Николаевна,
e-mail: galinaleon41@gmail.com

Обоснование. Взаимоотношения возбудителей возникающих новых заболеваний и клещевых инфекций – малоизученное направление в проблеме инфекционных болезней.

Цель исследования. На примере случая тройной микст-инфекции (болезнь Лайма, клещевой энцефалит и COVID-19) с помощью комплексных исследований показать особенности выявления маркеров возбудителей *Borrelia burgdorferi*, клещевого энцефалита, SARS-CoV-2.

Методы. В период 2019–2021 гг. проведено комплексное исследование 7 проб крови пациента с микст-инфекцией. Использовали методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, иммуноферментного анализа (ИФА), определяли антитела IgM, IgG, индекс авидности (ИА) антител IgG.

Результаты. Иксодовый клещевой боррелиоз у пациента был диагностирован спустя 5 мес. после заражения. Были выявлены только высокоавидные Лайм-IgG антитела. На фоне ухудшения общего состояния появлялись низкоавидные Лайм-IgG антитела. Одновременно тогда же были обнаружены высокоавидные антитела IgG (коэффициент позитивности (КП) – 7,8), а также IgM (КП = 1,2) к вирусу клещевого энцефалита (КЭ). В июле 2020 г. больная заразилась коронавирусом SARS-CoV-2. Произошла активация вируса КЭ, который попал в организм одномоментно с боррелиями осенью 2019 г. И хотя у пациента не появились характерные симптомы КЭ, в последующих пробах крови (№ 4, 5, 6) был обнаружен антитела вируса КЭ (оптическая плотность (ОП) – 4,3, ОП = 1,9 и ОП = 2,0 соответственно) и IgM (КП = 1,3, КП = 0,9 и КП = 0 соответственно). Эти результаты мы расценили как активацию вируса КЭ, что способствовало увеличению показателя авидности антител IgG (ИА = 65 %, ИА = 100 % и ИА = 63 %). К вирусу SARS-CoV-2 антитела IgM не были выявлены; были определены высокие уровни IgG (КП = 8,2, КП = 8,1, КП = 8,4 и КП = 14,7 соответственно).

Заключение. Таким образом, с использованием не только общепринятых методов диагностики (ПЦР и ИФА), но и определения степени авидности антителами было показано, что при анализе случая микста трёх инфекций *B. burgdorferi* доминирует в организме человека, вызывая длительное хроническое течение болезни.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, иксодовый клещевой боррелиоз, COVID-19, иммуноферментный анализ, антитела, авидность

Статья поступила: 04.05.2022

Статья принята: 13.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Леонова Г.Н., Шутикова А.Л., Попов А.Ф., Щелканов М.Ю. Верификация случая микст инфекции болезни Лайма, клещевого энцефалита и COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 67-73. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.7

VERIFICATION OF A CASE OF MIXED INFECTION WITH LYME DISEASE, TICK-BORNE ENCEPHALITIS AND COVID-19

ABSTRACT

Leonova G.N.¹,
Shutikova A.L.¹,
Popov A.F.^{2,3},
Shchelkanov M.Yu.¹

¹ Somov Institute of Epidemiology and Microbiology (Selskaya str. 1, Vladivostok 690087, Russian Federation)

² Pacific State Medical University (Ostryakova ave. 2, Vladivostok 690002, Russian Federation)

³ Far Eastern Branch, State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation (Borisenko str. 100/d, Vladivostok 690080, Russian Federation)

Corresponding author:

Galina N. Leonova,
e-mail: galinaleon41@gmail.com

Background. The relationship between pathogens of new diseases and tick-borne infections is an underinvestigated direction in the problem of infectious diseases.

The aim. To show the features of identifying the markers of *Borrelia burgdorferi*, tick-borne encephalitis and SARS-CoV-2 pathogens on the example of a case of a triple mixed infection (Lyme disease, tick-borne encephalitis and COVID-19) and using comprehensive studies.

Methods. In 2019–2021, a comprehensive study of 7 blood samples from a patient with mixed infection was carried out. We used real-time polymerase chain reaction (PCR), enzyme immunoassay (ELISA) and determined antigen, IgM, IgG antibodies, and avidity index (AI) of IgG antibodies.

Results. Ixodid tick-borne borreliosis was diagnosed in a patient 5 months after contagion. Only high-avid Lyme-IgG antibodies were detected. Low-avid Lyme-IgG antibodies appeared against the background of a reduced general condition. At the same time, high-avid IgG (cut-off index (COI) – 7.8) and IgM (COI = 1.2) antibodies to the TBE virus were detected. In July 2020, the patient was infected with SARS-CoV-2. TBE virus which passed into the body simultaneously with *Borrelia* in the fall of 2019 was activated. Although the patient did not have specific symptoms of TBE, in subsequent blood samples (No. 4, 5, 6) we found TBEV antigen (optical density (OD) – 4.3; 1.9 and 2.0 respectively) and IgM (COI = 1.3; 0.9 and 0 respectively). These results were recognized as TBEV activation, which contributed to an increase in the avidity of IgG antibodies (AI = 65%; 100% and 63% respectively). IgM antibodies to SARS-CoV-2 virus were not detected, as opposed to the high levels of IgG (COI = 8.2; 8.1; 8.4 and 14.7 respectively).

Conclusions. Therefore, using not only the common methods of diagnosing (PCR and ELISA), but also the determination of the antibody avidity degree, we have shown that when analyzing a case of a triple mixed infection, *B. burgdorferi* dominates in the human body and causes a long-term chronic course of the disease.

Key words: tick-borne encephalitis, Lyme disease, COVID-19, ELISA, antigen, antibodies, avidity

Received: 04.05.2022

Accepted: 13.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Leonova G.N., Shutikova A.L., Popov A.F., Shchelkanov M.Yu. Verification of a case of mixed infection with Lyme disease, tick-borne encephalitis and COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 67-73. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.7

ОБОСНОВАНИЕ

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) – это группа этиологически самостоятельных хронических или рецидивирующих спирохетозных природно-очаговых трансмиссивных инфекций, возбудители которых передаются иксодовыми клещами и поражают различные системы организма (сердечно-сосудистую, центральную нервную систему, кожу, опорно-двигательный аппарат) [1, 2]. Группа боррелий *Borrelia burgdorferi* относится к роду *Borrelia*, семейству *Spirochaetaceae*, порядку *Spirochaetales*. В России, как и в США и Европе, ИКБ распространены широко, однако отличаются этиологической неоднородностью структуры возбудителя. На территории Российской Федерации ИКБ зарегистрированы в 68 субъектах [3]. Широко распространённые очаги ИКБ зачастую совпадают с очагами клещевого энцефалита (КЭ) [1]. Схожесть эпидемиологических закономерностей определяется единными хозяевами и переносчиками – иксодовыми клещами.

Вирус КЭ входит в семейство *Flaviviridae*, род *Flavivirus*. На основе молекулярно-генетических исследований вирус КЭ разделился на три субтипа: I – дальневосточный; II – европейский; III – сибирский [4]. Проведённая ревизия известных к настоящему времени данных о полных геномах 84 штаммов вируса КЭ дальневосточного субтипа, распространённых на азиатской территории континента, показала, что здесь циркулируют варианты вируса КЭ дальневосточного субтипа, которые подразделяются на три кластера (Sofjin-, Senzhang- и Shkotovo-подобных штаммов) [5]. Причём самой молодой, генетически более однородной группой по молекулярно-генетической характеристике оказались Shkotovo-подобные штаммы, выделенные из крови людей с инаппаратной формой инфекции, которые распространены на юге Приморского края, а также на о. Хоккайдо (Япония) [5].

Семейство *Coronaviridae* принадлежит к отряду *Nidovirales* и по современной таксономии включает три подсемейства и шесть родов [6]. Коронавирусы двух родов (*Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*) способны инфицировать человека и вызывать тяжёлые заболевания [7, 8]. По мнению Д.К. Львова и соавт. [7], многие возбудители вирусных инфекций зачастую проникают в популяцию людей от животных, а пандемия COVID-19 – это частный случай проблемы новых и возвращающихся инфекций (emerging and reemerging infections). Возникающие новые инфекции зоонозного происхождения, как правило, надолго поселяются в человеческую популяцию и требуют новых подходов к решению вопросов взаимоотношений известных и неизвестных возбудителей, а также их индикации у заболевших людей на основе использования лабораторных диагностических маркеров. Классический подход к верификации таких случаев решает вопрос специфической диагностики, но не всегда решает проблемы активности патогенного процесса.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

На примере случая тройной микст-инфекции (иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефа-

лит и COVID-19) с помощью комплексных исследований показать особенности выявления маркеров возбудителей *Borrelia burgdorferi*, клещевого энцефалита и SARS-CoV-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На протяжении двух лет было проведено наблюдение за пациентом с диагнозом ИКБ. Исследованы одновременно семь проб крови, хранившихся в холодильнике при температуре -70° : проба № 1 взята только спустя 5 мес. от начала заболевания; проба № 2 – спустя 7 мес.; проба № 3 – спустя 8,5 мес.; проба № 4 – спустя 13 мес.; проба № 5 – спустя 13,5 мес.; проба № 6 – спустя 15 мес.; проба № 7 – спустя 25 мес. Наблюдение за клиническим течением болезни и обследование пациента К. были проведены на основе добровольного согласия.

Индикация возбудителей была выполнена разными методами лабораторной диагностики: с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) – выявление антигена (АГ), с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) – определение генетических маркеров. Выявление антител (АТ) проводили с помощью ИФА.

Наличие генетических маркеров вируса КЭ, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*/*E. muris*, *Rickettsia sibirica*/*R. heilongjiangensis*, *Borrelia miyamotoi* в крови пациента определяли методом ПЦР-РВ с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ) с использованием наборов «АмплиСенс ТБЕV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва), а также «РеалБест ДНК *R. Sibirica*/*R. heilongjiangensis*, ДНК *B. miyamotoi*» (Вектор-Бест, Новосибирск) согласно инструкции производителей. Генетический маркер вируса SARS-CoV-2 определяли, используя «Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» (СИНТОЛ, Москва). Исследования проводили на амплификаторе с флуоресцентной детекцией «ROTOR-GENE Q» (QIAGEN, Германия).

Выявление АГ вируса КЭ в пробе крови проводили методом ИФА в модификации Г.Н. Леоновой и соавт. [9] с использованием диагностического набора «ВектоВКЭ-антиген» (Вектор-Бест, Новосибирск) согласно инструкции производителя тест-системы. В анализе использовали показатели оптической плотности (ОП), которые определяли по формуле: $ОП_{обr.} \geq ОП_{крит.}$

Присутствие в сыворотках крови специфических антител классов М и G против возбудителей КЭ, ИКБ и COVID-19 выявляли с помощью наборов для ИФА – «ВектоВКЭ-IgM», «ВектоВКЭ-IgG», «ЛаймБест-IgM», «ЛаймБест-IgG», «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-Бест» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-Бест» (Вектор-Бест, Новосибирск) согласно инструкциям производителя тест-систем. В анализе использован показатель коэффициента позитивности (КП), который определяли по формуле: $КП = ОП_{обr.} / ОП_{крит.}$, при $ОП_{крит.} = ОП_{сред.} - K^- + 0,2$, где K^- – отрицательный контроль.

Авидность IgG-антител в пробе оценивалась с помощью расчётного показателя индекса авидности (ИА), который представляет собой отношение показателя КП IgG-антител в ИФА в пробе, подвергнутой обработке детергентом мочевиной (Мч) Urea Perias (Barcelona), к результату показателя КП IgG-антител в пробе, не обработанной диссоциирующим агентом [10]. Учитывали три степени индекса авидности (ИА) антител: высокая – ИА > 50%; средняя – ИА = 30–50%; низкая – ИА < 30%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании проведён комплексный ретроспективный анализ случая тройной микст-инфекции у пациентки 60 лет, проживающей в г. Владивостоке. В клинико-эпидемиологическом описании этого случая нами было показано, что в середине сентября 2019 г. после посещения пригородной дачи она отметила появление эритемы в области голени правой нижней конечности [11]. В связи с тем, что укус клеща не был замечен, лечение проводилось у дерматолога – длительно и безуспешно. Наконец, в феврале 2020 г., учитывая показания ИФА 1-й пробы, в которой были обнаружены антитела IgG (КП = 4,2), пациентке был поставлен диагноз: клещевой боррелиоз, диссеминированная форма, подострый период. Колебания тяжести течения инфекции на фоне периодического лечения находили отражение в показателях гуморального иммунного ответа. Особенность этого случая заключалась в том, что при ухудшении самочувствия по этому диагнозу в июле 2020 г. произошло заражение активно циркулирующим в этот период коронавирусом SARS-CoV-2, по поводу чего пациентка лечилась в стационаре с диагнозом: COVID-19, двухсторонняя пневмония. В октябре и декабре 2020 г. у пациентки возобновилась симптоматика ИКБ. Последнее наблюдение было проведено в октябре 2021 г.

ТАБЛИЦА 1
РЕЗУЛЬТАТЫ ИФА ПРОБ КРОВИ ПАЦИЕНТА
ПРИ ДИАГНОСТИКЕ МИКСТ-ИНФЕКЦИИ БОЛЕЗНИ
ЛАЙМА, КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И COVID-19

| Номер пробы | Дата забора сывороток крови | ИКБ | | | КЭ | | | COVID-19 | |
|-------------|-----------------------------|-----|---------------------|-------|-----|---------------------|-------|----------|--|
| | | IgM | IgG – Мч / IgG + Мч | АГ AG | IgM | IgG – Мч / IgG + Мч | IgM | IgG | |
| 1 | 18.02.2020 | 0 | 4,2 / 3,3 | 0 | 0 | 6,9 / 4,3 | Н. и. | Н. и. | |
| 2 | 23.04. 2020 | 0 | 5,3 / 3,2 | 0 | 0 | 8,5 / 5,7 | Н. и. | Н. и. | |
| 3 | 05.06. 2020 | 0 | 6,6 / 2,0 | 0 | 1,2 | 7,8 / 4,9 | Н. и. | Н. и. | |
| 4 | 15.10. 2020 | 0 | 2,5 / 2,5 | 4,3 | 1,3 | 12 / 7,9 | 0 | 8,2 | |
| 5 | 03.11. 2020 | 0 | 3,6 / 2,9 | 1,9 | 0,9 | 8,2 / 8,2 | 0 | 8,1 | |
| 6 | 14.12. 2020 | 0 | 3,6 / 0,4 | 2,0 | 0 | 8,1 / 5,1 | 0 | 8,4 | |
| 7 | 12.10. 2021 | 0 | 3,9 / 0,2 | 0 | 0 | 9,9 / 6,4 | 0 | 14,7 | |

Примечание. Н. и. – не исследовали.

Мы решили провести одновременно комплексные исследования всех семи проб крови, результаты которых представлены в таблице 1.

За весь период наблюдения, начиная с 5-го месяца от начала заболевания, у пациентки ни разу не выявили антитела IgM к боррелиям, зато наблюдали колебания показателей IgG. Обращает на себя внимание проба № 3, в которой на фоне ухудшения общего состояния пациентки были зарегистрированы низкоавидные антитела IgG к боррелиям (ИА = 30%) (рис. 1). Именно в этот период в пробе № 3 появились антитела IgM к вирусу КЭ с невысоким показателем (КП = 1,2), а специфические антитела IgG (КП = 7,8) характеризовались как высокоавидные (ИА = 63%). Из анамнеза известно, что пациентка никогда не прививалась против КЭ, но гуморальные антитела IgG к 5-му месяцу болезни уже достигли показателя КП = 6,9 и были высокоавидными (ИА = 62%).

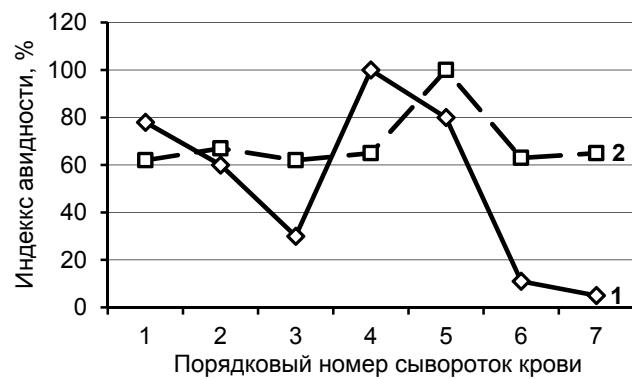


Рис. 1.
Динамика показателей индекса авидности антител IgG в ИФА к *Borrelia burgdorferi* (1) и вирусу клещевого энцефалита (2)

FIG. 1.
Dynamics of the avidity index of IgG antibodies in ELISA to *Borrelia burgdorferi* (1) and tick-borne encephalitis virus (2)

ТАБЛИЦА 1
THE RESULTS OF ELISA OF PATIENT BLOOD SAMPLES
IN THE DIAGNOSIS OF MIXED INFECTION OF LYME
DISEASE, TICK-BORNE ENCEPHALITIS AND COVID-19

Кроме того, в период с июля по август 2020 г. сочетание двух патологий, вызванных возбудителями COVID-19 и ИКБ, способствовало реактивации вируса КЭ, заражение которым, видимо, произошло осенью 2019 г. одновременно с инфицированием боррелиями. И хотя у больной не было клинических симптомов, характерных для КЭ, в пробах № 4, № 5 и № 6 был обнаружен АГ вируса КЭ (ОП = 4,3; 1,9 и 2,0 соответственно) и одновременно – специфические антитела IgM (КП = 1,3; 0,9 и 0 соответственно). Увеличились показатели КП и avidности антител IgG к вирусу КЭ (ИА = 65 %, 100 % и 63 % соответственно). Через 1 год в пробе крови № 7 ни антиген, ни антитела IgM к вирусу КЭ не выявляли, зато КП антител IgG достиг 9,9 при ИА = 65 %. Анализ всех 7 проб крови в ОТ-ПЦР-РВ ко всем исследуемым клещевым инфекциям в указанные периоды болезни дал отрицательные результаты. Показатели антител в ИФА к вирусу SARS-CoV-2 были характерны для периода после перенесённой коронавирусной инфекции: IgM в пробах № 4, № 5, № 6 и № 7 не выявляли, а IgG определяли с возрастающими уровнями (КП = 8,2; 8,1; 8,4 и 14,7 соответственно). Стоит также обратить внимание на показатель КП = 14,7 в последней пробе крови, который спустя более года после перенесённой инфекции COVID-19 не снизился, а резко повысился.

С начала ноября 2020 г. и по настоящее время у больной на фоне общего недомогания постоянно возобновляются боли в суставах рук и ног, а после проведения курса специфического лечения наступает незначительное улучшение общего самочувствия. При этом, несмотря на относительно высокие уровни КП антител IgG к боррелиям (табл. 1), их ИА снизился до предельно низких показателей – 11 % и 5 % соответственно (рис. 1).

Таким образом, в разные периоды наблюдения у пациентки выявлена активизация клинической симптоматики ИКБ, хотя ни в одной пробе крови антитела IgM не были обнаружены. Но особенностью специфического иммунитета после инфицирования (спустя 5 мес. и до настоящего времени) явилась периодическая регистрация низкоавидных антител, помогающих верифицировать и свидетельствующих о реактивации иммунного ответа инфекции к возбудителю ИКБ. Высокая частота микст-инфекций как вирусной, так и бактериальной этиологии зачастую наблюдается у пациентов при лабораторном подтверждении диагноза COVID-19 [12]. Судя по вышепредставленным серологическим показателям, последующее заражение пациентки коронавирусом также способствовало активизации другого возбудителя вирусной этиологии – вируса КЭ. Однако клинические проявления этой инфекции у пациентки не наступили, что, возможно, находит своё объяснение в реактивации попавшего в организм низковирулентного штамма вируса КЭ. Именно такие штаммы вируса КЭ, как было показано нами ранее, доминируют в природных очагах юга Дальнего Востока [5] и, вероятно, не могут конкурировать с боррелиями. Так, на очаговых территориях юга Приморского края при микст-заражении иксодовых клещей разными возбудителями генетический маркер *B. burgdorferi* s.l. выявляется с высокой частотой

(до 26,6 %) и, как правило, присутствует во всех пробах микст-инфицированных клещей [13]. Актуальность изучения микст-инфицированности иксодовых клещей различными возбудителями, а также возникающие проблемы сочетанных клещевых инфекций у пациентов в современных условиях изложены в коллективной монографии «Клещевой энцефалит в XXI веке» [14]. На территориях Российской Федерации доля микст-инфекции (КЭ + ИКБ) в региональной структуре заболеваемости клещевыми инфекциями существенно различается (от 14 % в Северо-Западном регионе России до 20 % на Южном Урале и 41 % в Кемеровской области). В целом в клинической картине микст-инфекции, по мнению А.Б. Коньковой-Рейдман [15], обычно доминируют признаки какого-либо одного заболевания, причём чаще это ИКБ. При этом исходами ИКБ у заразившихся людей могут быть либо полное выздоровление, либо хроническое течение инфекции. По данным российских авторов, хроническое течение при этом заболевании в разных регионах России регистрируется в 10–37,2 % случаев [2, 16].

По мнению А.Н. Алексеева и соавт. [17], в природе происходит постепенное замещение вируса КЭ патогенами бактериальной природы (боррелиями). При этом авторами было показано, что в организме клеща оба возбудителя находятся в антагонистических взаимоотношениях: либо клещи, заражённые боррелиями, не восприимчивы к вводимому парентерально высоковирулентному штамму вируса КЭ, либо в их организме репликация вируса тормозится. В описанном клиническом случае мы также наблюдали конкурентные взаимоотношения на организменном уровне пациента уже не двух, а трёх возбудителей (боррелия, вирус КЭ и вирус SARS-CoV-2). Видимо, именно коронавирус, активно влияя на иммунную систему пациента, также способствовал вмешательству в жизненные процессы других скрытых вирусов и возбудителей хронических бактериальных инфекций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, не только используя общепринятые методы диагностики (ПЦР и ИФА), но и учитывая показатели разной степени avidности антител, мы обнаружили, что в описанном случае микста трёх инфекций в организме данного пациента доминирует *B. burgdorferi*. Только при проведении комплексных наблюдений на протяжении длительного периода (в течение двух лет) нам удалось зарегистрировать периодическую реактивацию этих возбудителей с проявлением в итоге основного влияния возбудителя бактериальной природы. Значит, принцип доминирования бактерии *B. burgdorferi* в организме специфического переносчика *I. persulcatus*, как это было описано А.Н. Алексеевым и соавт. [17, 18], сохраняется и в организме случайного его прокормителя – человека. Об этом свидетельствуют данные описанного случая, при котором у пациентки до настоящего времени наблюдаются периоды обострения, а также преобладания клинических симптомов уже хронического течения ИКБ.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках научного проекта № 122041800133-9.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. *Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами*. М.; 2013.
2. Утенкова Е.О. Исходы иксодовых клещевых боррелиозов. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2013; (1): 31-35.
3. Скрипченко Н.В., Балинова А.А. Современные представления о патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов. *Журнал инфектологии*. 2012; 4(2): 5-14.
4. Heinze DM, Gould EA, Forrester NL. Revisiting the clinal concept of evolution and dispersal for the tick-borne flaviviruses by using phylogenetic and biogeographic analyses. *J Virol*. 2012; 86: 8663-8671. doi: 10.1128/JVI.01013-12
5. Леонова Г.Н., Беликов С.И. Филогенетический анализ и распространение вириуса клещевого энцефалита дальневосточного субтипа (*Flaviridae, Flavivirus, TBEV-FE*) на территории Азии. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(5): 250-256. doi: 10.36233/0507-4088-2019-64-5-250-256
6. *Virus taxonomy: 2021 Release EC 53*. 2021. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> [date of access: 21.03.2022].
7. Львов Д.К., Альховский С.В., Колобухина Л.В., Бурцева Е.И. Эпидемиология эпидемической вспышки COVID-19 в г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика), ассоциированной с вириусом 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus): уроки эпидемии SARS-CoV. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(1): 6-16. doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15
8. Львов Д.К., Альховский С.В. Истоки пандемии COVID-19: экология и генетика коронавирусов (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод Sarbecovirus), MERS-CoV (подрод Merbecovirus). *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(2): 62-70. doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70
9. Леонова Г.Н., Кругляк С.П., Любимова Н.Б., Майстровская О.С., Мураткина С.М. Способ выделения вириусов при инапарантных, острых и хронических формах флавивирусных инфекций: Патент SU1836422A3 Рос. Федерации. 1993.
10. Леонова Г.Н., Павленко Е.В. Функциональная активность специфических антител у лиц, вакцинированных против клещевого энцефалита, по отношению к разным штаммам вириуса. *Вопросы вирусологии*. 2010; 3: 33-37.
11. Шутикова А.Л., Леонова Г.Н., Попов А.Ф., Щелканов М.Ю. Клинико-диагностические проявления клещевой микст-инфекции в сочетании с COVID19. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021, 66(11): 689-694. doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-11-689-694
12. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С., и др. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. *Проблемы вирусологии*. 2020; 65(11): 689-694. doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-11-689-694
13. Берлизова М.В., Лубова В.А., Курловская А.В., Леонова Г.Н. Иксодовые клещи как переносчики возбудителей природно-очаговых заболеваний в эпидемический сезон 2017 года на территории Приморского края. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2018; 1(73): 4-12. doi: 10.5281/zenodo.1194868
14. Злобин В.И. (ред.). *Клещевой энцефалит в XXI веке*. М.: Наука; 2021.
15. Конькова-Рейдман А.Б. Клинико-иммунологические аспекты микст-инфекций, экологически связанных с иксодовыми клещами. В: Злобин В.И. (ред.). *Клещевой энцефалит в XXI веке*. М.: Наука; 2021: 369-390.
16. Лукашова Л.В., Лепехин А.В., Жукова Н.Г. Добкина М.Н., Киюцина Т.А., Одинцова Л.Н., и др. Клинические проявления и дифференциальный диагноз иксодовых клещевых боррелиозов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2006; 5: 99-105. doi: 10.20538/1682-0363-2006--99-105
17. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В., Ващукова М.А., Волкова Л.И. Боррелии как вероятные антагонисты вириуса клещевого энцефалита: паразитологический и клинический аспекты проблемы. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2001; 3: 3-11.
18. Алексеев А.Н. *Система клещ-возбудитель и ее эмурдентные свойства*. СПб.; 1993.

REFERENCES

1. Korenberg EI, Pomelova VG, Osin NS. *Natural focal infections transmitted by ixodid ticks*. Moscow; 2013. (In Russ.).
2. Utenkova EO. Outcomes of ixodes tick-borne borrelioses. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2013; (1): 31-35. (In Russ.).
3. Skripchenko NV, Balinova AA. Current knowledge of Lyme disease's pathogenesis. *Journal Infectology*. 2012; 4(2): 5-14. (In Russ.).
4. Heinze DM, Gould EA, Forrester NL. Revisiting the clinal concept of evolution and dispersal for the tick-borne flaviviruses by using phylogenetic and biogeographic analyses. *J Virol*. 2012; 86: 8663-8671. doi: 10.1128/JVI.01013-12
5. Leonova GN, Belikov SI. Phylogenetic analysis and distribution of far eastern tick-borne encephalitis virus subtype (*Flaviridae, Flavivirus, TBEV-FE*) from Asia. *Problems of Virology*. 2019; 64(5): 250-256. (In Russ.). doi: 10.36233/0507-4088-2019-64-5-250-256
6. *Virus taxonomy: 2021 Release EC 53*. 2021. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> [date of access: 21.03.2022].
7. Lvov DK, Alkhovsky SV, Kolobukhina LV, Burtseva EI. Etiology of epidemic outbreaks COVID-19 on Wuhan, Hubei province, Chinese People Republic associated with 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, Subgenus Sarbecovirus): Lessons of SARS-CoV outbreak. *Problems of Virology*. 2020; 65(1): 6-16. (In Russ.). doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15
8. Lvov DK, Alkhovsky SV. Source of the COVID-19 pandemic: Ecology and genetics of coronaviruses (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (subgenus Sarbecovirus), and MERS-CoV (subgenus Merbecovirus). *Problems of Virology*. 2020; 65(2): 62-70. (In Russ.). doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70

9. Leonova GN, Kruglyak SP, Lyubimova NB, Maistrovskaya OS, Muratkina SM. *Method for isolating viruses in inapparent, acute and chronic forms of flavivirus infections*: Patent No. SU1836422A3 of the Russian Federation. 1993. (In Russ.).
10. Leonova GN, Pavlenko EV. Functional activity of specific antibodies in patients vaccinated against tick-borne encephalitis in relation to different virus strains. *Problems of Virology*. 2010; 3: 33-37. (In Russ.).
11. Shutikova AL, Leonova GN, Popov AF, Shchelkanov MY. Clinical and diagnostic manifestations of tick-borne mixed infection in combination with COVID-19. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021, 66(11): 689-694. (In Russ.). doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-11-689-694
12. Popova AYu, Ezhlova EB, Demina YuV, Noskov AK, Kovalyev EV, Chemisova OS, et al. Features of etiology of community-acquired pneumonia associated with COVID-19. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; 4: 99-105. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105
13. Berlizova MV, Lubova VA, Kurlovskaya AV, Leonova GN. Ixodid ticks as the carriers of the natural focal diseases agents to the epidemic season of 2017 on the territory of the Primorsky Region. *Health. Medical Ecology. Science*. 2018; 1(73): 4-12. (In Russ.). doi: 10.5281/zenodo.1194868
14. Zlobin VI (ed.). *Tick-borne encephalitis in the XXI century*. Moscow: Nauka; 2021. (In Russ.).
15. Konkova-Reidman AB. Clinical and immunological aspects of mixed infections associated with ixodid ticks. In: Zlobin VI (ed.). *Tick-borne encephalitis in the XXI century*. Moscow: Nauka; 2021: 369-390. (In Russ.).
16. Loukashova LV, Lepyokhin AV, Zhoukova NG, Dobkina MN, Kiyutsina TA, Odintsova LN, et al. Clinical manifestation and differential diagnosis of Ixodes tick-borne borrelioses. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2006; 5: 99-105. (In Russ.). doi: 10.20538/1682-0363-2006-99-105
17. Alekseev AN, Dubinina EV, Vashukova MA, Volkova LI. Borrelia as probable antagonists of tick-borne encephalitis virus: Parasitological and clinical aspects of the problem. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2001; 3: 3-11. (In Russ.).
18. Alekseev AN. *The tick-pathogen system and its emergent properties*. Saint Petersburg; 1993. (In Russ.).

Сведения об авторах

Леонова Галина Николаевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, e-mail: galinaleon41@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6387-1127>

Шутикова Анна Леонидовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, e-mail: shutikova79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6803-0439>

Попов Александр Федорович – доктор медицинских наук, профессор кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России; главный научный сотрудник, Дальневосточный филиал, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России, e-mail: doctor.popov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5166-5569>

Щелканов Михаил Юрьевич – доктор биологических наук, директор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, e-mail: adorob@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Information about the authors

Galina N. Leonova – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Transmissive Infections, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, e-mail: galinaleon41@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6387-1127>

Anna L. Shutikova – Cand. Sc. (Med.) Research Officer at the Laboratory of Transmissive Infections, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, e-mail: shutikova79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6803-0439>

Aleksandr F. Popov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Epidemiology. Pacific State Medical University; Chief Research Officer, Far Eastern Branch, State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, e-mail: doctor.popov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5166-5569>

Mikhail Yu. Shchelkanov – Dr. Sc. (Biol.), Director, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, e-mail: adorob@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

КОМОРБИДНАЯ ПАТОЛОГИЯ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

РЕЗЮМЕ

Манаенкова Т.Л.,
Баирова Т.А.,
Самбялова А.Ю.,
Парамонов А.И.,
Беляева Е.В.,
Бугун О.В.,
Рычкова Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Манаенкова Татьяна Леонидовна,
e-mail: vodnay.stihaiay@gmail.com

В эпоху комбинированной антиретровирусной терапии смертность людей, живущих с ВИЧ, значительно снизилась, что определило увеличение бремени сопутствующей и вторичной ВИЧ-связанной патологии как у взрослых, так и у детей и подростков, живущих с ВИЧ-инфекцией. Заболеваемость детей и подростков с ВИЧ-инфекцией и в общей популяции существенно разнится.

Цель исследования. Оценить частоту и спектр хронических сопутствующих заболеваний у детей и подростков с перинатальной ВИЧ-инфекцией.

Методы. Выполнено обсервационное исследование. Проведена выкопировка данных о заболеваемости 161 ребёнка с перинатальной ВИЧ-инфекцией, состоящего на диспансерном учёте в ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями».

Результаты. У детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией общая заболеваемость туберкулёзом (18633,5 на 100 000 детей), болезнями органов пищеварения (24844,7 на 100 000 детей), болезнями глаза и его придаточного аппарата (28571,4 на 100 000 детей), болезнями нервной системы (18012,4 на 100 000 детей), психическими расстройствами и расстройствами поведения (13,664,6 на 100 000 детей) выше, чем общая заболеваемость детей сопоставимого возраста. Общая заболеваемость по болезням эндокринной системы, расстройствам питания и нарушениям обмена веществ, болезням уха и сосцевидного отростка, болезням системы кровообращения, болезням мочеполовой системы, а также врождённым аномалиям развития и хромосомным нарушениям у детей и подростков с перинатальной ВИЧ-инфекцией и без таковой сопоставимы.

Заключение. У детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией распространённость болезней органов кровообращения, дыхания и мочеполовой системы сопоставима с аналогичными показателями в соответствующей популяции. Выше распространённость туберкулёза, анемий, болезней желудочно-кишечного тракта, болезней глаза и его придаточного аппарата, заболеваний нервной системы, психических расстройств и расстройств поведения по сравнению с детьми, не подвергавшимися воздействию ВИЧ.

Ключевые слова: ВИЧ, дети, подростки, заболеваемость, сопутствующие заболевания, Россия

Статья поступила: 17.06.2022

Статья принята: 14.11.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Манаенкова Т.Л., Баирова Т.А., Самбялова А.Ю., Парамонов А.И., Беляева Е.В., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Коморбидная патология у детей и подростков с перинатальной ВИЧ-инфекцией: pilotное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 74-85. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.8

COMORBID DISEASE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH PERINATAL HIV INFECTION: A PILOT STUDY

ABSTRACT

Manaenkova T.L.,
Bairova T.A.,
Sambyalova A.Yu.,
Paramonov A.I.,
Bugun O.V.,
Rychkova L.V.

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Tatiana L. Manaenkova,
e-mail: vodnay.stihay@gmail.com

Background. With the increased use of combination antiretroviral therapy, the mortality of people living with HIV has decreased significantly, which has led to an increase of comorbidity and secondary HIV-related pathology in both adults and also in children and adolescents living with HIV infection. The incidence of children and adolescents with HIV infection and those in the general population varies significantly.

The aim. To assess the frequency and range of chronic comorbidities in children and adolescents with perinatal HIV infection

Methods. We carried out an observational study. Data on the incidence of 161 children with perinatal HIV infection registered in the Irkutsk Regional AIDS Center were copied.

Results. Overall incidence of tuberculosis (18633.5 per 100 000 children), diseases of the digestive system (24844.7 per 100 000 children), diseases of the eye and adnexa (28571.4 per 100 000 children), diseases of the nervous system (18012.4 per 100 000 children), mental and behavioral disorders (13,664.6 per 100 000 children) in children with perinatal HIV infection is the higher than in children of comparable age. The overall incidence values of the endocrine system diseases, eating and metabolic disorders, diseases of the ear and mastoid process, diseases of the circulatory system, diseases of the genitourinary system, as well as congenital disorders and chromosomal disorders in children and adolescents with and without perinatal HIV infection are comparable.

Conclusion. The prevalence of diseases of the circulatory, respiratory and genitourinary systems in children with perinatal HIV infection is comparable to that in the corresponding population. Prevalence of tuberculosis, anemia, diseases of the gastrointestinal tract, diseases of the eye and adnexa, diseases of the nervous system, mental and behavioral disorders is higher compared to children not exposed to HIV.

Key words: HIV, children, adolescents, incidence, comorbidities, Russia

Received: 17.06.2022

Accepted: 14.11.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Manaenkova T.L., Bairova T.A., Sambyalova A.Yu., Paramonov A.I., Bugun O.V., Rychkova L.V. Comorbid disease in children and adolescents with perinatal HIV infection: A pilot study. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 74-85. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.8

АКТУАЛЬНОСТЬ

Во всём мире ежегодно роды проходят у около 1,4 млн инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) женщин [1]. Расширение охвата беременных и кормящих женщин эффективной антиретровирусной терапией (АРТ) по программам профилактики передачи ВИЧ от матери ребёнку сократило перинатальную и постнатальную передачу ВИЧ [2–4]. Тем не менее, на конец 2015 г. во всём мире 1,8 млн детей в возрасте до 15 лет жили с ВИЧ-инфекцией.

Внутриутробное воздействие вируса иммунодефицита человека, история приёма антиретровирусных препаратов в дополнение к другим биологическим и материнским факторам риска во время беременности, родов и последующего развития ребёнка определяют высокий риск ранней реализации сопутствующей и вторичной ВИЧ-связанной патологии у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией.

L.J. Frigati и соавт. [5] признают, что дети с ВИЧ, в том числе те, кто принимает АРТ, подвержены риску развития хронических мультисистемных сопутствующих заболеваний с динамикой данных патологий от инфекционных событий к неинфекционным, связанным с воспалением, иммунодефицитом и лекарственной токсичностью [6].

Спектр сопутствующих заболеваний у детей может отличаться от такового у взрослых, что может быть связано со сроками заражения ВИЧ-инфекцией, началом АРТ и отсутствием таких «взрослых» факторов риска, как инволюционные процессы, курение, употребление алкоголя. L.J. Frigati и соавт. указывают на возможность различия эпидемиологии сопутствующих заболеваний у детей с ВИЧ, проживающих в разных социальных условиях [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка спектра хронических сопутствующих заболеваний у детей и подростков с перинатальной ВИЧ-инфекцией.

Дизайн исследования: обсервационное.

МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика обследуемых

Проведён ретроспективный анализ медицинских карт 200 перинатально ВИЧ-инфицированных детей в возрасте от 0 до 17 лет 11 месяцев 29 дней, обратившихся за медицинской помощью в ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» по поводу очередного диспансерного посещения с апреля 2021 по март 2022 г. 39 (19,5 %) детей отказались принять участие в исследовании. Таким образом, в исследование включён 161 пациент [8].

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Верифицированный диагноз: болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (МКБ-10: B20–B24).

2. Возраст от 0 до 17 лет 11 месяцев 29 дней.

3. Наличие информированного согласия родителей (законных представителей) для подростков до 15 лет или согласие подростка старше 15 лет.

В исследование включены 73 (45,34 %) мальчика и 88 (54,66 %) девочек. Возраст пациентов: дошкольники – 6 (3,73 %) человек; 7–9 лет – 39 (24,22 %); 10–14 лет – 85 (52,80 %); старше 15 лет – 31 (19,25 %). 97 (60,25 %) детей – это жители городов, в том числе г. Иркутска – 48 (29,81 %). 104 (64,60 %) ребёнка проживали с родителями, а 57 (35,40 %) – с опекунами.

Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Бразилия, 2013). Все участники информированы о научной стороне исследования; родители (законные представители) детей до 15 лет и подростка старше 15 лет ознакомлены и подписали информированное согласие. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (№ 3 от 07.04.2021).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведена выкопировка данных из историй болезни пациентов:

- клинико-анамнестические данные, в том числе рост, вес, пути инфицирования ВИЧ, перенесённые в течение жизни заболевания;
- данные лабораторных показателей: общего анализа крови, биохимического анализа крови, показатели вирусной нагрузки и иммунограммы (CD3, CD4, CD8, иммунорегуляторный индекс);
- текущая схема АРТ, а также история применения антиретровирусной терапии, успешность и причины изменения схем, продолжительность АРТ (месяцы).

Все данные деперсонализированы.

Медицинские вмешательства пациентам не проводились.

Статистический анализ

Общая заболеваемость по нозологиям у ВИЧ-инфицированных детей = (число детей и подростков с определённой нозологией / число включённых в исследование пациентов ($n = 161$)) $\times 1000$.

Данные проанализированы с использованием пакета программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США). Оценка статистической значимости различий заболеваемости между пациентами, живущими с ВИЧ-инфекцией, и данными официальной медицинской статистики проводили по методу χ -квадрата Пирсона ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа заболеваемости по некоторым нозологиям у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией и включённых в представленное исследование, представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБЩЕЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕТЕЙ, ЖИВУЩИХ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ (ВКЛЮЧЁННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ), И ДАННЫХ ОФИЦИАЛЬНОЙ СТАТИСТИКИ РФ

TABLE 1

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE OVERALL INCIDENCE OF CHILDREN WITH PERINATAL HIV INFECTION INCLUDED IN THE STUDY WITH OFFICIAL STATISTICAL DATA OF THE RUSSIAN FEDERATION

| Возраст | Дети, живущие с перинатальной ВИЧ-инфекцией (на 100 000 детского населения) | Данные Минздрава России, 2018 г. (на 100 000 детского населения)* | p |
|---|---|---|---------|
| Некоторые инфекционные и паразитарные заболевания, в т. ч. туберкулэз (A15–A19) | | | |
| 0–14 лет | 18 461,5 | 7,7 [9] | < 0,001 |
| 15–17 лет | 19 354,8 | 16,5 [9] | < 0,001 |
| Некоторые инфекционные и паразитарные заболевания, в т. ч. хронический вирусный гепатит С (B18.2) | | | |
| 0–14 лет | 4 615,4 | 150,0 [10] | < 0,001 |
| 15–17 лет | 12 903,2 | Данные отсутствуют | – |
| Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм (D50–D89) | | | |
| 0–14 лет | 19 230,8 | 2 480,0 | 0,002 |
| 15–17 лет | 25 806,5 | Данные отсутствуют | – |
| Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм, в т. ч. анемия (D50–D53; D60–D64) | | | |
| 0–14 лет | 14 615,4 | 2 190,0 | < 0,001 |
| 15–17 лет | 16 129,0 | Данные отсутствуют | – |
| Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ (E00–E90) | | | |
| 0–14 лет | 11 538,5 | 4 206,6 | 0,061 |
| 15–17 лет | 6 451,6 | 10 224,7 | 0,298 |
| Психические расстройства и расстройства поведения (F00–F99) | | | |
| 0–14 лет | 13 846,2 | 2 717,8 | 0,006 |
| 15–17 лет | 12 903,2 | 5 551,9 | 0,049 |
| Болезни нервной системы (G00–G99) | | | |
| 0–14 лет | 18 461,8 | 107,5 | < 0,001 |
| 15–17 лет | 16 129,0 | 2 387,4 | < 0,001 |
| Болезни глаза и его придаточного аппарата (H00–H59) | | | |
| 0–14 лет | 26 153,8 | 12 271,5 | 0,012 |
| 15–17 лет | 38 709,7 | 2 237,1 | < 0,001 |
| Болезни уха и сосцевидного отростка (H60–H95) | | | |
| 0–14 лет | 3 076,9 | 5 486,0 | 0,471 |
| 15–17 лет | 6 451,6 | 4 870,7 | 0,757 |
| Болезни системы кровообращения (I00–I99) | | | |
| 0–14 лет | 4 615,4 | 1 920,4 | 0,249 |
| 15–17 лет | 6 451,6 | 5 234,2 | 0,757 |
| Болезни органов дыхания (J00–J99) | | | |
| 0–14 лет | 6 153,8 | 12 3042,1 | 0,139 |
| 15–17 лет | 3 225,8 | 7 873,8 | 0,121 |
| Болезни органов пищеварения (K00–K93) | | | |
| 0–14 лет | 25 384,6 | 12 321,9 | 0,018 |
| 15–17 лет | 19 354,8 | 16 756,8 | 0,856 |
| Болезни мочеполовой системы (N00–N99) | | | |
| 0–14 лет | 6 923,1 | 5 093,3 | 0,552 |
| 15–17 лет | 9 677,4 | 10 743,2 | 0,983 |
| Врождённые аномалии [пороки развития], деформации и хромосомные нарушения (Q00–Q99) | | | |
| 0–14 лет | 4 615,4 | 3 615,1 | 0,734 |
| 15–17 лет | 0 | 2 313,1 | – |

Примечание. * – основные показатели здоровья матери и ребёнка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации (2019).

У детей, живущих с ВИЧ-инфекцией, выше частота встречаемости туберкулёза, анемий, болезней нервной системы, психических расстройств и расстройств поведения, болезней глаза и его придаточного аппарата, а также болезней органов пищеварения, в частности болезней желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы в сравнении со среднестатистическими данными Минздрава России для детей и подростков (2018).

Коморбидность туберкулёза и ВИЧ представляет собой серьёзную угрозу, т. к. ВИЧ-ассоциированный туберкулёз является второй ведущей причиной смерти подростков в возрасте 10–19 лет [11]. Несмотря на широкое внедрение антиретровирусной терапии, дети с ВИЧ-инфекцией по-прежнему подвержены высокому риску инфицирования микобактерией туберкулёза, даже при нормальном количестве CD4⁺Т-лимфоцитов и наличии вирусной супрессии [12]. Наличие ВИЧ-инфекции осложняет диагностический поиск, т. к. высока частота внелёгочных и диссеминированных форм туберкулёза, рентгенографическая картина лёгких не типична [13, 14].

Патофизиология хронического посттуберкулёзного процесса у больных с ВИЧ-инфекцией считается многофакторной и включает как течение хронического воспаления, спровоцированного длительной инфекцией *M. tuberculosis*, так и торpidное течение инфекции у ВИЧ-положительного ребёнка с ослабленным иммунитетом [15, 16]. Более того, клиническая картина зависит от локализации и протяжённости повреждённой ткани и может варьировать от субклинического и бессимптомного до тяжёлого заболевания со значительным поражением лёгких. Наиболее распространённая клиническая картина тяжёлых форм резидуального посттуберкулёзного заболевания у детей – это стойкие респираторные симптомы, такие как кашель, одышка, боль в груди и непереносимость физических упражнений [15, 17]. Результаты обсервационных исследований подростков с ВИЧ-ассоциированным туберкулёзом показали, что в сравнении с пациентами, не болевшими туберкулёзом, нарушение функции дыхания у них встречалось в 3,15 раза чаще, в том числе в виде снижения воздушного потока и объёма лёгких [17, 18].

По результатам мультицентрового ретроспективного когортного исследования 368 детей 0–15 лет из 11 стран с низким и средним уровнем дохода, имеющих коинфекцию ВИЧ/ТБ, из Международной базы данных по эпидемиологии СПИДа (leDEA, International epidemiology Databases to Evaluate AIDS) 79 (20 %) имели микробиологическое подтверждение туберкулёза, а 307 (80 %) были диагностированы клинически. Из 307 случаев, диагностированных клинически, у 155 пациентов был проведён хотя бы один тест на туберкулёз, но не было положительного результата, а у 152 пациентов лабораторная диагностика не проводилась. В целом 287 (74 %) случаев были классифицированы как лёгочный туберкулёз, 73 (19 %) случая – как внелёгочный и 25 (6 %) – как сочетанное поражение лёгких и других органов и систем. Среди пациентов с внелёгочными формами туберкулёза наиболее часты-

ми были брюшная (9 %) и лимфатическая (7 %) локализации. Из 386 детей с коинфекцией ВИЧ/туберкулёз у каждого пятого результаты лечения туберкулёза были неблагоприятными. В группу риска по неэффективности терапии авторы рекомендуют отнести детей с поздним стартом АРТ и детей младше 5 лет с микробиологическим подтверждением ТБ [19]. В целом прогноз и естественное течение туберкулёза у детей и подростков, живущих с ВИЧ-инфекцией, недостаточно изучены из-за отсутствия долгосрочного когортного наблюдения за детьми после завершения лечения ТБ [20].

В эпоху антиретровирусной терапии на фоне снижения у ВИЧ-инфицированных острых лёгочных инфекций регистрируется увеличение частоты клинически значимых респираторных синдромов и заболеваний неинфекционного генеза, в том числе хронической обструктивной болезни лёгких, астмы и сердечно-лёгочной дисфункции, определяющих нарушение функционального состояния респираторной системы, её диффузионной способности [21]. На основании метаанализа 30 исследований 151 686 ВИЧ-инфицированных из всех регионов ВОЗ распространённость хронической обструктивной болезни лёгких среди ВИЧ-инфицированных составила 10,5 %. При этом распространённость хронической обструктивной болезни лёгких выше в Европе и выше среди курящих и когда-либо куривших; частота хронической обструктивной болезни лёгких увеличивается у лиц с более высоким уровнем дохода, а также у пациентов с определяемой вирусной нагрузкой ВИЧ [22]. У подростков даже при отсутствии или значительном снижении частоты курения, по данным E.F. Attia и соавт. (2017), отмечается высокая распространённость хронических респираторных заболеваний при длительном течении ВИЧ, даже у принимающих АРТ [15]. В нашем исследовании у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией, не зарегистрирована большая частота хронических болезней органов дыхания.

Люди, живущие с ВИЧ, считаются группой высокого риска коинфекций, в том числе вирусных гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) [23]. Всемирная организация здравоохранения в 2016 г. поставила амбициозную цель по элиминации ВГС к 2030 г. Были разработаны руководящие принципы для медицинских работников, позволяющие интегрировать новейшие подходы к скринингу и терапии. К сожалению, эти подходы ориентированы на взрослых. В связи с этим для детей и подростков ВГС до настоящего времени представляет собой серьёзную непризнанную проблему общественного здравоохранения [24]. Сообщается, что распространённость ВГС-инфекции у детей и подростков колеблется от 0,05–0,36 % в США и Европе до 1,8–5,8 % в некоторых развивающихся странах [25]. Однако A. Delgado Borrego и соавт. указывают на занижение истинной распространённости ВГС-инфекции [26].

В начале пандемии ВИЧ-ассоциированная анемия была наиболее частым гематологическим осложнением у ВИЧ-инфицированных взрослых [27], L.I. Zon и соавт. ещё в 1987 г. указывали на положительную зависимость между распространённостью анемии и тяжестью

клинического течения заболевания [28]. Впоследствии в ряде крупных исследований анемия неоднократно определялась как сильный, независимый и обратимый предиктор смертности [29, 30]. Распространённость анемии в нашем исследовании составила 14,9 %; среди ВИЧ-положительных детей в Эфиопии этот показатель составляет 22,3 % (95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 18,5–26,0). АРТ ассоциируется со снижением коморбидности анемии и ВИЧ/СПИДа [31]. Т.Д. Clark и соавт. указывают на наличие микроцитарных и гипохромных анемий у детей с ВИЧ-инфекцией, распространённость которых составляет 12–100 % и 20–100 % соответственно. Тяжесть анемии чаще всего связана с прогрессированием основного заболевания [32]. Анализ генеза анемии свидетельствует о том, что как у детей, так и у взрослых патогенетическим механизмом анемии у пациентов с ВИЧ-инфекцией является недостаточная продукция эритроцитов [31]. Этиология снижения эритропоэза включает прямое влияние ВИЧ на эритропоэз, ВИЧ-ассоциированные инфекции и новообразования, лекарственные препараты и дефицит микронутриентов. Данные *in vitro* позволяют предположить, что ВИЧ сам по себе может снижать эритропоэз за счёт апоптоза эритроидных предшественников или инфицирования вспомогательных клеток путём изменения реакции цитокинов и эритропоэтина [33]. М. Ellaurie и соавт. указали на дизэритропоэз у пациентов с ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях заболевания [34]. Исследования костного мозга у ВИЧ-инфицированных детей не выявили специфических морфологических признаков [35].

О высокой распространённости психических заболеваний у людей, живущих с ВИЧ, свидетельствует ряд исследований. Так, по данным сотрудников Бирмингемского и Оксфордского университетов Великобритании, у пациентов с ВИЧ-инфекцией чаще встречаются депрессия (15,4 на 1000 человеко-лет), тревога (7,2 на 1000 человеко-лет) и тяжёлые психические заболевания (1,6 на 1000 человеко-лет) по сравнению с людьми, живущими без ВИЧ (7,9, 5,0 и 0,6 на 1000 человеко-лет соответственно) [36]. У детей с ВИЧ-инфекцией результаты оценки нервно-психического состояния неоднозначны. С.М. le Roux и соавт. выявили повышенные шансы когнитивной (отношение шансов (ОШ) – 2,28; 95% ДИ: 1,13–4,60) и моторной задержки (ОШ = 2,10; 95% ДИ: 1,03–4,28) у детей к 12 месяцам жизни [37]. Другое исследование показало задержку экспрессивной речи у детей, живущих с ВИЧ (ОШ = 1,44; 95% ДИ: 1,01–2,06) в более поздние периоды онтогенеза, а именно через 2 года [38]. Напротив, исследование, проведённое в Уганде и Малави, не выявило каких-либо различий в развитии нервной системы у детей с ВИЧ-инфекцией в возрасте от 1 до 5 лет по сравнению с группой без ВИЧ-инфекции [39]. Исследование, проведённое в Великобритании, выявило сходные результаты для перинатально ВИЧ-инфицированных подростков и их неинфицированных братьев и сестёр. Более того, как у перинатально ВИЧ-инфицированных подростков, так и у их неинфицированных сибсов зарегистрированы нарушения нервно-психического развития в сравнении с нормативными данными [40].

Известно, после генерализации ВИЧ-инфекции происходит проникновение вируса иммунодефицита 1 в центральную нервную систему посредством инфицированных макрофагов и/или CD4⁺Т-лимфоцитов по принципу «тробянского коня» [41]. В первую очередь вирус проникает и заражает периваскулярные макрофаги, микроглию и астроциты [42]. После репликации вируса запускается каскад нейротоксических эффектов через продукты вируса, продукты его деградации и провоспалительный иммунный ответ. Образуются микроглиальные узелки и многоядерные гигантские клетки, реактивный астроглиоз с потерей специфических субпопуляций нейронов. Таким образом, повреждение и гибель нейронов вызываются как прямыми, так и опосредованными патогенными механизмами, последствия которых манифестируют в виде неврологических и нейропсихических нарушений [43]. Вирус иммунодефицита воздействует на пролиферацию предшественников нейронов, подтверждая концепцию, согласно которой ВИЧ-1 реплицируется в созревающем/развивающемся мозге и, соответственно, особенно опасен для плода, новорождённого и в последующие периоды жизни детей [44].

Внедрение комбинированной антиретровирусной терапии в 1990-х гг. породило терапевтический парадокс, в соответствии с которым число тяжёлых случаев ВИЧ-ассоциированных нейропсихических заболеваний снизилось, однако распространённость более лёгких форм продолжает расти.

Распространённость энцефалопатий в эпоху АРТ в настоящее время составляет от 2 до 15 %. [45–47]. Недостаточная эффективность АРТ в предупреждении неврологических нарушений определяется рядом факторов. Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), с одной стороны, является препятствием для проникновения вируса, а с другой стороны, действует как вирусный резервуар, функционально автономный от других органов и систем. Более того, этот резервуар «способен защищать» процесс репликации вируса от терапии, если антиретровирусный препарат недостаточно проникает через ГЭБ. По мнению L. Shan и соавт., вирусный резервуар – это механизм пожизненной персистенции ВИЧ в центральной нервной системе [48]. Подавление репликации вируса в плазме не всегда ассоциируется со снижением уровня виремии в центральной нервной системе, и способность пожизненной персистенции ВИЧ в центральной нервной системе приводит к длительному неврологическому повреждению и/или нейропсихическим проблемам [49]. С.Р. Lewis-de los Angeles и соавт. сопоставили результаты магнитно-резонансной томографии и когнитивного тестирования 40 молодых людей с ВИЧ-инфекцией (средний возраст – 16,7 года), которые являются частью первого поколения молодых людей с ВИЧ-инфекцией, доживших до взрослого возраста, и их 334 сверстников, не подвергавшихся воздействию ВИЧ и неинфицированных молодых людей (средний возраст – 16,1 года). У молодых людей с ВИЧ-инфекцией общий и региональный объёмы серого вещества были меньше (2,8–

5,1 %), чем у не подвергавшихся воздействию ВИЧ и неинфицированных молодых людей; при этом наименьшие объёмы наблюдались среди молодых людей с ВИЧ-инфекцией с более высокой пиковой вирусной нагрузкой в прошлом и недавней неподавленной виремией [50].

Другим немаловажным аспектом являются опасения относительно влияния воздействия не только ВИЧ, но и АРТ на развитие нервной системы плода. Проведён метаанализ восьми высококачественных исследований, в которых сравнивали 1856 ВИЧ-экспонированных детей и 3067 ВИЧ-неэкспонированных детей в возрасте 12–24 месяцев. ВИЧ-экспонированные дети имеют более низкую экспрессивную речь (величина эффекта $-0,17$ [95% ДИ: $-0,27$; $-0,07$]; $p = 0,0013$) и отклонения в развитии общей моторики (величина эффекта $-0,13$ [95% ДИ: $-0,20$; $-0,07$]; $p < 0,0001$), чем ВИЧ-неэкспонированные дети, однако когнитивное развитие (величина эффекта $-0,06$ [95% ДИ: $-0,19$; $0,06$]; $p = 0,34$), развитие рецептивной речи (величина эффекта $-0,10$ [95% ДИ: $-0,23$; $0,03$]; $p = 0,14$) и мелкой моторики (величина эффекта $-0,05$ [95% ДИ: $-0,15$; $0,06$]; $p = 0,36$) у детей в этих группах были сопоставимы. По мнению авторов, это свидетельствует о малом или полном отсутствии доказательств влияния конкретных схем АРТ для матери на развитие нервной системы [51]. Более того, С. S. Crowell и соавт. показали, что раннее начало АРТ улучшает нейрокогнитивные функции в школьном возрасте [52].

Известно, что рост является важным отражением общего благополучия ребёнка. До антиретровирусной эпохи у детей с ВИЧ-инфекцией распространённость задержки роста была выше, чем у их сверстников без данной патологии. Сотрудники Университета Кейптауна, оценив рост 2621 ВИЧ-экспонированного новорождённого, показали, что младенцы с массой тела при рождении < 2500 г ($\beta = 0,070$ [95% ДИ: $0,061$; $0,078$]; $p < 0,0001$) в течение первых 28 недель жизни росли быстрее по сравнению с детьми с массой тела при рождении ≥ 2500 г. Младенцы на грудном вскармливании показали более медленный рост по сравнению с младенцами на искусственном вскармливании (корректированный $\beta = -0,012$ [95% ДИ: $0,021$; $-0,003$]; $p = 0,011$) [53]. В последующие возрастные периоды дети от ВИЧ-положительных матерей имеют более высокий риск развития отклонений роста в сравнении со своими сверстниками, родившимися от неинфицированных матерей. Проспективное когортное исследование антропометрических показателей у детей Малави и Уганды, родившихся от ВИЧ-позитивных матерей и получавших антиретровирусную профилактику (471 (50,5 %) ребёнок) и детей, родившихся от матерей без ВИЧ-инфекции (462 (49,5 %) ребёнка) показало, что риск задержки роста (более чем на два стандартных отклонения ниже медианы роста) был повышен среди детей от ВИЧ-позитивных матерей по сравнению с детьми от матерей без ВИЧ-инфекции: в Уганде у детей в возрасте 12 месяцев абсолютное снижение риска (aRR, absolute risk reduction) составило 2,13 (95% ДИ: 1,36–3,33; $p = 0,001$), в возрасте 24 месяцев aRR = 1,67 (95% ДИ: 1,16–2,41; $p = 0,006$); в Ма-

лави у детей в возрасте 24 месяцев aRR = 1,32 (95% ДИ: 1,10–1,66; $p = 0,018$) [54].

Ограничение исследования

В исследование включён 161 ребенок из 637 детей, состоящих на диспансерном учёте в ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», в возрасте от 0 до 17 лет 11 месяцев 29 дней, в том числе 5,7 % (6 из 105 детей) состоящих на диспансерном учёте детей в возрасте 0–6 лет, 36,9 % (124 из 336 детей) – в возрасте 7–14 лет, 16 % (31 из 194 детей) подростков 15–17 лет. Соотношение детей соответствующих возрастных групп, состоящих на диспансерном учёте, составляет 16,3 % : 53 % : 30,7 %. Меньшее количество подростков и детей дошкольного возраста определялось отказом респондентов и их родителей/опекунов от участия в исследовании.

Ещё одним ограничением этого исследования является невключение в данный анализ информации об антиретровирусной терапии, т. к. ряд сопутствующих заболеваний, обсуждаемых в этой статье, более распространён среди лиц, принимающих определённые схемы АРТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в эпоху комбинированной антиретровирусной терапии риск смертности от синдрома приобретённого иммунодефицита человека значительно снизился, в том числе среди детей. Продолжительность жизни людей с ВИЧ-инфекцией становится сопоставимой с таковой у лиц без ВИЧ-инфекции. Этот возрастной сдвиг определил новые задачи в планировании организации помощи людям, живущим с ВИЧ, поскольку долголетие сопровождается более высоким бременем сопутствующей и вторичной ВИЧ-связанной патологии. В данной статье мы обсудили спектр коморбидной патологии у ВИЧ-инфицированных детей. Показано, что частота заболеваний органов кровообращения, дыхания и мочеполовой системы не превышает среднестатистических показателей для сопоставимой возрастной популяции. У детей, живущих с ВИЧ-инфекцией, наиболее часто регистрируются туберкулёз, анемия, болезни желудочно-кишечного тракта, болезни глаз, а также отклонения в росте и нервно-психическом развитии по сравнению с детьми, не подвергавшимися воздействию ВИЧ, что необходимо учитывать при организации помощи детям, живущим с ВИЧ-инфекцией.

Благодарности

Авторы выражают благодарность главному врачу ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» Ю.К. Плотниковой.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. UNICEF. *Children and AIDS. Seventh Stocktaking Report*. 2016.
2. Petrova A, Vaniarkina A, Plotnikova J, Rychkova L, Moskaleva E. Impact of combined antiretroviral prophylaxis on health outcomes in HIV-exposed neonates. *Archives of Disease in Childhood*. 2019; 104(S3): A4.
3. Vanyarkina AS, Petrova AG, Rychkova LV, Moskaleva EV, Novikova EA. Socio-demographic factors and epidemiological characteristics of HIV-positive pregnant women with high risk of vertical transmission of the immunodeficiency virus. *International Journal of Biomedicine*. 2021; 11(4): 564-569.
4. Ваняркина А.С., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Романица А.И., Москалёва Е.В. Инфекционная заболеваемость перинатально ВИЧ-экспонированных новорожденных детей, получающих усиленную схему. *Журнал инфектологии*. 2020; 12(2S): 41.
5. Frigati LJ, Brown K, Mahtab S, Githinji L, Gray D, Zühlke L, et al. Multisystem impairment in South African adolescents with perinatally acquired HIV on antiretroviral therapy (ART). *J Int AIDS Soc*. 2019; 22(8): 1-8. doi: 10.1002/jia2.25386
6. Bartlett AW, Mohamed TJ, Sudjaritruk T, Kurniati N, Nalilusamy R, Hansudewechakul R, et al. Disease- and treatment-related morbidity in adolescents with perinatal HIV infection in Asia. *Pediat Infect Dis J*. 2018; 38(3): 287-292. doi: 10.1097/inf.0000000000002208
7. Frigati LJ, Ameyan W, Cotton MF, Gregson CL, Hoare J, Jao J, et al. Chronic comorbidities in children and adolescents with perinatally acquired HIV infection in sub-Saharan Africa in the era of antiretroviral therapy. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020; 4(9): 688-698. doi: 10.1016/s2352-4642(20)30037-7
8. Баирова Т.А., Аталян А.В., Манаенкова Т.Л., Самбялова А.Ю., Бельских А.В., Рычкова Л.В., и др. *Фармакогенетика антиретровирусной терапии у детей и подростков: Свидетельство о регистрации базы данных № 2021621961* Рос. Федерация. № 2021621872; заявл. 09.09.2021; опубл. 15.09.2021.
9. Нечаева О.Б. Туберкулез у детей России. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2020; 98(11): 12-20. doi: 10.21292/2075-1230-2020-98-11-12-20
10. Indolfi G, Easterbrook Ph, Dusheiko G, El-Sayed MH, Jonas MM, Thomas C, et al. Hepatitis C virus infection in children and adolescents. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2019; 4(6): 477-487. doi: 1016/S2468-1253(19)30046-9
11. WHO. *Health for the world's adolescents: A second chance in the second decade*. Geneva: World Health Organization; 2014. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112750> [date of access: 25.04.2022].
12. Kay AW, Rabie H, Maleche-Obimbo E, Sekadde MP, Cotton MF, Mandalakas AM. HIV-associated tuberculosis in children and adolescents: Evolving epidemiology, screening, prevention and management strategies. *Pathogens*. 2021; 1(11); 33. doi: 10.3390/pathogens11010033
13. Munthali L, Khan PY, Mwaungulu NJ, Chilongo F, Floyd S, Kayange M, et al. The effect of HIV and antiretroviral therapy on characteristics of pulmonary tuberculosis in northern Malawi: A cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2014; 14(1): 107. doi: 10.1186/1471-2334-14-107
14. Lyles G, Ogarkov O, Zhdanova S, Peloquin CA, Ebers A, Pfaeffle H, et al. Pharmacokinetics of tuberculosis drugs in HIV infected patients from Irkutsk, Russian Federation: Redefining drug activity. *Eur Respir J*. 2018; 51(5): 1800109. doi: 10.1183/13993003.00109-2018
15. Attia EF, Miller RF, Ferrand RA. Bronchiectasis and other chronic lung diseases in adolescents living with HIV. *Curr Opin Infect Dis*. 2017; 30: 21-30. doi: 10.1097/qco.0000000000000325
16. Allwood BW, van der Zalm MM, Amaral AFS, Byrne A, Datta S, Egere U, et al. Post-tuberculosis lung health: Perspectives from the First International Symposium. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2020; 24: 820-828. doi: 10.5588/ijtld.20.0067
17. Githinji LN, Gray DM, Hlengwa S, Myer L, Machemedze T, Zar HJ. Longitudinal changes in spirometry in South African adolescents perinatally infected with human immunodeficiency virus who are receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2020; 70: 483-490. doi: 10.1093/cid/ciz255
18. Attia EF, Maleche-Obimbo E, West TE, Ndukwé-Wambutsi L, Kiptinness C, Cagle A, et al. Adolescent age is an independent risk factor for abnormal spirometry among people living with HIV in Kenya. *AIDS*. 2018; 32(10): 1353-1359. doi: 10.1097/qad.0000000000001815
19. Carlucci JG, Blevins Peratikos M, Kipp AM, Lindegren ML, Du QT, Renner L, et al. Tuberculosis treatment outcomes among HIV/TB-coinfected children in the International Epidemiology Databases to Evaluate AIDS (IeDEA) network. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2017; 75(2): 156-163. doi: 10.1097/qai.0000000000001335
20. Harries AD, Dlodlo RA, Brigden G, Mortimer K, Jensen P, Fujiwara PI, et al. Should we consider a "fourth 90" for tuberculosis? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019; 23: 1253-1256. doi: 10.5588/ijtld.19.0471
21. Fitzpatrick ME, Kunisaki KM, Morris A. Pulmonary disease in HIV-infected adults in the era of antiretroviral therapy. *AIDS*. 2018; 32(3): 277-292. doi: 10.1097/qad.0000000000001712
22. Bigna JJ, Kenne AM, Asangbeh SL, Sibetcheu AT. Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in the global population with HIV: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Global Health*. 2018; 6(2): e193-e202. doi: 10.1016/s2214-109x(17)30451-5
23. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Свободнорадикальные реакции при социально значимых инфекционных заболеваниях: ВИЧ-инфекции, гепатитах, туберкулезе. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75(3): 196-203.
24. Rogers ME, Balistreri WF. Cascade of care for children and adolescents with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2021; 27(12): 1117-1131. doi: 10.3748/wjg.v27.i12.1117
25. El-Shabrawi MH, Kamal NM. Burden of pediatric hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(44): 7880-7888. doi: 10.3748/wjg.v19.i44.7880
26. Delgado-Borrego A, Smith L, Jonas MM, Hall CA, Negre B, Jordan SH, et al. Expected and actual case ascertainment and treatment rates for children infected with hepatitis C in Florida and the United States: Epidemiologic evidence from statewide and nationwide surveys. *J Pediatr*. 2012; 161: 915-921. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.05.002
27. Spivak JL, Bender BS, Quinn TC. Hematologic abnormalities in the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med*. 1984; 77: 224-228. doi: 10.1016/0002-9343(84)90695-8
28. Zon LI, Arkin C, Groopman JE. Haematologic manifestations of the human immune deficiency virus (HIV). *Br J Haematol*. 1987; 66: 251-256. doi: 10.1111/j.1365-2141.1987.tb013

29. Mocroft A, Kirk O, Barton SE, Dietrich M, Proenca R, Cole-bunders R, et al. Anaemia is an independent predictive marker for clinical prognosis in HIV-infected patients from across Europe. *AIDS*. 1999; 13(8): 943-950. doi: 10.1097/00002030-199905280-000
30. Sullivan PS, Hanson DL, Chu SY, Jones JL, Ward JW. Epidemiology of anemia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected persons: Results from the multistate adult and adolescent spectrum of HIV disease surveillance project. *Blood*. 1998; 91: 301-308. doi: 10.1182/blood.v91.1.301
31. Wagnew F, Eshetie S, Alebel A, Tesema C, Kibret GD, Gebrie A, et al. Burden of anemia and its association with HAART in HIV infected children in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*. 2019; 19(1): 1032. doi: 10.1186/s12879-019-4656-1
32. Clark TD, Mmiro F, Ndugwa C, Perry RT, Jackson JB, Melikian G, et al. Risk factors and cumulative incidence of anaemia among human immunodeficiency virus-infected children in Uganda. *Ann Trop Paediatr*. 2002; 22: 11-17. doi: 10.1179/027249302125000102
33. Volberding PA. Human immunodeficiency virus hematology. *Hematology*. 2003; 294-313. doi: 10.1182/asheducation-2003
34. Ellaurie M, Burns ER, Rubinstein A. Hematologic manifestations in pediatric HIV infection: Severe anemia as a prognostic factor. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1990; 12: 449-453. doi: 10.1097/00043426-199024000-00008
35. Mueller BU, Tannenbaum S, Pizzo PA. Bone marrow aspirates and biopsies in children with human immunodeficiency virus infection. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996; 18: 266-271. doi: 10.1097/00043426-199608000-00006
36. Gooden TE, Gardner M, Wang J, Chandan JS, Beane A, Haniffa R, et al. The risk of mental illness in people living with HIV in the UK: A propensity score-matched cohort study *Lancet HIV*. 2022; 9(3): e172-e181. doi: 10.1016/S2352-3018(21)00319-2
37. le Roux SM, Donald KA, Brittain K, Phillips TK, Zerbe A, Nguyen KK, et al. Neurodevelopment of breastfed HIV-exposed uninfected and HIV-unexposed children in South Africa. *AIDS*. 2018; 32(13): 1781-1791. doi: 10.1097/qad.0000000000001872
38. Chaudhury S, Williams PL, Mayondi GK, Leidner J, Holding P, Tepper V, et al. Neurodevelopment of HIV-exposed and HIV-unexposed uninfected children at 24 months. *Pediatrics*. 2017; 140(4): e20170988. doi: 10.1542/peds.2017-0988
39. Boivin MJ, Maliwichi-Senganimalunje L, Ogwang LW, Kawalazira R, Sikorskii A, Familiar-Lopez I, et al. Neurodevelopmental effects of ante-partum and post-partum antiretroviral exposure in HIV-exposed and uninfected children versus HIV-unexposed and uninfected children in Uganda and Malawi: A prospective cohort study. *Lancet HIV*. 2019; 6: e518-530. doi: 10.1016/S2352-3018(19)30083-9
40. Judd A, Le Prevost M, Melvin D, Arenas-Pinto A, Parrott F, Winston A, et al. Cognitive function in young persons with and without perinatal HIV in the AALPHI cohort in England: Role of non-HIV-related factors. *Clin Infect Dis*. 2016; 63(10): 1380-1387. doi: 10.1093/cid/ciw568
41. Arrildt KT, LaBranche CC, Joseph SB, Dukhovlinova EN, Graham WD, Ping L-H, et al. Phenotypic correlates of HIV-1 macrophage tropism. *J Virol*. 2015; 89(22): 11294-11311. doi: 10.1128/jvi.00946-15
42. Sturdevant CB, Dow A, Jabara CB, Joseph SB, Schnell G, Takamune N, et al. Central nervous system compartmentalization of HIV-1 subtype C variants early and late in infection in young children. *PLoS Pathog*. 2012; 8(12): e1003094. doi: 10.1371/journal.ppat.1003094
43. Kaul M, Lipton S. Mechanisms of neuronal injury and death in HIV-1 associated dementia. *Current HIV Research*. 2006; 4(3): 307-318. doi: 10.2174/15701620677709384
44. Schwartz L, Civitello L, Dunn-Pirio A, Ryschkewitsch S, Berry E, Cavert W, et al. Evidence of human immunodeficiency virus type 1 infection of nestin-positive neural progenitors in archival pediatric brain tissue. *J Neurovirol*. 2007; 13(3): 274-283. doi: 10.1080/13550280701344975
45. Chiriboga CA, Fleishman S, Champion S, Gaye-Robinson L, Abrams EJ. Incidence and prevalence of HIV encephalopathy in children with HIV infection receiving highly active anti-retroviral therapy (HAART). *J Pediatr*. 2005; 146: 402-407. doi: 10.1016/j.jpeds.2004.10.021
46. Patel K, Ming X, Williams PL, Robertson KR, Oleske JM, Seage GR. Impact of HAART and CNS-penetrating antiretroviral regimens on HIV encephalopathy among perinatally infected children and adolescents. *AIDS*. 2009; 23(14): 1893-1901. doi: 10.1097/qad.0b013e32832dc041
47. Shanbhag MC, Rutstein RM, Zaoutis T, Zhao H, Chao D, Radcliffe J. Neurocognitive functioning in pediatric human immunodeficiency virus infection: Effects of combined therapy. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005; 159: 651-656. doi: 10.1001/arch-pedi.159.7.651
48. Shan L, Siliciano RF. From reactivation of latent HIV-1 to elimination of the latent reservoir: The presence of multiple barriers to viral eradication. *BioEssays*. 2013; 35: 544-552. doi: 10.1002/bies.201200170
49. McCoig C, Castrejón MM, Castaño E, de Suman O, Báez C, Redondo W, et al. Effect of combination antiretroviral therapy on cerebrospinal fluid HIV RNA, HIV resistance, and clinical manifestations of encephalopathy. *J Pediatr*. 2002; 141: 36-44. doi: 10.1067/mpd.2002.12500
50. Lewis-de los Angeles CP, Williams PL, Huo Y, Wang SD, Uban KA, Herting MM, et al. Lower total and regional grey matter brain volumes in youth with perinatally-acquired HIV infection: Associations with HIV disease severity, substance use, and cognition. *Brain Behav Immun*. 2017; 62: 100-109. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.004
51. Wedderburn CJ, Weldom E, Bertran-Cobo C, Rehman AM, Stein DJ, Gibb DM, et al. Early neurodevelopment of HIV-exposed uninfected children in the era of antiretroviral therapy: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022; 6(6): 393-408. doi: 10.1016/S2352-4642(22)00071-2
52. Crowell CS, Huo Y, Tassiopoulos K, Malee KM, Yoge R, Hazra R, et al. Early viral suppression improves neurocognitive outcomes in HIV-infected children. *AIDS*. 2015; 29(3): 295-304. doi: 10.1097/qad.0000000000000528
53. Morden E, Technau K-G, Giddy J, Maxwell N, Keiser O, Davies M-A. Growth of HIV-exposed uninfected infants in the first 6 months of life in South Africa: The leDEA-SA collaboration. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0151762. doi: 10.1371/journal.pone.0151762
54. Aizire J, Sikorskii A, Ogwang LW, Kawalazira R, Mutebe A, Familiar-Lopez I, et al. Decreased growth among antiretroviral drug and HIV exposed uninfected versus unexposed children in Malawi and Uganda. *AIDS*. 2020; 34: 215-225. doi: 10.1097/qad.0000000000002405

REFERENCES

1. UNICEF. *Children and AIDS. Seventh Stocktaking Report*. 2016.
2. Petrova A, Vaniarkina A, Plotnikova J, Rychkova L, Moskaleva E. Impact of combined antiretroviral prophylaxis on health outcomes in HIV-exposed neonates. *Archives of Disease in Childhood*. 2019; 104(S3): A4.
3. Vanyarkina AS, Petrova AG, Rychkova LV, Moskaleva EV, Novikova EA. Socio-demographic factors and epidemiological characteristics of HIV-positive pregnant women with high risk of vertical transmission of the immunodeficiency virus. *International Journal of Biomedicine*. 2021; 11(4): 564-569.
4. Vanyarkina AS, Petrova AG, Rychkova LV, Romanitsa AI, Moskaleva EV. Infectious morbidity in perinatally HIV exposed newborns receiving an enhanced regimen of therapy. *Journal Infectology*. 2020; 12(2S): 41. (In Russ.).
5. Frigati LJ, Brown K, Mahtab S, Githinji L, Gray D, Zühlke L, et al. Multisystem impairment in South African adolescents with perinatally acquired HIV on antiretroviral therapy (ART). *J Int AIDS Soc*. 2019; 22(8): 1-8. doi: 10.1002/jia2.25386
6. Bartlett AW, Mohamed TJ, Sudjaritruk T, Kurniati N, Nalilusamy R, Hansudewechakul R, et al. Disease- and treatment-related morbidity in adolescents with perinatal HIV infection in Asia. *Pediat Infect Dis J*. 2018; 38(3): 287-292. doi: 10.1097/inf.0000000000002208
7. Frigati LJ, Ameyan W, Cotton MF, Gregson CL, Hoare J, Jao J, et al. Chronic comorbidities in children and adolescents with perinatally acquired HIV infection in sub-Saharan Africa in the era of antiretroviral therapy. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020; 4(9): 688-698. doi: 10.1016/s2352-4642(20)30037-7
8. Bairova TA, Atalyan AV, Manaenkova TL, Sambyalova AYU, Belskikh AV, Rychkova LV, et al. *Pharmacogenetics of antiretroviral therapy in children and adolescents: Certificate on the database registration No. 2021621961 of the Russian Federation*. 2021. (In Russ.)
9. Nechaeva OB. Tuberculosis in children in Russia. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2020; 98(11): 12-20. (In Russ.). doi: 10.21292/2075-1230-2020-98-11-12-20
10. Indolfi G, Easterbrook Ph, Dusheiko G, El-Sayed MH, Jonas MM, Thomas C, et al. Hepatitis C virus infection in children and adolescents. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2019; 4(6): 477-487. doi: 1016/S2468-1253(19)30046-9
11. WHO. *Health for the world's adolescents: A second chance in the second decade*. Geneva: World Health Organization; 2014. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112750> [date of access: 25.04.2022].
12. Kay AW, Rabie H, Maleche-Obimbo E, Sekadde MP, Cotton MF, Mandalakas AM. HIV-associated tuberculosis in children and adolescents: Evolving epidemiology, screening, prevention and management strategies. *Pathogens*. 2021; 1(11): 33. doi: 10.3390/pathogens11010033
13. Munthali L, Khan PY, Mwaungulu NJ, Chilongo F, Floyd S, Kayange M, et al. The effect of HIV and antiretroviral therapy on characteristics of pulmonary tuberculosis in northern Malawi: A cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2014; 14(1): 107. doi: 10.1186/1471-2334-14-107
14. Lyles G, Ogarkov O, Zhdanova S, Peloquin CA, Ebers A, Pfaeffle H, et al. Pharmacokinetics of tuberculosis drugs in HIV infected patients from Irkutsk, Russian Federation: Redefining drug activity. *Eur Respir J*. 2018; 51(5): 1800109. doi: 10.1183/13993003.00109-2018
15. Attia EF, Miller RF, Ferrand RA. Bronchiectasis and other chronic lung diseases in adolescents living with HIV. *Curr Opin Infect Dis*. 2017; 30: 21-30. doi: 10.1097/qco.0000000000000325
16. Allwood BW, van der Zalm MM, Amaral AFS, Byrne A, Datta S, Egere U, et al. Post-tuberculosis lung health: Perspectives from the First International Symposium. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2020; 24: 820-828. doi: 10.5588/ijtd.20.0067
17. Githinji LN, Gray DM, Hlengwa S, Myer L, Machemedze T, Zar HJ. Longitudinal changes in spirometry in South African adolescents perinatally infected with human immunodeficiency virus who are receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2020; 70: 483-490. doi: 10.1093/cid/ciz255
18. Attia EF, Maleche-Obimbo E, West TE, Ndukwe-Wambutsi L, Kiptinness C, Cagle A, et al. Adolescent age is an independent risk factor for abnormal spirometry among people living with HIV in Kenya. *AIDS*. 2018; 32(10): 1353-1359. doi: 10.1097/qad.0000000000001815
19. Carlucci JG, Blevins Peratikos M, Kipp AM, Lindegren ML, Du QT, Renner L, et al. Tuberculosis treatment outcomes among HIV/TB-coinfected children in the International Epidemiology Databases to Evaluate AIDS (IeDEA) network. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2017; 75(2): 156-163. doi: 10.1097/qai.0000000000001335
20. Harries AD, Dlodlo RA, Brigden G, Mortimer K, Jensen P, Fujiwara PI, et al. Should we consider a "fourth 90" for tuberculosis? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019; 23: 1253-1256. doi: 10.5588/ijtd.19.0471
21. Fitzpatrick ME, Kunisaki KM, Morris A. Pulmonary disease in HIV-infected adults in the era of antiretroviral therapy. *AIDS*. 2018; 32(3): 277-292. doi: 10.1097/qad.0000000000001712
22. Bigna JJ, Kenne AM, Asangbeh SL, Sibetcheu AT. Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in the global population with HIV: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Global Health*. 2018; 6(2): e193-e202. doi: 10.1016/s2214-109x(17)30451-5
23. Darenkaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Free radical reactions in socially significant infectious diseases: HIV infection, hepatitis, tuberculosis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2020; 75(3): 196-203. (In Russ.).
24. Rogers ME Balistreri WF. Cascade of care for children and adolescents with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2021; 27(12): 1117-1131. doi: 10.3748/wjg.v27.i12.1117
25. El-Shabrawi MH, Kamal NM. Burden of pediatric hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(44): 7880-7888. doi: 10.3748/wjg.v19.i44.7880
26. Delgado-Borrego A, Smith L, Jonas MM, Hall CA, Negre B, Jordan SH, et al. Expected and actual case ascertainment and treatment rates for children infected with hepatitis C in Florida and the United States: Epidemiologic evidence from statewide and nationwide surveys. *J Pediatr*. 2012; 161: 915-921. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.05.002
27. Spivak JL, Bender BS, Quinn TC. Hematologic abnormalities in the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med*. 1984; 77: 224-228. doi: 10.1016/0002-9343(84)90695-8
28. Zon LI, Arkin C, Groopman JE. Haematologic manifestations of the human immune deficiency virus (HIV). *Br J Haematol*. 1987; 66: 251-256. doi: 10.1111/j.1365-2141.1987.tb013
29. Mocroft A, Kirk O, Barton SE, Dietrich M, Proenca R, Colebunders R, et al. Anaemia is an independent predictive

- marker for clinical prognosis in HIV-infected patients from across Europe. *AIDS*. 1999; 13(8): 943-950. doi: 10.1097/00002030-199905280-000
30. Sullivan PS, Hanson DL, Chu SY, Jones JL, Ward JW. Epidemiology of anemia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected persons: Results from the multistate adult and adolescent spectrum of HIV disease surveillance project. *Blood*. 1998; 91: 301-308. doi: 10.1182/blood.v91.1.301
31. Wagnew F, Eshetie S, Alebel A, Tesema C, Kibret GD, Gebrie A, et al. Burden of anemia and its association with HAART in HIV infected children in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*. 2019; 19(1): 1032. doi: 10.1186/s12879-019-4656-1
32. Clark TD, Mmiro F, Ndugwa C, Perry RT, Jackson JB, Melikian G, et al. Risk factors and cumulative incidence of anaemia among human immunodeficiency virus-infected children in Uganda. *Ann Trop Paediatr.* 2002; 22: 11-17. doi: 10.1179/027249302125000102
33. Volberding PA. Human immunodeficiency virus hematology. *Hematology*. 2003; 294-313. doi: 10.1182/asheducation-2003
34. Ellaurie M, Burns ER, Rubinstein A. Hematologic manifestations in pediatric HIV infection: Severe anemia as a prognostic factor. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1990; 12: 449-453. doi: 10.1097/00043426-199024000-00008
35. Mueller BU, Tannenbaum S, Pizzo PA. Bone marrow aspirates and biopsies in children with human immunodeficiency virus infection. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996; 18: 266-271. doi: 10.1097/00043426-199608000-00006
36. Gooden TE, Gardner M, Wang J, Chandan JS, Beane A, Haniffa R, et al. The risk of mental illness in people living with HIV in the UK: A propensity score-matched cohort study *Lancet HIV*. 2022; 9(3): e172-e181. doi: 10.1016/S2352-3018(21)00319-2
37. le Roux SM, Donald KA, Brittain K, Phillips TK, Zerbe A, Nguyen KK, et al. Neurodevelopment of breastfed HIV-exposed uninfected and HIV-unexposed children in South Africa. *AIDS*. 2018; 32(13): 1781-1791. doi: 10.1097/qad.0000000000001872
38. Chaudhury S, Williams PL, Mayondi GK, Leidner J, Holding P, Tepper V, et al. Neurodevelopment of HIV-exposed and HIV-unexposed uninfected children at 24 months. *Pediatrics*. 2017; 140(4): e20170988. doi: 10.1542/peds.2017-0988
39. Boivin MJ, Maliwichi-Senganimalunje L, Ogwang LW, Kawalazira R, Sikorskii A, Familiar-Lopez I, et al. Neurodevelopmental effects of ante-partum and post-partum antiretroviral exposure in HIV-exposed and uninfected children versus HIV-unexposed and uninfected children in Uganda and Malawi: A prospective cohort study. *Lancet HIV*. 2019; 6: e518-530. doi: 10.1016/S2352-3018(19)30083-9
40. Judd A, Le Prevost M, Melvin D, Arenas-Pinto A, Parrott F, Winston A, et al. Cognitive function in young persons with and without perinatal HIV in the AALPHI cohort in England: Role of non-HIV-related factors. *Clin Infect Dis*. 2016; 63(10): 1380-1387. doi: 10.1093/cid/ciw568
41. Arrildt KT, LaBranche CC, Joseph SB, Dukhovlinova EN, Graham WD, Ping L-H, et al. Phenotypic correlates of HIV-1 macrophage tropism. *J Virol*. 2015; 89(22): 11294-11311. doi: 10.1128/jvi.00946-15
42. Sturdevant CB, Dow A, Jabara CB, Joseph SB, Schnell G, Takamune N, et al. Central nervous system compartmentalization of HIV-1 subtype C variants early and late in infection in young children. *PLoS Pathog.* 2012; 8(12): e1003094. doi: 10.1371/journal.ppat.1003094
43. Kaul M, Lipton S. Mechanisms of neuronal injury and death in HIV-1 associated dementia. *Current HIV Research*. 2006; 4(3): 307-318. doi: 10.2174/15701620677709384
44. Schwartz L, Civitello L, Dunn-Pirio A, Ryschkewitsch S, Berry E, Cavert W, et al. Evidence of human immunodeficiency virus type 1 infection of nestin-positive neural progenitors in archival pediatric brain tissue. *J Neurovirol.* 2007; 13(3): 274-283. doi: 10.1080/13550280701344975
45. Chiriboga CA, Fleishman S, Champion S, Gaye-Robinson L, Abrams EJ. Incidence and prevalence of HIV encephalopathy in children with HIV infection receiving highly active anti-retroviral therapy (HAART). *J Pediatr.* 2005; 146: 402-407. doi: 10.1016/j.jpeds.2004.10.021
46. Patel K, Ming X, Williams PL, Robertson KR, Oleske JM, Seage GR. Impact of HAART and CNS-penetrating antiretroviral regimens on HIV encephalopathy among perinatally infected children and adolescents. *AIDS*. 2009; 23(14): 1893-1901. doi: 10.1097/qad.0b013e32832dc041
47. Shanbhag MC, Rutstein RM, Zaoutis T, Zhao H, Chao D, Radcliffe J. Neurocognitive functioning in pediatric human immunodeficiency virus infection: Effects of combined therapy. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005; 159: 651-656. doi: 10.1001/arch-pedi.159.7.651
48. Shan L, Siliciano RF. From reactivation of latent HIV-1 to elimination of the latent reservoir: The presence of multiple barriers to viral eradication. *BioEssays*. 2013; 35: 544-552. doi: 10.1002/bies.201200170
49. McCoig C, Castrejón MM, Castaño E, de Suman O, Báez C, Redondo W, et al. Effect of combination antiretroviral therapy on cerebrospinal fluid HIV RNA, HIV resistance, and clinical manifestations of encephalopathy. *J Pediatr.* 2002; 141: 36-44. doi: 10.1067/mpd.2002.12500
50. Lewis-de los Angeles CP, Williams PL, Huo Y, Wang SD, Uban KA, Herting MM, et al. Lower total and regional grey matter brain volumes in youth with perinatally-acquired HIV infection: Associations with HIV disease severity, substance use, and cognition. *Brain Behav Immun.* 2017; 62: 100-109. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.004
51. Wedderburn CJ, Weldom E, Bertran-Cobo C, Rehman AM, Stein DJ, Gibb DM, et al. Early neurodevelopment of HIV-exposed uninfected children in the era of antiretroviral therapy: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health.* 2022; 6(6): 393-408. doi: 10.1016/S2352-4642(22)00071-2
52. Crowell CS, Huo Y, Tassiopoulos K, Malee KM, Yoge R, Hazra R, et al. Early viral suppression improves neurocognitive outcomes in HIV-infected children. *AIDS*. 2015; 29(3): 295-304. doi: 10.1097/qad.0000000000000528
53. Morden E, Technau K-G, Giddy J, Maxwell N, Keiser O, Davies M-A. Growth of HIV-exposed uninfected infants in the first 6 months of life in South Africa: The leDEA-SA collaboration. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0151762. doi: 10.1371/journal.pone.0151762
54. Aizire J, Sikorskii A, Ogwang LW, Kawalazira R, Mutebe A, Familiar-Lopez I, et al. Decreased growth among antiretroviral drug and HIV exposed uninfected versus unexposed children in Malawi and Uganda. *AIDS*. 2020; 34: 215-225. doi: 10.1097/qad.0000000000002405

Сведения об авторах

Манаенкова Татьяна Леонидовна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mtl@aids38.ru

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Самбялова Александра Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Парамонов Алексей Игоревич – лаборант-исследователь функциональной группы геномных исследований и биоинформационного анализа, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: paramonov_a.i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7156-4036>

Беляева Елена Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: belyeva_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6050-5287>

Бугун Ольга Витальевна – доктор медицинских наук, заместитель директора по клинической работе – главный врач клиники, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: clinica_zam1@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Information about the authors

Tatiana L. Manaenкова – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mtl@aids38.ru

Tatyana A. Bairova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Alexandra Yu. Sambyalova – Junior Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Aleksey I. Paramonov – Research Assistant at the Group of Genomic Studies and Bioinformation Analysis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: paramonov_a.i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7156-4036>

Elena V. Belyaeva – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: belyeva_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6050-5287>

Olga V. Bugun – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Clinical Work, Chief Physician of the Clinic, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: clinica_zam1@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ОЛОКИЗУМАБ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

РЕЗЮМЕ

Гома Т.В.¹,
Калягин А.Н.¹,
Рыжкова О.В.¹,
Соловьева Н.С.²

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)
² АО «Р-Фарм» (119427, г. Москва, Ленинский пр-т, 111, корп. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Гома Татьяна Владимировна,
e-mail: tanyagoma@mail.ru

Обоснование. При COVID-19 происходит активизация выработки провоспалительных цитокинов, одним из которых является интерлейкин 6 (ИЛ-6). Использование препарата олокизумаб, ингибирующего данный цитокин, патогенетически обосновано.

Цель исследования. Изучить в реальной клинической практике эффективность и безопасность применения ингибитора ИЛ-6 (олокизумаба) у пациентов с подтверждённой COVID-19 пневмонией.

Материалы и методы. В первую группу вошёл 41 госпитализированный пациент с подтверждённой COVID-19 пневмонией, получивший в составе комплексной терапии олокизумаб. Контрольную группу составили 66 больных, не получавших терапию ингибитором ИЛ-6. Для анализа использовали клинические (объём поражения лёгких, степень дыхательной недостаточности, индекс массы тела) и лабораторные данные (уровни Т-тропонина, лактата, прокальцитонина, натрийуретического пептида, С-реактивного белка, фибриногена, D-димера, ферритина, скорость оседания эритроцитов, скорость клубочковой фильтрации).

Результаты. Группы не отличались между собой по полу, возрасту, индексу массы тела пациентов, объёму поражения лёгочной ткани и продолжительности госпитализации ($p > 0,05$). Дыхательная недостаточность 2–3-й степени среди пациентов первой группы встречалась чаще ($\chi^2 = 6,3; p = 0,010$). Исходные уровни С-реактивного белка (50,9 [34,2; 76,2] и 32,2 [9,9; 69,1] мг/л соответственно; $p = 0,009$) и фибриногена (6,0 [5,3; 6,7] и 5,2 [4,3; 6,2] г/л; $p = 0,005$) у пациентов группы олокизумаба были значительно выше, чем в контрольной группе. Уровни скорости оседания эритроцитов, фибриногена и ферритина, D-димера, зарегистрированные при поступлении пациентов в стационар, статистически значимо не отличались. При выписке скорость оседания эритроцитов у пациентов, получавших олокизумаб, была статистически значимо ниже (9,0 [5,5; 14,5] и 13,0 [7,0; 27,0] мм/ч; $p = 0,018$).

Заключение. Применение олокизумаба при COVID-19 пневмонии продемонстрировало положительное влияние на клинические и лабораторные показатели (уровни скорости оседания эритроцитов, фибриногена) у более тяжёлых пациентов с выраженным воспалительными изменениями и нарушением функции дыхания.

Ключевые слова: олокизумаб, артлегия, коронавирусная инфекция, COVID-19, пневмония, интерлейкин-6

Статья поступила: 10.01.2022

Статья принята: 16.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Гома Т.В., Калягин А.Н., Рыжкова О.В., Соловьева Н.С. Эффективность применения препарата олокизумаб у пациентов с COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 86-95. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.9

EFFICACY OF OLOCIZUMAB IN TREATMENT OF COVID-19 PATIENTS

ABSTRACT

Goma T.V.¹,
Kalyagin A.N.¹,
Ryzhkova O.V.¹,
Soloveva N.S.²

¹ Irkutsk State Medical University
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² R-Pharm JSC (Leninsky ave. 111 build. 1,
Moscow 119427, Russian Federation)

Corresponding author:

Tatyana V. Goma,
e-mail: tanyagoma@mail.ru

Background. Production of pro-inflammatory cytokines including interleukin 6 (IL-6) is activated in COVID-19. Using olokizumab which inhibits IL-6 production in treatment of COVID-19 is pathogenetically justified.

The aim. To study in real clinical practice the efficacy and safety of using the IL-6 inhibitor (olokizumab) in treatment of patients with confirmed COVID-19 pneumonia.

Materials and methods. The first group included 41 hospitalized patients with confirmed COVID-19 pneumonia having complex therapy including olokizumab. The control group consisted of 66 patients with confirmed COVID-19 pneumonia who did not have therapy with IL-6 inhibitor. We analyzed clinical (volume of lung involvement, respiratory failure degree, body mass index) and laboratory data (levels of T-troponin, lactate, procalcitonin, natriuretic peptide, C-reactive protein, fibrinogen, D-dimer, ferritin, erythrocyte sedimentation rate, glomerular filtration rate).

Results. The groups did not differ in gender, age, body mass index of patients, volume of lung tissue injury, and duration of hospitalization ($p > 0.05$). Respiratory failure of 2–3rd degree was more common in patients of the first group ($\chi^2 = 6.3$; $p = 0.010$). The initial levels of C-reactive protein (50.9 [34.2; 76.2] and 32.2 [9.9; 69.1] mg/L respectively; $p = 0.009$) and fibrinogen (6.0 [5.3; 6.7] and 5.2 [4.3; 6.2] g/l respectively; $p = 0.005$) in patients having therapy including olokizumab were significantly higher than in the control group. The levels of erythrocyte sedimentation rate, fibrinogen and ferritin, D-dimer, detected upon admission of patients to the hospital, didn't have statistically significant differences. At discharge, the erythrocyte sedimentation rate in patients receiving olokizumab was statistically significantly lower (9.0 [5.5; 14.5] and 13.0 [7.0; 27.0] mm/h; $p = 0.018$).

Conclusions. Using olokizumab in the treatment patient with COVID-19 pneumonia has demonstrated a positive effect on clinical and laboratory parameters (erythrocyte sedimentation rate, fibrinogen level) in patients with pronounced inflammatory changes and respiratory impairment.

Key words: olokizumab, Artelegia, coronavirus infection, COVID-19, pneumonia, interleukin 6

Received: 10.01.2022

Accepted: 16.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Goma T.V., Kalyagin A.N., Ryzhkova O.V., Soloveva N.S. Efficacy of olocizumab in treatment of COVID-19 patients. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 86-95.
doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.9

ВВЕДЕНИЕ

С момента объявления ВОЗ пандемии коронавирусной инфекции в марте 2020 г. и до сегодняшнего дня COVID-19 остаётся актуальной проблемой не только российского, но и мирового здравоохранения. Заболеваемость коронавирусной инфекцией неуклонно растёт [1–3]. На сегодняшний день в мире инфицировано более 220 млн человек, более 4,5 млн человек умерло. Иркутская область стабильно входит в десятку лидеров среди регионов РФ по распространённости COVID-19.

Вирус SARS-CoV-2 – это РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Coronaviridae*, роду *Betacoronavirus*. Вирус отнесён ко II группе патогенности и периодически мутирует, что характерно для РНК-содержащих вирусов [1].

Вирус передаётся через воздух, пищевые продукты и контаминированные предметы обихода. Клинические проявления инфекции SARS-CoV-2 многообразны и, кроме вирусной пневмонии, сопровождающейся острым респираторным дистресс-синдромом, включают ещё множество вариантов, в том числе тромбозы и эмболии, поражение пищеварительной системы, сердца, почек, кожи, нервной системы, суставов [3]. Разнообразие клинических вариантов связано с многогранностью патогенетических механизмов коронавирусной инфекции, которые на сегодняшний день являются не до конца изученными. Однако наряду с прямым цитотоксическим действием ведущую роль в патогенезе заболевания играет патологическая активация иммунной системы с развитием гипериммунных реакций и эндотелиальной дисфункции [1–3].

Обнаружено, что при COVID-19 патологически активируется врождённый и приобретённый иммунитет, происходит дисрегуляция выработки цитокинов в сторону увеличения количества «провоспалительных». Даже при лёгких формах инфекции происходят изменения в структуре основных кровяных клеток, указывая на продолжающееся повреждение после острой фазы болезни [2]. Эту особенность частично можно объяснить способностью SARS-CoV-2, в отличие от других коронавирусов, ускользать от противовирусных эффектов эндогенного интерферона [1]. При неспособности организма инактивировать вирус гипериммунная провоспалительная реакция способствует тяжёлому течению заболевания, возникновению осложнений, в том числе «цитокиновому шторму» и диссеминированной внутрисосудистой коагуляции [4]. При экспериментальном моделировании коронавирусной пневмонии у приматов заболевание было более интенсивным на 3–4-й неделях после заражения SARS-CoV-2. Это объясняется аутоиммунной воспалительной активацией, вызванной распространением эпитопа, связанного с длительным разрушением ткани, что подчёркивает значимость «вирус-независимой» фазы патогенеза заболевания [5].

Одним из «провоспалительных» цитокинов, секретируемых иммунными клетками, является интерлейкин 6 (ИЛ-6). Уровень данного цитокина растёт во вре-

мя заболевания и коррелирует с тяжестью инфекционного процесса, а также с развитием осложнений, в том числе «цитокинового шторма». В настоящее время ИЛ-6 считается одним из лабораторных маркеров активности COVID-19 [1, 5]. Данный цитокин вносит свой вклад в развитие цитокинового шторма при коронавирусной инфекции посредством влияния на функцию Т- и В-лимфоцитов [6–8].

С учётом вышеизложенного оправдано включение в состав патогенетической терапии при COVID-19 препаратов, влияющих на систему цитокинов. Блокаду ИЛ-6 возможно осуществить двумя путями: ингибиование самого ИЛ-6 (олокизумаб) и блокада рецепторов ИЛ-6 (тоцилизумаб, сарилумаб, левилимаб) [9].

Препарат олокизумаб – гуманизированное моноклональное антитело, непосредственно блокирующее ИЛ-6. Данный препарат не влияет ни на функции других, связанных с ИЛ-6, веществ, ни на сигнальный путь данного цитокина. Первоначально данное лекарство предназначалось для терапии ревматоидного артрита и в июне 2020 г. было включено в состав патогенетической терапии коронавирусной инфекции. Препарат олокизумаб является первым отечественным препаратом, внесённым в рекомендации Минздрава России, и характеризуется по сравнению с препаратами данного класса фармакоэкономической эффективностью [10].

Действие олокизумаба связано со снижением иммунного ответа организма и проявляется в ряде клинических и лабораторных эффектов. У пациентов, получавших олокизумаб при среднетяжёлой пневмонии COVID-19, регистрировались положительные исходы лечения, в том числе купирование гипотермии, улучшение общего самочувствия, уменьшение частоты дыхательной недостаточности. Среди лабораторных маркеров отмечается снижение лейкоцитоза и С-реактивного белка [11, 12]. Олокизумаб не оказывает негативного влияния на структуру клеток крови [13]. Однако несмотря на выявленные положительные стороны использования олокизумаба, ряд авторов считают нецелесообразным рутинную терапию ингибиторами ИЛ-6 при COVID-19 [14]. Существенным недостатком данной терапии является риск развития инфекционных заболеваний, а также не до конца изученный профиль безопасности препарата. Немаловажным моментом является то, что на сегодняшний день недостаточно убедительных данных о клинической эффективности препарата олокизумаб у пациентов с COVID-19. Бессспорно, негативные эффекты, выявленные в ревматологической практике, являются существенным ограничением применения препарата, в том числе и при COVID-19, однако генез этих явлений дискутируем.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить в реальной клинической практике эффективность и безопасность применения ингибитора ИЛ-6 (олокизумаба) у пациентов с подтверждённой COVID-19 пневмонией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе Клиник ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России проведено одноцентровое ретроспективное обсервационное когортное исследование. Проанализирована 41 медицинская карта стационарных пациентов в возрасте более 18 лет с подтверждённой инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 (COVID-19), осложнённой интерстициальной пневмонией. Все больные, согласно критериям действующих временных методических рекомендаций Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», получали в составе комплексной терапии препарат Артлегиа® (олокизумаб) 160 мг/мл – 0,4 мл подкожно.

Первую группу составили 27 (65,9 %) мужчин и 14 (34,1 %) женщин. Средний возраст составил 62,0 [51,0; 67,0] года. Введение олокизумаба было осуществлено на 2,0 [2,0; 4,0] день госпитализации.

Контрольную группу составили 66 госпитализированных больных с подтверждённой коронавирусной инфекцией и интерстициальной пневмонией, получавшие комплексную терапию, согласно критериям действующих временных методических рекомендаций Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», без применения ингибитора ИЛ-6. Среди них был 41 (62,1 %) мужчина и 25 (37,9 %) женщин; средний возраст составил 59,5 [45,0; 69,0] лет.

Группа сравнения и контрольная группа не отличались между собой по полу и возрасту пациентов ($p > 0,05$).

К критериям исключения из исследования относили: возраст младше 18 лет и старше 75 лет; беременность и период грудного вскармливания; декомпенсацию цереброваскулярных, сердечно-сосудистых, почечных, печеночных заболеваний; наличие злокачественного онкологического заболевания, активного другого инфекционного заболевания (в том числе туберкулёза); прием системной глюкокортикоидной или иммуносупрессивной терапии; наличие аллергических реакций к компонентам лекарственной терапии.

Для анализа использовали следующие данные: возраст, пол, объём поражения лёгких (по данным мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ)), степень дыхательной недостаточности (оценивалась по данным пульсоксиметрии), индекс массы тела (ИМТ), исходные уровни Т-тропонина, лактата, прокальцитонина, натрий-уретического пептида (NT-proBNP), скорости клубочковой фильтрации (СКФ), рассчитанной по методу CKD-EPI. Изучена динамика показателей скорости оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, Д-димера, ферритина исходно, через сутки после введения препарата и при выписке из стационара, длительность госпитализации и развитие нежелательных явлений на фоне введения олокизумаба.

Исследование было проведено с соблюдением этических норм в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические

принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», одобрено заключением Этического комитета ИГМУ (протокол № 4 от 19.11.2021). Все участники исследования подписывали добровольное информированное согласие на использование их обезличенных данных из реальной клинической практики для научного анализа.

Статистический анализ осуществлялся при помощи программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США), MS Excel (Microsoft Corp., США). Выборочные параметры, приводимые в таблицах, имеют следующие обозначения: n – объём анализируемой подгруппы; p – достигнутый уровень статистической значимости. Проверка нормальности распределения производилась с помощью метода Шапиро – Уилка. Средние значения количественных признаков описывались в тексте медианой (Ме) и межквартильными интервалами, относительные величины – процентными долями.

При сравнении количественных признаков независимых групп использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. При анализе таблиц сопряжённости оценивались значения хи-квадрата (χ^2) по Пирсону, достигнутый уровень значимости. Сравнение двух связанных групп осуществлялось с помощью критерия Вилкоксона для парных сравнений; трёх связанных групп – с использованием рангового дисперсионного анализа по Фридмену с вычислением коэффициента конкордации Кендалла. При проверке нулевых гипотез критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Продолжительность госпитализации в группах больных не отличались. Данный параметр у пациентов, получающих олокизумаб, составил 14,0 [12,0; 16,0] дней, в контрольной группе – 13,0 [11,0; 15,0] дней ($p > 0,05$).

ИМТ во всех группах был выше нормы и составил 29,6 [26,3; 33,9] кг/м² в первой группе и 30,6 [27,0; 32,8] кг/м² – в контрольной ($p > 0,05$).

При анализе тяжести заболевания выяснилось, что в группе, получавшей олокизумаб, поражение лёгких менее 25 % (МСКТ 1) зарегистрировано у 4 (9,8 %), 25–50 % (МСКТ 2) – у 30 (73,2 %), 50–75 % (МСКТ 3) – у 6 (14,6 %), более 75 % (МСКТ 4) – у 1 (2,4 %) пациента. В группе контроля большинство пациентов (30–45,4 %) имели стадию МСКТ 2, 27 (41,0 %) – стадию МСКТ 1, 9 (13,6 %) – стадию МСКТ 3. Статистически значимых различий по объёму поражения лёгочной ткани у пациентов с COVID-19 в исследуемых группах не обнаружено ($p > 0,05$).

Однако нарушение функции газообмена среди пациентов первой группы встречались чаще, чем в группе сравнения. Так, отсутствие дыхательной недостаточности (ДН) и ДН 1-й степени зарегистрированы у 27 (65,9 %) пациентов; ДН 2-й и 3-й степеней – у 14 (34,1 %). Среди пациентов, не получающих олоки-

зумаб, отсутствие ДН и ДН 1-й степени диагностировано у 57 (45,5 %), ДН 1-й степени – у 27 (86,4 %), ДН 2-й и 3-й степеней – у 9 (13,6 %), ДН 3-й степени – у 2 (3,0 %). Структура пациентов исследуемой и контрольной групп по степени ДН представлена на рисунке 1. Таким образом, у пациентов первой группы ДН 2-3-й степени встречалась чаще, чем у больных, не получавших олокизумаб ($\chi^2 = 6,3; p = 0,01$).

При анализе уровней различных показателей в общей группе обследованных пациентов с COVID-19 в зависимости от степени дыхательной недостаточности выявлены статистически значимые различия (табл. 1).

Таким образом, у пациентов с COVID-19 пневмонией нарушение функции газообмена связано с выраженным воспалительными изменениями. Медиана уровня D-димера при поступлении была максимальной в группе с дыхательной недостаточностью, медианы же уровня D-димера при выписке из стационара во всех группах идентичны, хотя имеются статистически значимые различия этих показателей.

При изучении воспалительных показателей в исследуемых группах выявлено, что исходный уровень СРБ и фибриногена у пациентов группы олокизумаба

был значительно выше, чем в контрольной группе, тогда как показатели СОЭ и ферритина, зарегистрированные при поступлении пациентов в стационар, статистически значимо не отличались. При выписке уровень СОЭ у пациентов, получавших олокизумаб, был существенно ниже, чем у пациентов группы сравнения (табл. 2).

При анализе таблицы видно, что медиана уровня ферритина у пациентов, получающих олокизумаб, при поступлении в стационар и при выписке, была немного выше, чем в контрольной группе, но различия статистически не значимы ($p > 0,05$). На фоне терапии олокизумабом уровень ферритина повышался ($p = 0,02$).

Для оценки коагуляционных нарушений был исследован уровень D-димера. Так, у пациентов контрольной группы медиана данного показателя составила 0,6 мкг/мл (норма – до 0,5 мкг/мл), у пациентов группы олокизумаба – 0,4 мкг/мл; данные различия статистически значимо не отличались.

Также не зарегистрировано отличий между исследуемыми группами по уровню лактата, прокальцитонина, NT-proBNP, трансаминаз и лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Однако уровень Т-тропонина у пациентов

| | 1-я группа, % | 2-я группа, % |
|-----|---------------|---------------|
| ДН0 | 4,9 | 45,5 |
| ДН1 | 6,1 | 40,9 |
| ДН2 | 26,8 | 10,6 |
| ДН3 | 7,3 | 3,0 |

РИС. 1.

Структура пациентов с COVID-19 в зависимости от степени дыхательной недостаточности

ИЗМЕНЕНИЯ



FIG. 1.

Structure of patients with COVID-19 depending on the degree of respiratory failure

ТАБЛИЦА 1
ДИНАМИКА ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ,
ОТРАЖАЮЩИХ СТЕПЕНЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО
ПРОЦЕССА, У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ СТЕПЕНИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

TABLE 1
DYNAMICS OF THE MAIN INDICATORS
OF THE INFLAMMATORY PROCESS IN COVID-19
PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF RESPIRATORY
FAILURE

| Показатели | ДН 0 | ДН 1 | ДН 2 | ДН 3 | <i>p</i> |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------|
| СОЭ при поступлении, мм/ч | 25,5 [12,0; 35,5] | 34,0 [24,0; 52,0] | 35,0 [24,0; 60,0] | 23,0 [18,0; 38,0] | 0,012 |
| СРБ при поступлении, мг/л | 17,6 [7,6; 43,6] | 47,0 [28,9; 76,3] | 47,1 [33,0; 100,8] | 54,8 [46,0; 88,0] | 0,007 |
| Фибриноген при поступлении, г/л | 4,7 [4,0; 5,9] | 5,7 [4,8; 6,6] | 6,2 [5,4; 7,0] | 6,0 [3,8; 6,3] | 0,016 |
| D-димер при поступлении, мкг/мл | 0,5 [0,3; 1,0] | 0,7 [0,4; 1,3] | 0,4 [0,3; 0,5] | 0,5 [0,4; 0,9] | 0,040 |
| D-димер при выписке, мкг/мл | 0,3 [0,3; 0,4] | 0,3 [0,3; 0,5] | 0,3 [0,3; 0,4] | 0,3 [0,1; 0,3] | 0,034 |
| Прокальцитонин, нг/мл | 0,051 [0,031; 0,078] | 0,070 [0,044; 0,151] | 0,069 [0,051; 0,164] | 0,099 [0,080; 0,100] | 0,013 |
| Продолжительность госпитализации, сут. | 12,0 [10,0; 13,5] | 14,0 [12,0; 15,5] | 16,5 [15,0; 19,0] | 18,0 [14,0; 19,0] | < 0,001 |

исследуемой группы был больше и составил 9,9 нг/л, что, возможно, говорит о более выраженному поражении сердечно-сосудистой системы у пациентов группы олокизумаба. Также обращает на себя внимание снижение показателя СКФ у пациентов первой группы, отражающее более выраженное поражение почек (табл. 3).

При корреляционном анализе в общей группе пациентов выявлены отрицательные связи средней силы между возрастом пациентов и уровнем СКФ ($r = -0,57$; $p < 0,001$). Пациенты старших возрастных групп имели больший уровень СОЭ при выписке ($r = 0,22$; $p = 0,02$), D-димера при поступлении ($r = 0,34$; $p < 0,001$), Т-тропонина ($r = 0,33$; $p = 0,001$) и больший уровень альбумина ($r = 0,57$; $p < 0,001$).

ТАБЛИЦА 2
ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19, ПОЛУЧАВШИХ ОЛОКИЗУМАБ, И ПАЦИЕНТОВ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ

| Показатели | Группа сравнения ($n = 41$) | Контрольная группа ($n = 66$) | p |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------|
| СОЭ исходно, мм/ч | 31,0 [23,0; 57,0] | 30,0 [17,0; 46,0] | > 0,05 |
| СОЭ при выписке, мм/ч | 9,0 [5,5; 14,5] | 13,0 [7,0; 27,0] | 0,018 |
| СРБ исходно, мг/л | 50,9 [34,2; 76,2] | 32,2 [9,9; 69,1] | 0,009 |
| СРБ при выписке, мг/л | 3,2 [1,2; 6,3] | 2,6 [1,5; 5,6] | > 0,05 |
| Фибриноген исходно, г/л | 6,0 [5,3; 6,7] | 5,2 [4,3; 6,2] | 0,005 |
| Фибриноген при выписке, г/л | 3,6 [3,0; 3,9] | 3,6 [2,9; 4,5] | > 0,05 |
| Ферритин исходно, нг/мл | 623,6 [342,0; 1041,0] | 535,1 [298,0; 940,1] | > 0,05 |
| Ферритин при выписке, нг/мл | 692,8 [333,0; 1044,0] | 481,0 [315,6; 768,2] | > 0,05 |

Примечание. Значение p представлено в таблице между группой сравнения и контрольной группой.

ТАБЛИЦА 3
НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19, ПОЛУЧАВШИХ ОЛОКИЗУМАБ, И ПАЦИЕНТОВ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ

| Показатели | Группа сравнения ($n = 41$) | Контрольная группа ($n = 66$) | p |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------|
| D-димер исходно, мкг/мл | 0,4 [0,3; 1,1] | 0,6 [0,3; 1,0] | > 0,05 |
| D-димер при выписке, мкг/мл | 0,3 [0,3; 0,4] | 0,3 [0,3; 0,4] | > 0,05 |
| Т-тропонин, нг/л | 9,9 [4,8; 14,1] | 3,4 [0; 9,2] | 0,003 |
| Лактат, ммоль/л | 1,5 [1,0; 2,7] | 2,0 [1,1; 2,4] | > 0,05 |
| Прокальцитонин, нг/мл | 0,08 [0,05; 0,10] | 0,06 [0,04; 0,10] | > 0,05 |
| AcAT, Е/л | 39,8 [24,7; 73,5] | 31,9 [24,4; 61,6] | > 0,05 |
| АлАТ, Е/л | 38,7 [23,5; 63,2] | 35,4 [18,1; 83,5] | > 0,05 |
| ЛДГ, Е/л | 546,5 [452,0; 693,0] | 522,0 [418,5; 702,5] | > 0,05 |
| NT-proBNP, пг/мл | 130,6 [120,0; 197,3] | 119,0 [96,1; 186,0] | > 0,05 |
| СКФ, мл/мин | 87,0 [66,0; 98,0] | 94,0 [84,0; 104,0] | 0,4 |

Примечание. AcAT – аспартатаминотрансфераза; АлАТ – аланинаминотрансфераза.

нинаминонотрансферазы ($r = -0,35$; $p < 0,001$). Пациенты с более высоким уровнем СРБ дольше находились в стационаре ($r = 0,22$; $p = 0,02$).

Также обнаружено, что тем старше были пациенты, получающие олокизумаб, тем позже им вводился данный препарат ($r = 0,37$; $p = 0,02$).

Сильные корреляционные связи выявлены между уровнем СРБ и фибриногена при поступлении в стационар ($r = 0,72$; $p < 0,001$) и слабые между этими показателями при выписке ($r = 0,42$; $p < 0,001$). Умеренные положительные корреляционные связи в общей группе пациентов выявлены между исходными уровнями СОЭ и СРБ ($r = 0,59$; $p < 0,001$), фибриногена ($r = 0,57$; $p < 0,001$).

ТАБЛИЦА 2
DYNAMICS OF LABORATORY PARAMETERS IN COVID-19 PATIENTS TREATED WITH OLOKIZUMAB AND PATIENTS OF THE CONTROL GROUP

ТАБЛИЦА 3
BIOCHEMICAL PARAMETERS IN COVID-19 PATIENTS TREATED WITH OLOKIZUMAB AND PATIENTS OF THE CONTROL GROUP

| Показатели | Группа сравнения ($n = 41$) | Контрольная группа ($n = 66$) | p |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------|
| D-димер исходно, мкг/мл | 0,4 [0,3; 1,1] | 0,6 [0,3; 1,0] | > 0,05 |
| D-димер при выписке, мкг/мл | 0,3 [0,3; 0,4] | 0,3 [0,3; 0,4] | > 0,05 |
| Т-тропонин, нг/л | 9,9 [4,8; 14,1] | 3,4 [0; 9,2] | 0,003 |
| Лактат, ммоль/л | 1,5 [1,0; 2,7] | 2,0 [1,1; 2,4] | > 0,05 |
| Прокальцитонин, нг/мл | 0,08 [0,05; 0,10] | 0,06 [0,04; 0,10] | > 0,05 |
| AcAT, Е/л | 39,8 [24,7; 73,5] | 31,9 [24,4; 61,6] | > 0,05 |
| АлАТ, Е/л | 38,7 [23,5; 63,2] | 35,4 [18,1; 83,5] | > 0,05 |
| ЛДГ, Е/л | 546,5 [452,0; 693,0] | 522,0 [418,5; 702,5] | > 0,05 |
| NT-proBNP, пг/мл | 130,6 [120,0; 197,3] | 119,0 [96,1; 186,0] | > 0,05 |
| СКФ, мл/мин | 87,0 [66,0; 98,0] | 94,0 [84,0; 104,0] | 0,4 |

Слабые корреляционные связи между обнаружены между исходным уровнем СОЭ и фибриногеном при выписке ($r = 0,22; p = 0,03$). Статистически значимо уровень СОЭ при выписке связан с уровнем фибриногена ($r = 0,39; p < 0,001$), уровнем СРБ при выписке ($r = 0,23; p = 0,02$), исходной величиной D-димера ($r = 0,27; p = 0,005$). СРБ при поступлении коррелировал с исходным уровнем D-димера ($r = 0,27; p = 0,005$), уровнем ферритина ($r = 0,28; p = 0,007$), фибриногеном при выписке ($r = 0,28; p = 0,007$).

Уровень D-димера при выписке был выше у больных COVID-19 с исходно большим уровнем Т-тропонина ($r = 0,25; p = 0,01$). Статистически значимые связи обнаружены между уровнями лактата при поступлении и фибриногена при выписке ($r = 0,31; p = 0,01$).

Уровень прокальцитонина при поступлении коррелировал с исходным СОЭ ($r = 0,36; p < 0,001$), СРБ ($r = 0,43; p < 0,001$), фибриногена ($r = 0,41; p < 0,001$), D-димера ($r = 0,25; p = 0,01$), показателями ферритина при поступлении ($r = 0,36; p < 0,001$) и при выписке из стационара ($r = 0,33; p = 0,006$). Слабые корреляционные связи выявлены между показателями ЛДГ и СОЭ ($r = 0,42; p < 0,001$), фибриногеном ($r = 0,30; p = 0,002$), D-димером ($r = 0,36; p < 0,001$), ферритином ($r = 0,38; p < 0,001$) при поступлении в стационар.

На фоне терапии олокизумабом у всех пациентов наблюдалась положительная динамика общего самочувствия и исчезновение лихорадки.

Для изучения динамики основных лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 пневмонией на фоне введения олокизумаба были проанализированы уровни СОЭ, СРБ, фибриногена, D-димера при поступлении в стационар, через сутки после введения олокизумаба и при выписке.

На фоне лечения олокизумабом отмечается положительная динамика уровней СОЭ и фибриногена; показатели СРБ и D-димера через сутки после введения олокизумаба были несколько выше, чем перед введением

препарата. При выписке пациентов из стационара отмечается нормализация данных показателей, однако различия статистически не значимы (рис. 2).

Нежелательные явления на фоне введения олокизумаба не зарегистрированы. Все пациенты были выписаны с улучшением.

ОБСУЖДЕНИЕ

Высокая распространённость и многообразие клинических проявлений инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, связаны не только с прямым действием вируса на клетки-мишени, но и со способностью активировать иммунные реакции организма. Обнаружено, что при любых формах COVID-19 независимо от тяжести происходят изменения в подгруппах циркулирующих лейкоцитов. Эти изменения приводят к дисрегуляции выработки циркулирующих хемокинов и цитокинов в сторону повышенной выработки «провоспалительных» медиаторов [2, 5, 6]. Способность вируса ускользать от противовирусных агентов объясняет персистенцию инфекции. Однако возникновение осложнений – как ранних, так и поздних, неблагоприятных исходов заболевания связано с гипериммунными реакциями, проявляющимися чрезмерной выработкой «провоспалительных» цитокинов [4, 5].

ИЛ-6 является одним из плейотропных «провоспалительных» цитокинов, увеличение выработки которого связано с активностью воспаления при COVID-19 [1, 5]. Многообразие эффектов ИЛ-6 заключается в активации процессов как приобретённого, так и врождённого иммунитета. Поэтому применение таргетной терапии интерлейкина 6 является перспективным [9].

Препарат олокизумаб представляет собой антитела, непосредственно блокирующие данный цитокин. Олокизумаб активно используется в терапии ревматологических заболеваний, а с 2020 г. включён в перечень пре-

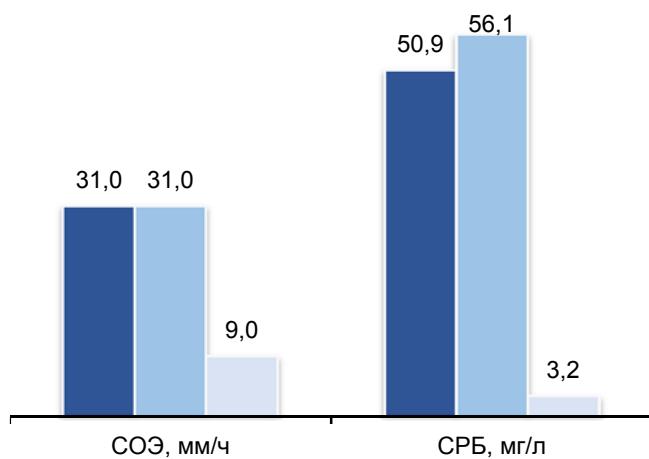


РИС. 2.

Динамика показателей СОЭ, СРБ, фибриногена и D-димера исходно, через сутки введения олокизумаба и при выписке из стационара

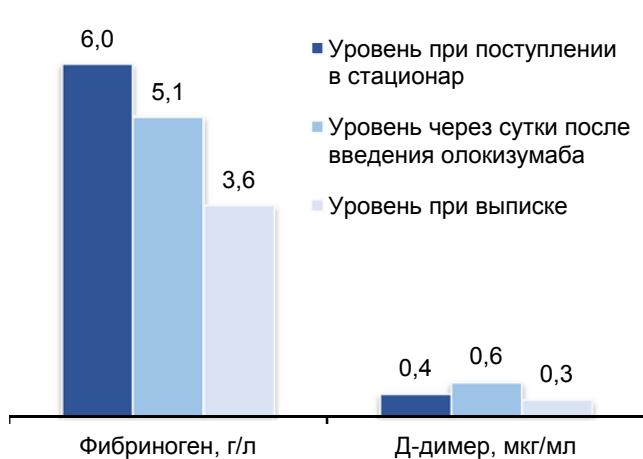


FIG. 2.

Dynamics of ESR, CRP, fibrinogen and D-dimer at baseline, in a day after olokizumab administration and at discharge

паратов для лечения COVID-19. Применение предупреждающей противовоспалительной терапии с блокадой интерлейкина 6 при коронавирусной инфекции имеет как краткосрочную, связанную с профилактикой и лечением непосредственного заболевания и его осложнений, так и долгосрочную перспективу. Применение данного препарата фармакоэкономически эффективно [9, 10].

Опыт применения препарата олокизумаб в ревматологии обозначил ряд побочных эффектов терапии, среди которых значимую роль играют увеличение риска инфекционных заболеваний, лейко- и нейтропения, ухудшение функции печени, аллергические реакции. С этим, вероятно, связано мнение ряда авторов о нецелесообразности рутинной терапии ингибиторами ИЛ-6 при COVID-19 [12]. Существенным ограничением использования препарата является отсутствие убедительных данных о его эффективности и безопасности при различных формах коронавирусной инфекции.

С целью изучения в реальной клинической практике эффективности и безопасности применения ингибитора ИЛ-6 (олокизумаба) у пациентов с подтверждённой COVID-19 пневмонией, было проанализирована 41 медицинская карта стационарных пациентов в возрасте более 18 лет с подтверждённой инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 (COVID-19), осложнённой интерстициальной пневмонией. Всем больным в составе комплексной терапии был назначен препарат олокизумаб 160 мг/мл – 0,4 мл подкожно. Контрольная группа (66 пациентов с COVID-19 пневмонией) была сопоставима с группой исследования по полу, возрасту пациентов, продолжительности госпитализации и объёму поражения лёгочной ткани по данным МСКТ. Нежелательные явления на фоне введения олокизумаба в ходе исследования не зарегистрированы, все пациенты выписаны с улучшением.

Уменьшение активности иммунного ответа организма при применении олокизумаба проявляется в ряде клинических эффектов, среди которых уменьшение частоты дыхательной недостаточности, большая частота положительных исходов лечения [11]. В нашем исследовании дыхательная недостаточность 2-й и 3-й степеней по данным пульсоксиметрии встречалась чаще в группе, получавшей олокизумаб, чем в группе контроля. У пациентов с COVID-19 пневмонией общей группы в зависимости от степени дыхательной недостаточности отмечался рост уровней воспалительных показателей, D-димера и большая продолжительность госпитализации. При анализе уровней основных воспалительных показателей выявлено повышение исходного уровня С-реактивного белка и фибриногена у пациентов группы олокизумаба.

Ряд авторов на фоне терапии олокизумабом отмечают снижение лейкоцитоза, уровней СОЭ и СРБ [10–12]. В нашем исследовании уровень СОЭ при выписке у пациентов, получавших олокизумаб, был статистически значимо ниже, чем у пациентов группы сравнения, хотя исходный уровень данного показателя не отличался. Уровень ферритина у пациентов обеих групп был одинаковым, однако на фоне терапии олокизумабом отмечается рост данного показателя.

Отсутствие отличий между группами по уровню трансамина и ЛДГ показывает отсутствие негативного влияния препарата на функцию печени.

Повышение Т-тромопонина и снижение скорости клубочковой фильтрации у пациентов группы олокизумаба, вероятно, связано с негативным влиянием COVID-19 на функции сердечно-сосудистой и выделительной систем и указывает на выраженную провоспалительную активацию у пациентов данной группы. Гипериммунную реакцию у пациентов группы исследования подтверждают связи между основными показателями воспаления, выявленные при корреляционном анализе.

На фоне терапии олокизумабом отмечается существенное снижение уровней СОЭ и фибриногена через сутки после введения препарата и при выписке. Медиана уровней СРБ и D-димера через сутки после введения олокизумаба была несколько выше, чем перед введением; медиана СОЭ осталась без изменений, что, вероятно, свидетельствует о выраженной активации воспалительного процесса.

Отсутствие нежелательных явлений на фоне терапии, положительные клинические эффекты, одинаковая частота госпитализации у пациентов в группе терапии олокизумабом с более выраженными нарушениями функции газообмена и, соответственно, с более выраженными воспалительными и коагулационными нарушениями доказывают положительное влияние препарата на исходы лечения. Ограничением данного исследования является его небольшая продолжительность. На фоне лечения олокизумабом у пациентов с COVID-19 повышается уровень ферритина, а также выявлены несущественные различия по ряду показателей между группами исследования, что требует проведения дальнейших проспективных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение олокизумаба при новой коронавирусной инфекции COVID-19, осложнённой пневмонией, продемонстрировало положительное влияние на клинические (улучшение общего самочувствия, нормализации температуры тела) и лабораторные показатели (уровни СОЭ, СРБ, фибриногена, D-димера) у более тяжёлых пациентов с выраженным воспалительными изменениями и нарушением функции дыхания, что показывает существенное положительное влияние ингибитора ИЛ-6 на подавление системной воспалительной реакции. Раннее введение олокизумаба в составе комплексной терапии коронавирусной инфекции способствует сокращению сроков госпитализации. Повышение уровня ферритина у пациентов с COVID-19 пневмонией, получивших в составе комплексной терапии препарат олокизумаб, а также несущественные различия, выявленные по ряду показателей между группами исследования, требуют проведения дальнейших про-

спективных исследований с изучением отдалённых исходов терапии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. García LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 2020; 11: 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441
2. Kaplon H, Reichert JM. Antibodies to watch in 2021. *MAbs.* 2021; 13(1): 1860476. doi: 10.1080/19420862.2020.1860476
3. Гриневич В.Б., Губонина И.В., Доцицин В.Л., Котовская Ю.В., Кравчук Ю.А., Педь В.И., и др. Особенности ведения коморбидных пациентов в период пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Национальный консенсус 2020. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020; 19(4): 2630. doi: 10.15829/1728-8800-2020-2630
4. Manjili RH, Zarei M, Habibi M, Manjili MH. COVID-19 as an acute inflammatory disease. *J Immunol.* 2020; 205(1): 12-19. doi: 10.4049/jimmunol.2000413
5. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings M, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun.* 2020; 11(1): 4704. doi: 10.1038/s41467-020-18450-4
6. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggen MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy.* 2020; 75(7): 1564–1581. doi: 10.1111/all.14364
7. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* 2020; 368(6490): 473-474. doi: 10.1126/science.abb8925
8. Aziz M, Fatima R, Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *J Med Virol.* 2020; 92(11): 2283-2285. doi: 10.1002/jmv.25948
9. Насонов Е.Л. Иммунопатология и иммунофармакотерапия коронавирусной болезни 2019 (COVID-19): фокус на интерлейкин 6. *Научно-практическая ревматология.* 2020; 58(3): 245-261. doi: 10.14412/1995-4484-2020-245-261
10. Фролов М.Ю., Саласюк А.С., Рогов В.А. Оценка экономического эффекта применения биологической терапии у пациентов с тяжелым течением COVID-19 и развитием цитокинового шторма. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13(4): 377-387. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.076
11. Ганюкова Н.Г., Ликстонов М.И., Косинова М.В., Кушнир И.Н., Мозес В.Г., Мозес К.Б. Эффективность таргетной терапии ингибитором ил-6 (олокизумаб) в купировании гипервоспаления при среднетяжелой пневмонии, обусловленной вирусом SARS-CoV-2. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2020; 5(4): 8-13. doi: 10.23946/2500-0764-2020-5-4-8-13
12. Антонов В.Н., Игнатова Г.Л., Прибыткова О.В., Слепцова С.С., Стребкова Е.А., Худякова Е.А., и др. Опыт применения олокизумаба у больных COVID-19. *Терапевтический архив.* 2020; 92(12): 148-154. doi: 10.26442/00403660.2020.12.200522
13. Buryachkovskaya L, Lomakin N, Melkumyants A, Docenko J, Serebruany V. Impact of olokizumab on platelets, leukocytes and erythrocytes during mild COVID-19. *Rev Cardiovasc Med.* 2021; 22(3): 549-551. doi: 10.31083/j.rcm2203065
14. Цветов В.М., Матвеев А.В., Сычёв Д.А. Целесообразность рутинного применения препарата олокизумаб при COVID-19. *Качественная клиническая практика.* 2020; (4S): 68-70. doi: 10.37489/2588-0519-2020-S4-68-70

REFERENCES

1. García LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 2020; 11: 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441
2. Kaplon H, Reichert JM. Antibodies to watch in 2021. *MAbs.* 2021; 13(1): 1860476. doi: 10.1080/19420862.2020.1860476
3. Grinevich VB, Gubonina IV, Doshchitsin VL, Kotovskaya YuV, Kravchuk YuA, Ped VI, et al. Management of patients with comorbidity during novel coronavirus (COVID-19) pandemic. National Consensus Statement 2020. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020; 19(4): 2630. (In Russ.). doi: 10.15829/1728-8800-2020-2630
4. Manjili RH, Zarei M, Habibi M, Manjili MH. COVID-19 as an acute inflammatory disease. *J Immunol.* 2020; 205(1): 12-19. doi: 10.4049/jimmunol.2000413
5. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings M, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun.* 2020; 11(1): 4704. doi: 10.1038/s41467-020-18450-4
6. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggen MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy.* 2020; 75(7): 1564–1581. doi: 10.1111/all.14364
7. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* 2020; 368(6490): 473-474. doi: 10.1126/science.abb8925
8. Aziz M, Fatima R, Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *J Med Virol.* 2020; 92(11): 2283-2285. doi: 10.1002/jmv.25948
9. Nasonov EL. Immunopathology and immunopharmacotherapy of coronavirus disease 2019 (COVID-19): Focus on interleukin 6. *Rheumatology Science and Practice.* 2020; 58(3): 245-261. (In Russ.). doi: 10.14412/1995-4484-2020-245-261
10. Frolov MYu, Salasyuk AS, Rogov VA. Evaluation of the economic effect of biological therapy in patients with severe COVID-19 and cytokine storm. *Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2020; 13(4): 377-387. (In Russ.). doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.076
11. Ganyukova NG, Likstyanov MI, Kosinova MV, Kushnir IN, Moses VG, Moses KB. Efficiency of IL-6 inhibitor (olokizumab) in suppressing inflammation in patients with moderate COVID-19 pneumonia. *Fundamental and Clinical Medicine.* 2020; 5(4): 8-13. (In Russ.). doi: 10.23946/2500-0764-2020-5-4-8-13
12. Antonov VN, Ignatova GL, Pribytkova OV, Sleptsova SS, Strebkova EA, Khudyakova EA, et al. Experience of olokizumab use in COVID-19 patients. *Terapevticheskii arkhiv.* 2020; 92(12): 148-154. (In Russ.). doi: 10.26442/00403660.2020.12.200522

13. Buryachkovskaya L, Lomakin N, Melkumyants A, Docenko J, Serebruany V. Impact of olizumab on platelets, leukocytes and erythrocytes during mild COVID-19. *Rev Cardiovasc Med.* 2021; 22(3): 549-551. doi: 10.31083/j.rcm2203065
14. Tsvetov VM, Matveev AV, Sychev DA. Rationality of routine clinical use of olizumab in COVID-19. *Good Clinical Practice.* 2020; (4S): 68-70. (In Russ.). doi: 10.37489/2588-0519-2020-S4-68-70

Сведения об авторах

Гома Татьяна Владимировна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tanyagoma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3441-3498>

Калагин Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: akalagin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2708-3972>

Рыжкова Ольга Владимировна – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ovrizkova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2971-2119>

Соловьева Наталья Сергеевна – медицинский советник, АО «Р-Фарм», e-mail: ns.soloveva@rpharm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0619-5710>

Information about the authors

Tatyana V. Goma – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Intermediate-Level Therapy, Irkutsk State Medical University, e-mail: tanyagoma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3441-3498>

Alexey N. Kalyagin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: akalagin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2708-3972>

Olga V. Ryzhkova – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Intermediate-Level Therapy, Irkutsk State Medical University, e-mail: ovrizkova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2971-2119>

Natalia S. Solovieva – Medical Adviser, R-Pharm JSC, e-mail: ns.soloveva@rpharm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0619-5710>

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ОЦЕНКА ИММУННОГО ОТВЕТА SARS-COV-2-СПЕЦИФИЧНЫХ Т-КЛЕТОК МЕТОДОМ ELISPOT

РЕЗЮМЕ

Герасимова В.В.¹,
Колесник С.В.²,
Кудлай Д.А.^{3,4},
Гольдерова А.С.¹

¹ ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» (677007, г. Якутск, ул. Кулаковского, 42, Россия)

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» (117198, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4, Россия)

³ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119435, г. Москва, Большая Пироговская ул., 2, стр. 4, Россия)

⁴ ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (115522, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кудлай Дмитрий Анатольевич,
e-mail: d624254@gmail.com

Пандемия COVID-19 стимулировала интерес к развитию биотехнологий, а также к поиску новых решений в сфере диагностики иммунных процессов. Для оценки вирус-специфических иммунных реакций большая роль отводилась ответу иммуноглобулинов классов A, M, G. Позднее появилось понимание, что для комплексной оценки процессов адаптивного иммунитета целесообразно исследование его клеточной составляющей. Одним из наиболее доступных методов оценки Т-клеточного иммунитета, зарекомендовавшим себя в диагностике других инфекционных заболеваний, например, латентной туберкулёзной инфекции, является *IGRA ELISPOT*.

Цель работ. Определение SARS-CoV-2-специфичного иммунного ответа Т-лимфоцитов *in vitro* в периферической крови добровольцев различных групп методом *IGRA ELISPOT*. Мы оценили возможность применения метода для оценки Т-клеточного иммунного ответа на инфекцию и вакцинацию. Кроме того, мы определяли продолжительность периода сохранения активности SARS-CoV-2-специфичного иммунного ответа Т-лимфоцитов, индуцированного вакцинацией.

Материалы и методы. Исследования проводили на образцах венозной крови добровольцев трёх групп: 1) госпитализированные в стационар с диагнозом COVID-19; 2) перенёсшие COVID-19; 3) вакцинированные против COVID-19. Т-клеточный иммунный ответ оценивали с помощью тест-системы «ТиграТест® SARS-CoV-2», принцип работы которой заключается в определении *in vitro* количества Т-клеток, секретирующих гамма-интерферон в ответ на стимуляцию пептидами SARS-CoV-2 в двух панелях антигенов: 1) пептиды спайк-белка (S); 2) пептиды N-, M-, Orf3a-, Orf7a-белков.

Заключение. Метод *IGRA ELISPOT* является специфичным и чувствительным инструментом в оценке Т-клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2. Он позволяет оценить SARS-CoV-2-специфичные Т-клеточные реакции, индуцированные как естественной встречей с возбудителем, так и вакцинацией. Метод целесообразно использовать в рутинной практике для комплексной оценки иммунитета к SARS-CoV-2.

Ключевые слова: *ELISPOT, SARS-CoV-2, COVID-19, Т-лимфоциты, иммунный ответ, «Тигра Тест», клеточный иммунитет*

Статья поступила: 30.08.2022

Статья принята: 30.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Герасимова В.В., Колесник С.В., Кудлай Д.А., Гольдерова А.С. Оценка иммунного ответа SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток методом ELISPOT. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 96-102. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.10

ELISPOT ASSAY OF THE SARS-COV-2 SPECIFIC T CELLS IMMUNE RESPONSE

ABSTRACT

Gerasimova V.V.¹,
Kolesnik S.V.²,
Kudlay D.A.^{3,4},
Golderova A.S.¹

¹ North-Eastern Federal University
named after M.K. Ammosov
(Kulakovskogo str. 42, Yakutsk 677007,
Russian Federation)

² National Medical Research Center
for Obstetrics, Gynecology and Perinatology
named after Academician V.I. Kulakov
(Akademika Oparina str. 4, Moscow 117198,
Russian Federation)

³ The First Sechenov Moscow State
Medical University (Sechenov University)
(Trubetskaya str. 8, building 2,
Moscow 119991, Russian Federation)

⁴ National Research Center – Institute
of Immunology, Federal Medical-Biological
Agency of Russia (Kashirskoye highway 24,
Moscow 115522, Russian Federation)

The COVID-19 pandemic has stimulated interest in the development of biotechnology, as well as in the search for new solutions in the diagnostics of immune processes. The response of immunoglobulins A, M and G had a significant role in the assessment of virus-specific immune responses. Later, it was understood that for a comprehensive assessment of adaptive immunity processes, it is reasonable to study its cellular component. One of the most affordable methods for assessing T cell immunity, which has proven itself in the diagnosis of other infectious diseases, such as latent tuberculosis infection, is IGRA ELISPOT.

The aim of the study. To determine SARS-CoV-2 specific immune response of T lymphocytes *in vitro* in the peripheral blood of volunteers from various groups using IGRA ELISPOT method. We evaluated the applicability of the method to assess T cell immune response to infection and vaccination. In addition, we determined the duration of the maintenance period of the SARS-CoV-2 specific T cells immune response induced by vaccination.

Materials and methods. The study was carried out on venous blood samples of volunteers from three groups: 1) hospital patients with COVID-19; 2) COVID-19 convalescents; 3) vaccinated against COVID-19. The T cell immune response was assessed using the TigratTest® SARS-CoV-2 test system, which determines *in vitro* the number of T cells secreting interferon-gamma in response to stimulation with SARS-CoV-2 peptides in two antigens panels: 1) peptides of the spike protein (S); 2) peptides of N, M, Orf3a and Orf7a proteins.

Conclusion. The IGRA ELISPOT assay is a specific and sensitive tool in the assessment of T cell immunity to the SARS-CoV-2 virus. The method makes it possible to assess SARS-CoV-2 specific T cell responses induced both by natural encounter with the pathogen and by vaccination. It is advisable to use the method in routine practice for comprehensive assessment of immunity to SARS-CoV-2.

Corresponding author:
Dmitry A. Kudlay,
e-mail: d624254@gmail.com

Keywords: ELISPOT, SARS-CoV-2, COVID-19, T lymphocytes, T cells, immune response, TigratTest®, cellular immunity, vaccination

Received: 30.08.2022
Accepted: 30.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Gerasimova V.V., Kolesnik S.V., Kudlay D.A., Golderova A.S. ELISPOT assay of the SARS-CoV-2 specific T cells immune response. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 96-102. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.10

ВВЕДЕНИЕ

Приобретённый, или адаптивный, иммунитет представлен клеточным и гуморальным компонентами. Суть гуморального иммунитета заключается в синтезе В-лимфоцитами специфических антител [1, 2]. Т-клетки играют ключевую роль в реализации клеточного звена адаптивного иммунитета [3–5]. В начале пандемии COVID-19 большое внимание уделялось диагностике гуморального иммунитета. Одним из вариантов диагностики гуморального иммунитета является иммуноферментный анализ (ИФА) – лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных соединений, основанный на специфической реакции антиген – антитело [6]. В рамках ИФА-диагностики COVID-19 в основном определялся уровень антител (IgG, IgM, IgA). Позже несколько исследований показали, что Т-клетки, специфичные для SARS-CoV-2, могут быть более чувствительным маркером предыдущей инфекции COVID-19, а одно только серологическое исследование гуморального адаптивного ответа может недооценивать долю населения, обладающего иммунной защитой [7, 8]. В связи с этим широкое распространение получил лабораторный метод ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot), используемый для изучения Т-клеточного иммунного ответа человека и животных. Исследования показали, что наиболее иммуногенными являются: шиповидный (S), нуклеокапсидный (N), мембранный (M) белки, а также структурные белки ORF-3a, ORF-7a [9]. Эти рекомбинантные пептиды используются для стимуляции мононуклеарных клеток периферической крови для идентификации эффекторных Т-клеток. ELISPOT позволяет визуализировать секреируемый эффекторной клеткой интерферон-гамма в ответ на её стимуляцию синтетическими пептидами SARS-CoV-2. Каждая такая клетка образует пятно (спот) на дне планшета. По количеству спотов оценивается напряжённость Т-клеточного ответа. Таким образом, количество Т-клеток, специфичных к SARS-CoV-2, позволяет оценить уровень иммунной защиты на индивидуальном уровне, в том числе у серонегативных лиц.

Целью настоящего исследования является оценка особенностей Т-клеточного ответа на антигены SARS-CoV-2 у больных COVID-19, переболевших и вакцинированных лиц [10, 11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование было проведено с ноября по декабрь 2021 г. в г. Якутске, на базе научно-исследовательской лаборатории «Клеточные технологии и регенеративная медицина» Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова».

Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) выделяли из образцов цельной крови пациентов и промывали для удаления любых источников фона-вого сигнала, мешающего анализу. Затем МКПК подсчи-

тывали, для того чтобы внести в анализируемый образец стандартное количество клеток. Подсчёт служит гарантией того, что для анализа образцов крови лиц с низким содержанием Т-клеток вследствие иммунодефицита или иммуносупрессии в лунки планшета будет внесено стандартное количество клеток, что исключит наличие ложноотрицательного результата. Для каждого образца требуются 4 лунки: 1) панель антигенов 1 (ПАГ 1) – пептиды S-белка (spike), содержит 25 % диметилсульфоксида (ДМСО); 2) панель антигенов 2 (ПАГ 2) – пептиды белков N, M, ORF3a и ORF7a, содержит 25 % ДМСО; 3) положительный контроль (К+) – моноклональное антитело ОКТ-3, сре-да AIM-V + AlbuMAX, антимикробные средства (100-кратный концентрированный раствор) для подтверждения функциональности МКПК; 4) негативный контроль (К-) – AIM-V® + AlbuMAX для выявления неспецифической активации клеток. МКПК инкубируют с антигенами SARS-CoV-2 для стимуляции специфичных Т-клеток. Цитокин интерферон-гамма (IFNγ) связывается и удерживается рядом с секретирующей его Т-клеткой специфическими анти-IFNγ антителами, находящимися на поверхности мембраны, выстилающей лунку. После активации все клетки удаляются промыванием, и для детекции цитокина прибавляются другие анти-IFNγ антитела, конъюгированные щелочной фосфатазой и узнающие другой эпитоп молекулы IFNγ. После инкубации не связавшийся конъюгат удаляется промыванием. В каждую лунку вносится раствор хромогенного субстрата, который преобразуется щелочной фосфатазой в окрашенное пятно нерастворимого преципитата в месте реакции. Каждое пятно является отпечатком одной Т-клетки, секретирующей IFNγ, а количество полученных пятен характеризует содержание специфичных для антигенов патогена CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в периферической крови. Результатом анализа является подсчёт количества пятен в лунках с контролями и антигенами.

Образцы крови забирали в пробирки Vacutainer с лиг-гепарином. Для выделения МКПК в центрифужные пробирки (15 мл) помещали 3 мл раствора фиколл и выдерживали их при температуре от 15 до 25 °C не менее 10 мин. Кровь (4 мл) для выделения МКПК перед центрифугированием разводили в 2 раза стерильным фосфатно-солевым буферным (ФСБ) раствором (4 мл). Далее 8 мл разведённой крови осторожно наслаживали на 3 мл раствора фиколла. Центрифугировали при 1000 г при температуре от 15 до 25 °C в течение 20–25 мин. Образовавшееся мутное кольцо МКПК переносили в стерильные пробирки и доводили средой RPMI-1640 до 10 мл, затем центрифугировали при 600 г в течение 7–10 мин (1-я отмывка) и при 400 г в течение 7–10 мин (2-я и 3-я отмывки). Сливали супернатант и ре-суспендировали осадок в 0,5 мл среды AIM-V® + AlbuMAX® – исходная суспензия МКПК. Для анализа одного образца необходимо в каждую лунку внести от $3,0 \times 10^5$ до $4,0 \times 10^5$ МПКП (оптимально – $3,5 \times 10^5$ на 100 мкл). Чтобы добиться оптимальной концентрации МКПК в лунках использовали формулу пересчёта с инструкции. Подготовку планшетов, порядок промывки стрипов, внесение образцов в планшет и инкубацию МКПК с антигенами, внесение рабочего раствора конъюгата и проявление пятен проводили по инструкции ТиграТест® SARS-CoV-2.

В каждую из четырёх лунок, меняя наконечники, вносили по 100 мкл рабочей суспензии МКПК. Планшет помещали в инкубатор с влажной камерой на 16–20 часов. Условия инкубации: температура 37 ± 1 °C; 5 ± 0,5 % CO_2 ; влажность 95 %.

При оценке результатов в позитивном контроле количество спотов должно быть более 100. При оценке результатов в негативном контроле допускается наличие до 14 спотов. Для определения количества пятен в лунках с антигенами необходимо из числа спотов в ПАГ 1 и ПАГ 2 вычесть число спотов в К–. Результат теста рассматривали как отрицательный, если в результате анализа количество спотов как в лунке с ПАГ 1, так и в лунке с ПАГ 2, за вычетом количества пятен в отрицательном контроле, не превышает 10. Отрицательный результат показывает, что образец, вероятно, не содержит Т-клеток, специфически сенсибилизованных в отношении определённых антигенов коронавируса SARS-CoV-2. Результат теста следует рассматривать как положительный, если в результате анализа количество пятен как в лунке с ПАГ 1, так и в лунке с ПАГ 2, за вычетом количества пятен в К–, превышает 12. Положительный результат может потенциально свидетельствовать о сформировавшемся Т-клеточном иммунитете к вирусу SARS-CoV-2 в результате перенесённого заболевания COVID-19 (в том числе в бессимптомной форме) и/или вакцинации [12].

Статистический анализ проведён с использованием программы IBM SPSS Statistics 23 (IBM Corp., США). Проверку на нормальность распределения изучаемых количественных показателей проводили по тесту Колмогорова – Смирнова. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q1$ – $Q3$). При сравнении количественных показателей групп статистическую значимость различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента при нормальном распределении и с помощью критерия Манна – Уитни при ненормальном. Для сравнения частот качественных признаков в несвязанных группах применялся критерий χ^2 . Результаты считались статистически значимыми при величинах достигнутого уровня значимости $p < 0,05$.

Исследования соответствовали этическим стандартам комитетов по биомедицинской этике, разработанной в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Соблюдены принципы добровольности, прав и свобод личности, гарантированных статьями 21 и 22 Конституции РФ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Всего нами обследовано 67 человек, средний возраст которых составил $57,75 \pm 17,12$ года. Соотношение обследованных лиц по полу было следующим: 19 мужчин (средний возраст – $53,68 \pm 15,57$ года) и 48 женщин (средний возраст – $59,35 \pm 17,58$ года). 49 из 67 человек (средний возраст – $55,29 \pm 16,39$ года) были добровольцами, сдавали кровь в условиях поликлиники. Другие

18 человек (средний возраст – $64,04 \pm 17,71$ года) были пациентами стационарных отделений, специализированных по COVID-19. Выявлена тенденция к повышению возраста ($p = 0,062$) у госпитализированных, в сравнении с амбулаторно обследованными лицами. Из всех 67 обследованных лиц к моменту взятия венозной крови переболевшими COVID-19 оказалось 44 человека, что составило 65,7 %. Переболевшими считали лиц, которым был поставлен клинический диагноз COVID-19.

Выявлено статистически значимое различие в распределении ранжированных данных количества спотов ПАГ 2 (пептиды белков N, M, ORF3a и ORF7a) по группам в зависимости от клинического диагноза COVID-19 обследованных больных ($\chi^2 = 12,11$; $p = 0,033$), т. е. в группе переболевших COVID-19 ($n = 44$) медиана количества спотов положительного результата (25,50 (6,00; 40,00)) статистически значимо ($p = 0,009$) превышает значения непереболевших лиц ($n = 23$) (8,00 (1,00; 16,00)) (рис. 1).

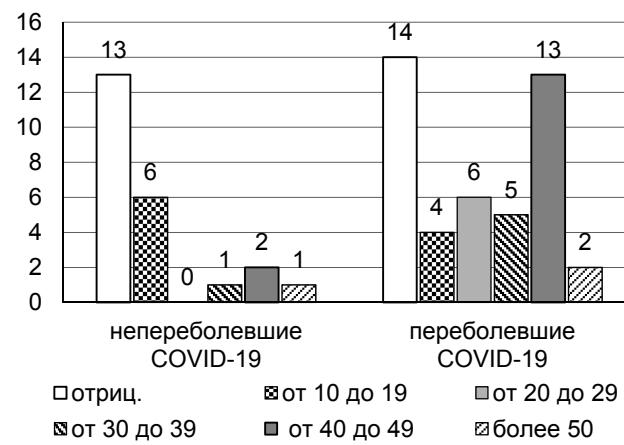


РИС. 1.

Распределение обследованных лиц по результатам теста в ПАГ 2

FIG. 1.

Distribution of the examined persons according to the results of Antigen Panel 2 test

Следует отметить, что было выполнено ранжирование количества спотов (с учётом вычета спотов в негативном контроле) в лунках на 5 групп: 0-я – отрицательный результат; 1-я – от 10 до 19 спотов; 2-я – от 20 до 29 спотов; 3-я – от 30 до 39 спотов; 4-я – от 40 до 49 спотов; 5-я – более 50 спотов в лунках.

Несмотря на то, что в обеих сравниваемых группах количество лиц с отрицательным результатом Т-клеточного ответа в ПАГ 2 почти одинаково, у переболевших COVID-19 отмечаются выраженные различия по положительным данным числа спотов. Так, максимальная доля переболевших с положительным Т-клеточным ответом в ПАГ 2 (43,3 %) относится к 4-й группе (от 40–49 спотов).

Необходимо отметить, что у 43,7 % лиц ($n = 23$), которые в анамнезе отрицали факт болезни COVID-19, были выявлен положительный Т-клеточный ответ в ПАГ 2 (пептиды белков N, M, ORF3a и ORF7a). При этом у 60 %

лиц с положительным результатом количество спотов наименьшее – 10–19. Таким образом, можно говорить о том, что у лиц с клинически подтверждённым диагнозом COVID-19 статистически значимо чаще встречается положительный Т-клеточный ответ в панели антигенов 2 и статистически значимо большее количество спотов, чем у непереболевших COVID-19.

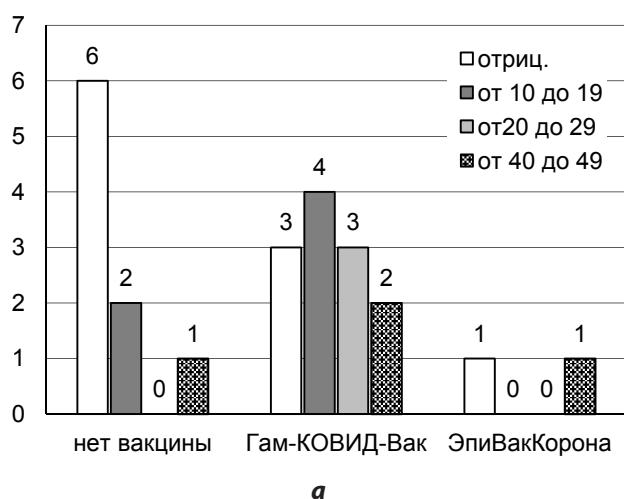
Анализ данных Т-клеточного ответа в ПАГ 1 (пептиды Spike-белка) показал, что у переболевших лиц имеется тенденция ($p = 0,081$) к повышению количества спотов (22,50 (4,25; 39,50)) в сравнении с непереболевшими (14,00 (4,00; 23,00)).

Статистически значимое различие в ПАГ 1 выявлено при сравнении групп в зависимости от факта проведённой вакцинации против COVID-19 и независимо от вида вакцины (рис. 2а). У вакцинированных лиц ($n = 37$) медиана спотов, положительных по ПАГ 1 (23,00 (14,00; 44,00)), статистически значимо ($p = 0,014$) выше, чем у невакцинированных ($n = 30$) (12,00 (3,00; 27,25)). Проведён ана-

лиз оценки Т-клеточного ответа на SARS-CoV-2 в зависимости от вида вакцины. Из 37 вакцинированных лиц вакцину «Гам-КОВИД-Вак» получили 28 (76,7 %), «ЭпиВакКорона» – 5 (13,5 %), «КовиВак» – 4 (10,8 %). При этом процент дважды вакцинированных составил 67,6 % ($n = 25$), трижды вакцинированных – 8,1 % ($n = 3$).

Среди 23 лиц, отрицающих факт болезни COVID-19 в анамнезе, т. е. отнесённых к группе непереболевших, существует тенденция ($\chi^2 = 3,24; p = 0,072$) зависимости от наличия вакцины (Гам-КОВИД-Вак, ЭпиВакКорона, КовиВак) и положительного результата в ПАГ 1 (рис. 2). У вакцинированных вырабатывается преимущественно Т-клеточный иммунитет к ПАГ 1, нежели к ПАГ 2.

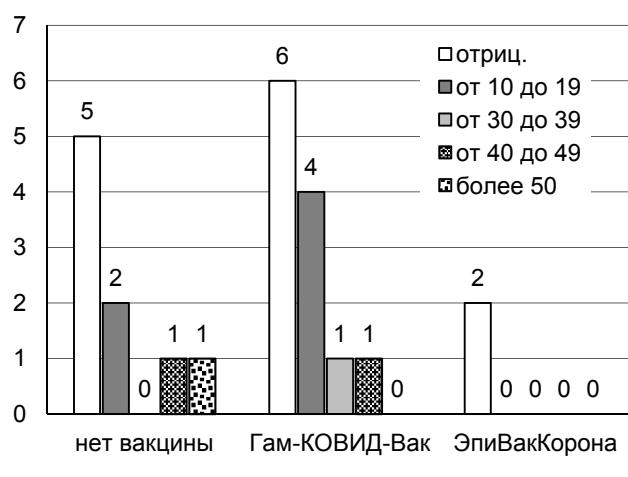
В группе непереболевших COVID-19, вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак», наблюдался чёткий Т-клеточный иммунный ответ в ПАГ 1 и ПАГ 2 (20–50 спотов) (рис. 3), тогда как у вакцинированных препаратом «ЭпиВакКорона» в ПАГ 2 отсутствовал Т-клеточный иммунный ответ, а в ПАГ 1 (более 40 спотов) иммунный ответ отмечен



а

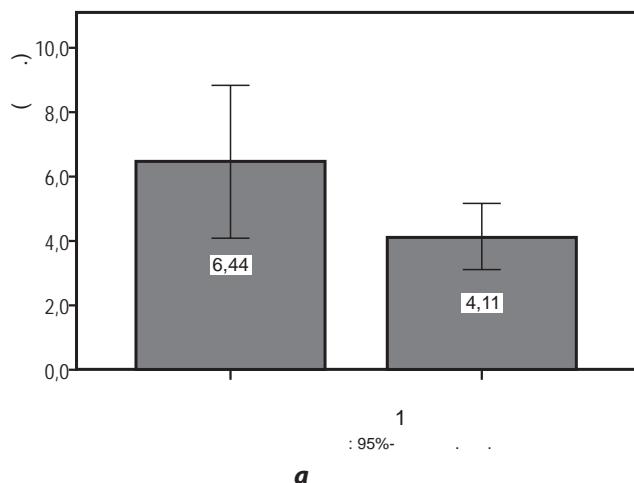
РИС. 2.

Распределение по ранжированным данным спотов в ПАГ 1 (а) и ПАГ 2 (б) в зависимости от вида вакцины



б

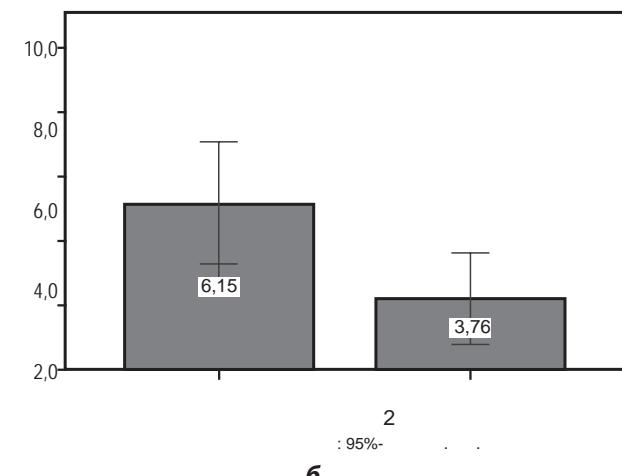
FIG. 2. Distribution according to the ranked data of spots in Antigen Panel 1 (а) and Antigen Panel 2 (б) depending on the vaccine type



а

РИС. 3.

Средние значения сроков с момента последней вакцинации по результатам Т-клеточного ответа в ПАГ 1 (а) и ПАГ 2 (б)



б

FIG. 3.

Average values of time since last vaccination according to the results of T cell response in Antigen Panel 1 (а) and Antigen Panel 2 (б)

лишь у незначительного количества пациентов (10 %). Следует отметить, что все вакцинированные ($n = 4$) препаратом «Ковивак» оказались в группе переболевших COVID-19. Представленные данные указывают на более эффективное формирование Т-клеточного ответа на SARS-CoV-2 при вакцинации «Гам-КОВИД-Вак».

Медиана срока с момента получения последней вакцинации для всех вакцинированных лиц ($n = 37$) составила 5,00 (1,87; 6,87) месяцев (рис. 3). Сравнительный анализ по результатам формирования Т-клеточного ответа в ПАГ 1 и ПАГ 2 установил статистически значимые различия в зависимости от срока вакцинирования.

Медиана отрицательного результата в ПАГ 1 составила 6,7 (6,12; 7,43) месяцев, что статистически значимо больше ($p = 0,039$), чем у положительного результата (4,00 (1,12; 6,00) месяца). Аналогично, медиана отрицательного результата в ПАГ 2 составила 6,5 (5,00; 7,50) месяцев, положительного – 4,00 (1,00; 6,00) месяца ($p = 0,014$). Таким образом, косвенно можем утверждать, что срок более 6 месяцев, видимо, является критичным по отношению к снижению Т-клеточного ответа к SARS-CoV-2.

Анализ данных компьютерной томографии (КТ) у госпитализированных лиц ($n = 26$) выявил следующее распределение: 25%-е поражение лёгких имели 16 пациентов; 25–50%-е поражение – 9 пациентов; 50–75%-е – 1 пациент (рис. 4).

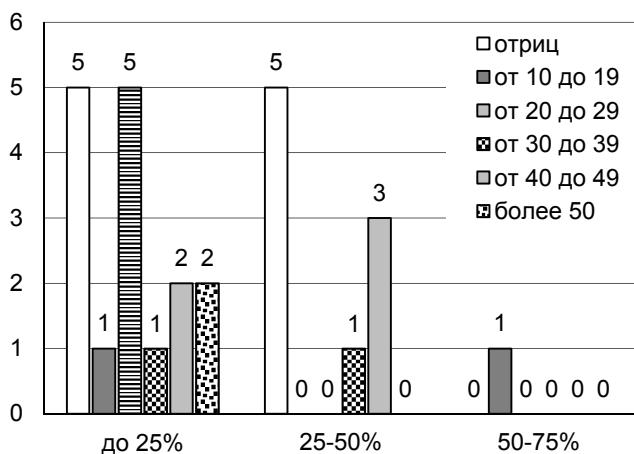


РИС. 4.

Распределение ранжированных спотов в ПАГ 1 и ПАГ 2 в зависимости от площади поражения лёгких (КТ-исследование)

FIG. 4.

Distribution of ranked spots in Antigen Panel 1 and Antigen Panel 2 depending on the volume of tissue lung damage (according to CT scan)

Выявлена статистически значимая ($\chi^2 = 19,23$; $p = 0,037$) зависимость ранжированных данных в ПАГ 1 от результатов компьютерной томографии (площади поражения лёгких). При этом максимальное значение медианы спотов (21,50 (4,50; 43,25)) отмечается в группе с 25% поражением лёгких; у лиц с поражением лёгких от 25% до 50 % медиана спотов составила 3,00 (1,00; 43,00).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При оценке Т-клеточного ответа к SARS-CoV-2 методом ELISPOT выявлены следующие особенности.

В группе переболевших медиана количества спотов в ПАГ 2 (пептиды белков N, M, Orf7a, Orf3a) статистически значимо выше ($p = 0,009$), чем у лиц, не переболевших COVID-19. Количество спотов в ПАГ 1 (пептиды S-белка) в группе переболевших имеет тенденцию к повышению ($p = 0,081$).

У вакцинированных лиц Т-клеточный иммунитет вырабатывается преимущественно в ПАГ 1 (пептиды S-белка), нежели в ПАГ 2 (пептиды N-, M-, Orf7a-, Orf3a-белков). Медиана спотов в ПАГ 1 в группе вакцинированных статистически значимо выше ($p = 0,014$), чем у невакцинированных.

Более эффективное формирование Т-клеточного ответа на SARS-CoV-2 наблюдается при вакцинации «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V).

Срок более 6 месяцев, видимо, является критичным по отношению к снижению Т-клеточного ответа к SARS-CoV-2 после вакцинации.

Максимальное значение медианы количества спотов отмечается у лиц с меньшим поражением лёгких (до 25 %);

Таким образом, полученные нами результаты указывают на высокую степень обоснованности и достоверности метода ELISPOT. Простота, высокая чувствительность и воспроизводимость метода дают основание для его широкого применения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive Immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125(Suppl 2): S33–S40. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.017
2. Kanellopoulos JM, Ojcius DM. Development of humoral immunity. *Biomed J*. 2019; 42(4): 207–208. doi: 10.1016/j.biomedj.2019.08.003
3. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol*. 2022; 23: 186–193. doi: 10.1038/s41590-021-01122-w
4. Grifoni A, Sidney J, Vita R, Peters B, Crotty S, Weiskopf D, et al. SARS-CoV-2 human T cell epitopes: Adaptive immune response against COVID-19. *Cell Host Microbe*. 2021; 29(7): 1076–1092. doi: 10.1016/j.chom.2021.05.010
5. Kudlay D, Kofiadi I, Khaivor M. Peculiarities of the T-cell immune response in COVID-19. *Vaccines (Basel)*. 2022; 10(2): 242. doi: 10.3390/vaccines10020242
6. Козлов В.А., Тихонова Е.П., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Андронова Н.В., Анисимова Е.Н., и др. Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов. Красноярск: Поликор; 2021.
7. Wyllie D, Jones HE, Mulchandani R, Trickey A, Taylor-Phillips S, Brooks T, et al. SARS-CoV-2 responsive T cell numbers and anti-Spike IgG levels are both associated with protection from COVID-19: A prospective cohort study in keyworkers. *medRxiv*. 2020; 20222778. doi: 10.1101/2020.11.02.20222778

8. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin J-B, Olsson A, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell*. 2020; 183: 158-168.e14. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.017
9. Shomuradova AS, Vagida MS, Sheetikov SA, Zornikova KV, Kiryukhin D, Titov A, et al. SARS-CoV-2 epitopes are recognized by a public and diverse repertoire of human T-cell receptors. *Immunity*. 2020; 53(6): 1245-1257.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.11.004
10. Потеряев Д.А., Аббасова С.Г., Игнатьева П.Е., Стрижакова О.М., Колесник С.В., Хамитов Р.А. Оценка Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных против COVID-19 лиц с помощью ELISPOT набора ТиграТест® SARS-CoV-2. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2021; 21(3): 178-192. doi: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192
11. Kudlay D, Svistunov A, Satyshev O. COVID-19 vaccines: An updated overview of different platforms. *Bioengineering*. 2022; 9: 714. doi: 10.3390/bioengineering9110714
12. Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «ТиграТест® SARS-CoV-2». Тест на высвобождение интерферона гамма *in vitro* для определения в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2 по ТУ 21.20.23-001-89761464-2020.
1. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive Immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125(Suppl 2): S33-S40. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.017
2. Kanellopoulos JM, Ojcius DM. Development of humoral immunity. *Biomed J*. 2019; 42(4): 207-208. doi: 10.1016/j.bj.2019.08.003
3. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol*. 2022; 23: 186-193. doi: 10.1038/s41590-021-01122-w
4. Grifoni A, Sidney J, Vita R, Peters B, Crotty S, Weiskopf D, et al. SARS-CoV-2 human T cell epitopes: Adaptive immune response against COVID-19. *Cell Host Microbe*. 2021; 29(7): 1076-1092. doi: 10.1016/j.chom.2021.05.010
5. Kudlay D, Kofiadi I, Khaitov M. Peculiarities of the T-cell immune response in COVID-19. *Vaccines (Basel)*. 2022; 10(2): 242. doi: 10.3390/vaccines10020242
6. Kozlov VA, Tikhonova EP, Savchenko AA, Kudryavtsev IV, Andronova NV, Anisimova EN, et al. *Clinical immunology. A practical guide for infectious disease specialists*. Krasnoyarsk: Polikor; 2021. (In Russ.).
7. Wyllie D, Jones HE, Mulchandani R, Trickey A, Taylor-Phillips S, Brooks T, et al. SARS-CoV-2 responsive T cell numbers and anti-Spike IgG levels are both associated with protection from COVID-19: A prospective cohort study in keyworkers. *medRxiv*. 2020; 20222778. doi: 10.1101/2020.11.02.20222778
8. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin J-B, Olsson A, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell*. 2020; 183: 158-168.e14. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.017
9. Shomuradova AS, Vagida MS, Sheetikov SA, Zornikova KV, Kiryukhin D, Titov A, et al. SARS-CoV-2 epitopes are recognized by a public and diverse repertoire of human T-cell receptors. *Immunity*. 2020; 53(6): 1245-1257.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.11.004
10. Poteryaev DA, Abbasova SG, Ignatyeva PE, Strizhakova OM, Kolesnik SV, Khamitov RA. Assessment of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescents and vaccinated subjects, using TigaTest® SARS-CoV-2 ELISPOT kit. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021; 21(3): 178-192. (In Russ.). doi: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192
11. Kudlay D, Svistunov A, Satyshev O. COVID-19 vaccines: An updated overview of different platforms. *Bioengineering*. 2022; 9: 714. doi: 10.3390/bioengineering9110714
12. Instructions for using medical product for *in vitro* diagnostics "TigaTest® SARS-CoV-2". Test for the release of interferon gamma *in vitro* to determine T-lymphocytes in the blood which specifically respond to antigens of the SARS-CoV-2 virus according to TU 21.20.23-001-89761464-2020. (In Russ.).

REFERENCES

1. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive Immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125(Suppl 2): S33-S40. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.017
2. Kanellopoulos JM, Ojcius DM. Development of humoral immunity. *Biomed J*. 2019; 42(4): 207-208. doi: 10.1016/j.bj.2019.08.003
3. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol*. 2022; 23: 186-193. doi: 10.1038/s41590-021-01122-w
4. Grifoni A, Sidney J, Vita R, Peters B, Crotty S, Weiskopf D, et al. SARS-CoV-2 human T cell epitopes: Adaptive immune response against COVID-19. *Cell Host Microbe*. 2021; 29(7): 1076-1092. doi: 10.1016/j.chom.2021.05.010
5. Kudlay D, Kofiadi I, Khaitov M. Peculiarities of the T-cell immune response in COVID-19. *Vaccines (Basel)*. 2022; 10(2): 242. doi: 10.3390/vaccines10020242
6. Kozlov VA, Tikhonova EP, Savchenko AA, Kudryavtsev IV, Andronova NV, Anisimova EN, et al. *Clinical immunology. A practical guide for infectious disease specialists*. Krasnoyarsk: Polikor; 2021. (In Russ.).
7. Wyllie D, Jones HE, Mulchandani R, Trickey A, Taylor-Phillips S, Brooks T, et al. SARS-CoV-2 responsive T cell numbers and anti-Spike IgG levels are both associated with protection from COVID-19: A prospective cohort study in keyworkers. *medRxiv*. 2020; 20222778. doi: 10.1101/2020.11.02.20222778
8. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin J-B, Olsson A, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell*. 2020; 183: 158-168.e14. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.017
9. Shomuradova AS, Vagida MS, Sheetikov SA, Zornikova KV, Kiryukhin D, Titov A, et al. SARS-CoV-2 epitopes are recognized by a public and diverse repertoire of human T-cell receptors. *Immunity*. 2020; 53(6): 1245-1257.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.11.004
10. Poteryaev DA, Abbasova SG, Ignatyeva PE, Strizhakova OM, Kolesnik SV, Khamitov RA. Assessment of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescents and vaccinated subjects, using TigaTest® SARS-CoV-2 ELISPOT kit. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021; 21(3): 178-192. (In Russ.). doi: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192
11. Kudlay D, Svistunov A, Satyshev O. COVID-19 vaccines: An updated overview of different platforms. *Bioengineering*. 2022; 9: 714. doi: 10.3390/bioengineering9110714
12. Instructions for using medical product for *in vitro* diagnostics "TigaTest® SARS-CoV-2". Test for the release of interferon gamma *in vitro* to determine T-lymphocytes in the blood which specifically respond to antigens of the SARS-CoV-2 virus according to TU 21.20.23-001-89761464-2020. (In Russ.).

Сведения об авторах

- Герасимова Виолена Васильевна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры «Общественное здоровье и здравоохранение, общая гигиена и биоэтика», Медицинский институт, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», e-mail: virlab@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0592-3272>
- Колесник Светлана Владимировна** – младший научный сотрудник отделения «Лаборатория клинической иммунологии», ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова», e-mail: svetlab.kolesnik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2398-4615>
- Кудлай Дмитрий Анатольевич** – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры фармакологии Института фармации, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, e-mail: d624254@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>
- Гольдеррова Айталина Семеновна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры «Общественное здоровье и здравоохранение, общая гигиена и биоэтика», главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Клеточные технологии и регенеративная медицина», Медицинский институт, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», e-mail: hoto68@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6739-9453>

Information about the authors

- Vilena V. Gerasimova** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Public Health and Health Care, General Hygiene and Bioethics, North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, e-mail: virlab@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0592-3272>
- Svetlana V. Kolesnik** – Junior Research Officer at the Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, e-mail: svetlab.kolesnik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2398-4615>
- Dmitry A. Kudlay** – Dr. Sc. (Med.), Corresponding Member of RAS, Professor at the Department of Pharmacology, Institute of Pharmacy, The First Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University); Leading Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine and Molecular Immunology, National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency of Russia, e-mail: d624254@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>
- Aytalina S. Golderova** – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Public Health and Health Care, General Hygiene and Bioethics, Chief Research Officer at the Research Laboratory "Cell Technologies and Regenerative Medicine", Medical Institute, North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, e-mail: hoto68@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6739-9453>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

ДИЗАЙН ПРОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ОРГАНИЛФОСФАТОВ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АЛКИЛЬНЫХ ЗАЩИТНЫХ ГРУПП РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ФТОРИРОВАНИЯ

РЕЗЮМЕ

Приставка А.А.¹,
Михайленко В.Л.¹,
Вятчина О.Ф.¹,
Юринова Г.В.¹,
Верхотурова С.И.²,
Апарцин К.А.³,
Саловарова В.П.¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1, Россия)

² ФГБУН «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН» (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия)

³ ФГБУН Иркутский научный центр СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 134, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Приставка Алексей Александрович,
e-mail: pristavk@gmail.com

Актуальность. Молекулярные структуры, состоящие из фосфорсодержащей части и неполярных радикалов, используются при разработке пролекарств в качестве структурно-функциональных групп, необходимых для транспортировки лекарства через клеточные барьеры. При этом предполагается, что сам носитель не проявляет биологической активности. Однако комплекс «органический фосфат – алкильный радикал» может обладать собственными метаболическими и фармакологическими свойствами даже в отсутствие лекарственной части.

Цель работы. Исследовать влияние ряда фторированных алкилфосфатов на рост бактериальных тест-культур на агаризованной среде и выявить сопряжённые метаболические маркеры методами УФ/видимой спектроскопии.

Материалы и методы. Оценивалось влияние шести органилфосфатов на рост пяти видов бактерий в аэробных условиях методом лунок на агризованной среде. Для растворов, содержащих клеточные метаболиты *Pseudomonas aeruginosa*, зарегистрированы спектры поглощения в диапазоне 250–280 нм. Для многомерного сравнительного анализа спектров использовался метод главных компонент (PCA).

Результаты. Исследованные органилфосфаты с этильными и пропильными радикалами являются потенциальными временными носителями лекарственного фрагмента, т. к. способны проникать через клеточные барьеры. Однако фторированные соединения проявляют бактерицидные свойства, степень которых зависит от особенностей расположения атомов фтора в радикале: наиболее активны соединения, исчезающие галогенированные по терминальному атому углерода этильного радикала ($-CH_2-CF_3$), наименее активен нефторированный органилфосфат. УФ/видимые спектры продуктов культивирования *P. aeruginosa*, по данным PCA, содержат паттерны, отражающие метаболические эффекты, опосредованные этими структурными особенностями радикалов.

Заключение. С точки зрения перспектив практического применения исследованных соединений, активность проантибиотика на основе органилфосфата с нефторированным этил(пропил)радикалом будет определяться только специфичностью лекарственной части. Точно такая же молекула, но исчезающая фторированная по терминальному атому углерода алкильного радикала, вероятно, будет характеризоваться более низкой специфичностью и более высокой активностью при аддитивном (или синергетичном) действии метаболически активных групп.

Ключевые слова: фторированные органилфосфаты, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, УФ/видимая спектроскопия, метод главных компонент

Для цитирования: Приставка А.А., Михайленко В.Л., Вятчина О.Ф., Юринова Г.В., Верхотурова С.И., Апарцин К.А., Саловарова В.П. Дизайн пролекарств на основе органилфосфатов: сравнительный анализ антибиотического действия алкильных защитных групп разной степени фторирования. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 103-113. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.11

Статья получена: 15.10.2021

Статья принята: 07.11.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

DESIGN OF ORGANYL PHOSPHATE-BASED PRO-DRUGS: COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ANTIBIOTIC ACTION OF ALKYL PROTECTING GROUPS WITH DIFFERENT DEGREE OF FLUORINATION

ABSTRACT

Pristavka A.A.¹,
Mikhailenko V.L.¹,
Vyatchina O.F.¹,
Yurinova G.V.¹,
Verkhoturova S.I.²,
Apartsin K.A.³,
Salovarova V.P.¹

¹ Irkutsk State University
(Karla Marks str. 1, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Favorskogo str. 1, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

³ Irkutsk Scientific Center, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Lermontova str. 134, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

Corresponding author:
Aleksey A. Pristavka,
e-mail: pristavk@gmail.com

Background. Molecular structures combining a phosphorus-containing counterpart and non-polar radicals are employed in design of pro-drugs as structural and functional groups necessary for transportation of drugs through cellular barriers. It is assumed that the carrier itself does not exhibit biological activity. However, the "organic phosphate – alkyl radical" complex may possess its own metabolic and pharmacological properties even in the absence of a drug moiety.

The aim. To study the effect of fluorinated alkyl phosphates on the growth of bacterial test cultures in an agar medium and to identify conjugated metabolic markers using UV/visible spectroscopy.

Materials and methods. The effect of six organyl phosphates on the growth of five types of bacteria under aerobic conditions was evaluated by the method of wells in an agar medium. For solutions containing cell metabolites of *Pseudomonas aeruginosa*, the absorption spectra were recorded at 250–280 nm. The principal component analysis (PCA) was used for multivariate comparative analysis of the spectra.

Results. The studied organyl phosphates bearing the ethyl and propyl radicals are potential temporary carriers of the drug moiety, since they are capable of penetrating through cellular barriers. However, the fluorinated compounds exhibit bactericidal properties, the degree of which depends on the arrangement of fluorine atoms in the radical. The most active compounds are those exhaustively halogenated at the terminal carbon atom of the ethyl radical ($-\text{CH}_2\text{-CF}_3$), while non-fluorinated organyl phosphate is the least active. UV/visible spectra of *P. aeruginosa* cultivation products, according to PCA data, contain patterns reflecting the metabolic effects mediated by these structural features of the radicals.

Conclusion. In terms of practical application of the studied compounds, the activity of a proantibiotic based on organyl phosphate with a non-fluorinated ethyl(propyl) radical will be determined only by the specificity of the drug moiety. Exactly the same molecule, but exhaustively fluorinated at the terminal carbon atom of the alkyl radical, is likely to be characterized by lower specificity and higher activity under the additive (or synergistic) action of metabolically active groups.

Key words: fluorinated organyl phosphates, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, UV/vis-spectroscopy, principal component analysis

Received: 15.10.2021
Accepted: 07.11.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Pristavka A.A., Mikhailenko V.L., Vyatchina O.F., Yurinova G.V., Verkhoturova S.I., Apartsin K.A., Salovarova V.P. Design of organyl phosphate-based pro-drugs: comparative analysis of the antibiotic action of alkyl protecting groups with different degree of fluorination. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 103-113. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.11

ВВЕДЕНИЕ

Одно из актуальных направлений повышения эффективности противоинфекционных средств заключается в разработке пролекарств – фармацевтических соединений, которые трансформируется в активную форму лекарства в мишени под действием ферментов или физико-химических факторов [1, 2].

Препарат в форме пролекарства имеет более высокую эффективность за счёт повышения биодоступности, специфичности, стабильности, абсорбции и снижения побочных эффектов, что особенно актуально при разработке новых противомикробных препаратов в качестве стратегии обхода антибиотикорезистентности у патогенных микроорганизмов [3].

Несмотря на десятилетия исследований, выбор идеальной формы пролекарства остаётся проблемой, которую часто решают эмпирическим путём. Перспективна модификация пролекарств фосфорсодержащими функциональными группами, которые относятся по структуре к различным классам: фосфатам, фосфонатам, фосфинатам, фосфамидам и др. Такие пролекарства обладают более высокой полярностью, обеспечивают более прочную водородную связь *in vivo* при клиническом применении по сравнению с немодифицированными лекарствами и легко (особенно фосфаты) активируются под действием фосфатаз и неспецифических эстераз. Стратегия разработки пролекарств заключается в присоединении фосфорсодержащей группы либо к молекуле известного препарата, либо к производным биологических аналогов. Примерами антибиотиков первого типа являются клиндамицина фосфат и фосфат тедизолида, а в качестве препаратов второго типа разрабатываются производные нуклеотидов как противовирусные и противоопухолевые агенты (Tenofovir disoproxil phosphate) [4].

Однако включение фосфатов в состав пролекарства имеет свои недостатки. Во-первых, фосфорсодержащие группы при физиологическом pH заряжены, что понижает липофильность молекулы и ограничивает её проникновение в клетку. Во-вторых, эфиры фосфорной кислоты метаболически нестабильны. Для нейтрализации зарядов и понижения чувствительности к фосфоэстеразам фосфатная группа модифицируется защитными радикалами [5]. По такому принципу разрабатываются, например, пролекарства на основе фосмидомицина – ингибитора метаболизма изопреноидов [6].

Недостаток такого подхода заключается в необходимости маскировки двух зарядов на фосфатной группе. А это приводит к образованию либо диэфира, либо циклического производного. В результате образуется смесь стереоизомеров за счёт формирования хирального центра (фосфор), и может меняться путь активации пролекарства [7]. Для решения этой проблемы в качестве линкера между лекарством и защитной липофильной группой можно использовать органилфосфаты (ФОС) с одним зарядом.

В качестве липофильных заместителей используются разные функциональные группы, простейшими из ко-

торых являются алкильные радикалы [8]. Сложноэфирная связь между алкилом и фосфором (Alk-O-P) менее устойчива к гидролазам микроорганизмов, чем мlekопитающих, что может повысить целевую селективность таких пролекарств [3].

Другая стратегия повышения липофильности основана на введении в молекулу ФОС атомов фтора [7]. Результатом фторирования является не только снижение барьерных свойств мембран. Замена водорода или гидроксильной группы фтором меняет биологическую активность органилфосфатов. В литературе рассматриваются несколько механизмов взаимодействия фторуглеводородных радикалов с биологическими мишениями: 1) изменение геометрии фторсодержащих групп по сравнению с незамещёнными радикалами, что может изменить характер межмолекулярных взаимодействий или направление связывания; 2) фтор является миметиком гидроксигрупп, но по прочности водородные связи F...H (~2,4 ккал/моль) слабее, чем O...H (~5 ккал/моль), что влияет на прочность и специфичность связывания белков с лигандами; 3) высокая электроотрицательность фтора смещает электронную плотность, что может менять барьер активации ферментативных реакций [9–11]. Известны фосфорорганические пролекарства, фторированные по активному компоненту (антибиотик фторхинолон) [1], по защитному липофильному радикалу (фосфлуконазол) и даже по фосфору (дифлос) [4].

С другой стороны, наличие фторированной алкильной группы в органилфосфатах, относящихся к отравляющим веществам, снижает их антихолинэстеразную активность [12]. Поэтому вероятность того, что пролекарства с такими заместителями будут проявлять нейротоксическое действие, довольно низка. И это ещё один довод за применение фторалкилов в качестве липофильных защитных групп при конструировании молекул пролекарств.

Таким образом, перспективно выглядит молекула пролекарства антибиотического действия, включающая 1) собственно лекарственную часть и 2) комплекс, отвечающий за доставку пролекарства в мишень и состоящий из фторированного алкильного радикала и органилфосфатного линкера (рис. 2). Однако этот комплекс может обладать собственными метаболическими и фармакологическими свойствами даже в отсутствие лекарственной части, т. к. пока не выявлено статистически значимой взаимосвязи между специфичностью биологического действия фторированных ФОС и конкретным положением фторирования на углеродном каркасе [9].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовать влияние ряда фторированных алкилфосфатов на рост бактериальных тест-культур на агаризованной среде и выявить сопряжённые метаболические маркеры методами УФ/видимой спектротермии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общая схема исследования представлена на рисунке 1.

В работе использовались шесть органилфосфатов разной степени фторированности, из которых 3 циклических (C.N) и 3 ациклических (A.N), где N – число атомов фтора в алкильном радикале (табл. 1). Соединения синтезированы в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН [13, 14].

В качестве тест-культур использовали пять штаммов факультативно анаэробных бактерий, относящиеся к разным таксономическим и экологическим группам: *Escherichia coli* ATCC 35218, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (любезно предоставлены д.б.н. В.А. Чхен-кели, НИИ биологии ИГУ); *Pseudomonas aeruginosa* 1CB, *Bacillus cereus* 846, *Bacillus thuringiensis* 7-14 КС (из коллекции кафедры микробиологии ИГУ).

Антибактериальную активность органилфосфатов на рост микроорганизмов оценивали в чашка Петри

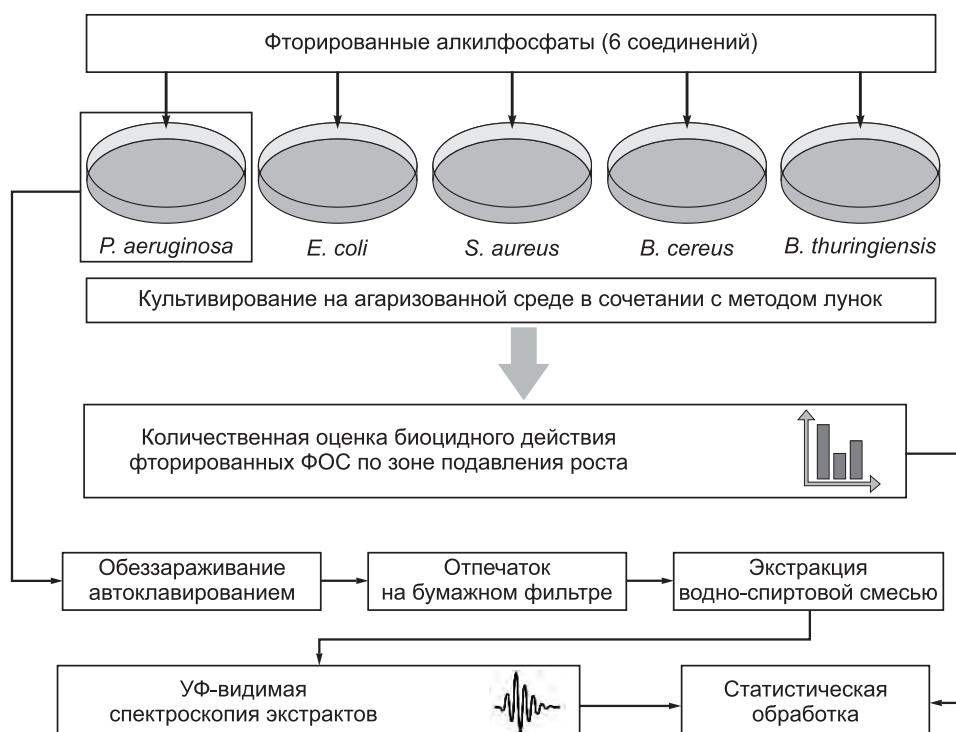


РИС. 1.

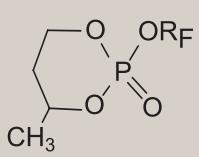
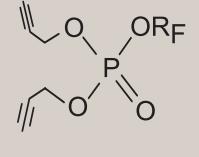
Общая схема исследований

FIG. 1.

General research scheme

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАННЫХ
ФТОРИРОВАННЫХ ОРГАНИЛФОСФАТОВ

TABLE 1
FEATURE OF THE STUDIED FLUORINATED
ORGANYL PHOSPHATES

| Общая структура | Фторсодержащая алкильная группа R _F (F = 0...8) | Номенклатурное название соединения | Условное обозначение |
|---|--|---|----------------------|
|  | -CH ₂ CF ₃ | 4-метил-2-(2,2,2-трифторэтокси)-1,3,2-диоксаффоринан-2-оксид | C.3 |
| | -CH ₂ (CF ₂) ₂ H | 4-метил-2-(2,2,3,3-тетрафторпропокси)-1,3,2-диоксаффоринан-2-оксид | C.4 |
| | -CH ₂ (CF ₂) ₄ H | 4-метил-2-(2,2,3,3,4,4,5,5-октафторпентилокси)-1,3,2-диоксаффоринан-2-оксид | C.8 |
|  | -CH ₂ CH ₂ CH ₃ | Бис(2-пропинил) пропилфосфат | A.0 |
| | -CH ₂ CF ₃ | Бис(2-пропинил)(2,2,2-трифторэтил)фосфат | A.3 |
| | -CH ₂ (CF ₂) ₂ H | Бис(2-пропинил)(2,2,3,3-тетрафторпропил)фосфат | A.4 |

при помощи диффузионного метода в лунках РПА [15]. В лунку диаметром 1 см вносили 10%-е водные растворы ФОС (в случае C.8 – эмульсию) в объёмах, эквивалентных 0,02 ммоль препарата (50–80 мкл). Предварительные исследования показали, что 1%-я концентрация препаратов не влияет на рост культур. В качестве контроля использовался соответствующий объём дистиллированной воды. Чашки Петри инкубировали при +30 °C в течение 24 ч. Проявление бактерицидного действия тестируемых веществ оценивали по величине зоны подавления роста микроорганизмов вокруг лунки с помощью программы ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>) [16].

Каждая серия культивирования проводилась в трёх повторностях с определением математического ожидания и стандартного отклонения. Статистическая значимость различий между выборками оценивалась с использованием непараметрических методов: критерия Краскела – Уоллиса и двухфакторного PERMANOVA. Взаимосвязь между переменными оценивалась с помощью коэффициента линейной корреляции r . Все статистические критерии рассматривались при $p < 0,05$. Вычисления проводились в программе Past v4.05 [17].

На следующем этапе культуру *P. aeruginosa* выращивали 24 часа на агариованной среде РПА, содержащей индивидуальные органилфосфаты. Затем чашки Петри стерилизовали (121 °C, 20 мин) и после застыивания агариованной среды на её поверхность накладывали на 5 мин под давлением 0,9 кПа фильтровальную бумагу (синяя лента), предварительно отмытую 96%-м этианолом и высушеннную. Компоненты, перенесённые на фильтр, экстрагировали 10 мл 96%-го этилового спирта. В качестве контролей использовались комбинации «РПА», «РПА + ФОС» и «РПА + *P. aeruginosa*».

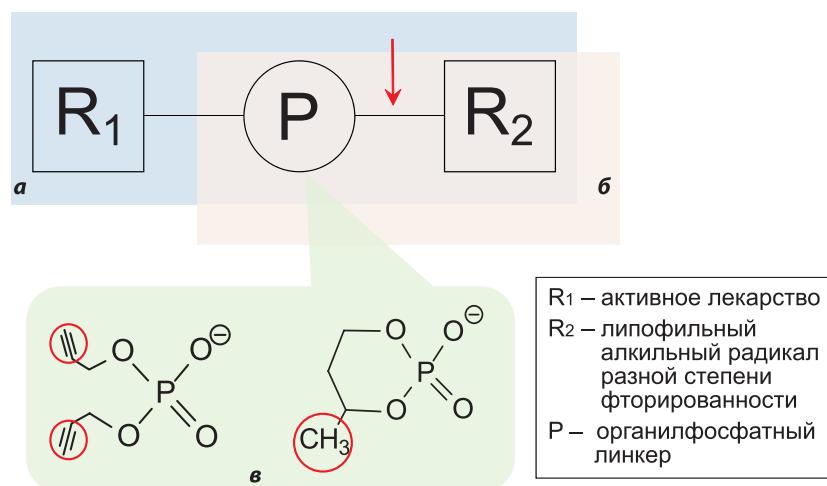
Для спиртовых растворов, содержащих метаболиты *P. aeruginosa*, и всех контрольных образцов зарегистрированы спектры поглощения (NanoPhotometer P330, Implen, Германия) в диапазоне длин волн от 200 до 950 нм в 10 мм кварцевой кювете. В качестве раствора сравнения использовался этанол.

Многомерный сравнительный анализ спектров для разных диапазонов длин волн осуществляли методом главных компонент (PCA) [18] в Past v.4.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярные структуры, состоящие из фосфорсодержащей части (фосфат-ион, фосфины, фосфамиды, фосфонаты) и неполярных радикалов (в том числе алкильных), активно используются при разработке пролекарств в качестве структурно-функциональных групп, необходимых для транспортировки лекарства через клеточные мембранны и его активации в мишениях. При этом предполагается, что сам носитель не проявляет выраженной биологической активности [4, 5].

В данной работе исследовались аналогичные двухкомпонентные органилфосфаты, структура которых, однако, отличается от соединений, которые рассматриваются в публикациях, посвящённых фосфорсодержащим пролекарствам. Во-первых, полярная часть молекулы представлена органическим фосфатом, во-вторых, использовались алкильные радикалы, различающиеся по степени фторированности (табл. 1; рис. 2). Такая архитектура, с одной стороны, обуславливает высокую липофильность молекулы без необходимости увеличения числа защитных групп, а с другой – может сопро-



вождаться проявлением собственной метаболической и фармакологической активности.

В связи с этим на первом этапе было протестирано бактерицидное действие исследуемых ФОС. Предварительно была выявлена способность этих соединений вызывать помутнение жидких бактериальных питательных сред, что вносит неопределенность в количественную оценку динамики роста микроорганизмов (по OD600) при глубинном культивировании. Поэтому культивирование проводили на агаризованной среде в сочетании с методом лунок.

Результаты показали, что пять из шести исследованных ФОС, действительно, проявляют биологическую активность, хотя и в разной степени (рис. 3). По накопительному воздействию на тест-культуры исследуемые соединения можно разделить на три группы: 1) близкие по суммарному эффекту трифтормзамещенные соединения (C.3 и A.3) – на долю каждого приходится ~30 % от общей площади подавления роста тест-культур; 2) циклический тетрафторированный препарат (C.4) – 15 %; 3) остальные ФОС либо не активные (A.4), либо со слабым бактериостатическим действием (A.0 и C.8) – на их долю суммарно приходится менее 10 % накопительного эффекта. Таким образом, наибольшая биоцидная активность характерна для соединений, исчерпывающие галогенированных по терминалному атому углерода этильного радикала ($-\text{CH}_2\text{-CF}_3$). Этот вывод статистически значим ($p < 0,05$) по данным двухфакторного PERMANOVA и по критерию Краскела – Уоллиса.

В то же время можно выделить черты избирательного действия органилфосфатов на разные тест-культуры (рис. 4).

- Наименее толерантными оказались условно-патогенные виды (*B. cereus*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*) – их рост подавлялся как высоко-, так и низкоактивными ФОС. Хотя у разных видов площадь подавления роста одним и тем же соединением различается по абсолютным зна-

чениям, выявлена статистически значимая межвидовая корреляция ($p < 0,05$) биологических откликов (табл. 2), что может указывать на сходные механизмы биоцидного действия.

- Представитель нормобиоты человека *E. coli* проявил чувствительность только по отношению к циклическому трёхфторированному C.3;

- Безопасный для позвоночных и патогенный для насекомых *B. thuringiensis* оказался наиболее резистентным видом ко всем органилфосфатам.

То есть прослеживается как экологическая, так и видовая специфичность действия разных фосфорсодержащих соединений. Это даёт возможность, во-первых, синтезировать пролекарства, активные только по отношению к УПМ и относительно безвредные для симбиотического микробиома, а, во-вторых, разрабатывать технологии совместного применения бактериальных инсектицидов и химических пестицидов на основе органилфосфатов для нужд АПК и лесного комплекса.

ТАБЛИЦА 2
МЕЖВИДОВАЯ КОРРЕЛЯЦИЯ РОСТА ТЕСТ-КУЛЬТУР
В ПРИСУТСТВИИ ОРГАНИЛФОСФАТОВ

TABLE 2
INTERSPECIFIC CORRELATION OF TEST CULTURE
DEVELOPMENT IN THE PRESENCE OF ORGANYL
PHOSPHATES

| Сопоставляемые виды | <i>r</i> | <i>p</i> |
|---|----------|----------|
| <i>B. cereus</i> / <i>S. aureus</i> | 0,94 | 0,002 |
| <i>P. aeruginosa</i> / <i>S. aureus</i> | 0,75 | 0,051 |
| <i>P. aeruginosa</i> / <i>B. cereus</i> | 0,81 | 0,026 |

Биоцидный эффект A.3 и C.3 указывает на их способность легко проникать через клеточные барьеры

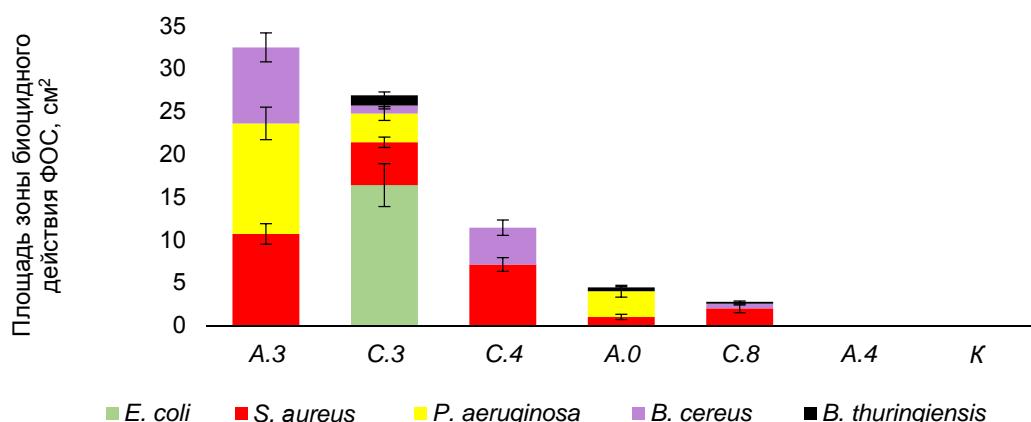
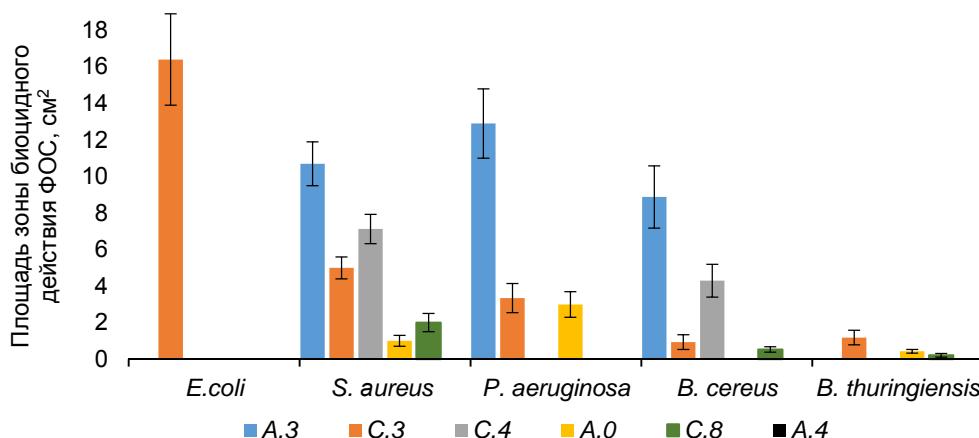


РИС. 3.

Гистограмма с накоплением, показывающая влияние отдельных фторзамещенных органилфосфатов на культуры бактерий (по данным диффузионного метода в лунках РПА): обозначение ФОС соответствует таблице 1; K – контрольные среды без внесения органилфосфатов

FIG. 3.

Stacked bar chart showing effect of single fluorine substituted organyl phosphates on bacterial cultures (according to the agar well diffusion method): designation of organyl phosphates corresponds to Table 1; K – growth mediums without adding organyl phosphates

**РИС. 4.**

Биоцидное действие фторзамещённых органилфосфатов на индивидуальные культуры бактерий (по данным диффузионного метода в лунках РПА): обозначение ФОС соответствует таблице 1

ры. Их активность, очевидно, обусловлена влиянием CF_3CH_2 -группы, которая высвобождается в результате гидролиза сложноэфирной связи и может участвовать в биохимических реакциях с образованием продуктов, угнетающих метаболические процессы [10, 11]. Однако липофильность пропильной группы в A.0 выше, чем у трифторэтильной группы: для алканового эквивалента по $\log P_{ow}$ – 2,36 против 1,74 (National Library of Medicine, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). То есть A.0 также должен легко проникать в бактериальные клетки, но при этом он не проявляет выраженного антибиотического действия.

Таким образом, комплексы «органический фосфат – алкильный радикал», являются потенциальными временными носителями лекарственного фрагмента (рис. 2), но при наличии атомов фтора проявляют собственную биоцидную активность. Эта активность, вероятно, зависит от расположения атомов фтора на радикале, которое может влиять на доступность молекулы для внутриклеточных активирующих эстераз и на метаболическую активность продуктов гидролиза. Липофильность алкильной группы, не аддитивно зависящая от комбинирования её длины и степени фторированности [10, 19], также может влиять на ферментативный гидролиз этого комплекса в водной фазе.

Задачей следующего этапа было выявление возможных метаболических маркеров, которые могли бы подтвердить роль отмеченных факторов в наблюдаемом действии ФОС. Подобный маркер должен отвечать следующим критериям. Во-первых, для максимального охвата клеточных метаболитов (и для снижения рисков работы с патогенной культурой) клетки необходимо предварительно подвергнуть разрушению, поэтому молекула должна быть стабильной в широком диапазоне физических воздействий. Во-вторых, для эффективного отделения от прочих продуктов культивирования маркер должен быть низкомолекулярным и умеренно полярным. В-третьих, он должен легко детектироваться, например, спек-

FIG. 4.

Biocidal effect of fluorine-substituted organyl phosphates on individual bacterial culture (according to agar well diffusion method): designation of organyl phosphates corresponds to Table 1

тральными методами. Наконец, желательно, чтобы интенсивность детектируемого сигнала была связана с условиями культивирования и с культуральными свойствами микроорганизмов.

Кандидатом на роль маркера рассматривались пигменты на основе феназина, продуцируемые *P. aeruginosa*. Феназин устойчив при температуре выше 300 °C, имеет выраженные максимумы поглощения в ближнем ультрафиолете (NIST Chemistry WebBook, <https://webbook.nist.gov/cgi/inchi?ID=C92820>), его количество в культуре зависит от окислительно-восстановительных условий среды, а производные ярко окрашены. В контексте рассматриваемой проблемы немаловажными являются ещё два свойства пигментов феназинового ряда: с одной стороны, они обладают собственными антибиотическими свойствами, а с другой – обуславливают антибиотикорезистентность бактерии [20, 21].

После завершения культивирования клетки *P. aeruginosa* разрушили автоклавированием, затем низкомолекулярные компоненты, растворённые в жидкой фазе агаризованной среды, перенесли на фильтровальную бумагу с последующей экстракцией этанолом. Для экстрактов были зарегистрированы УФ/видимые спектры поглощения. Предварительно было показано, что спиртовые растворы индивидуальных ФОС не проявляли заметной оптической активности во всём спектральном диапазоне.

К сожалению, в полученных спектрах не удалось выявить индивидуальные сигналы, которые маркировали бы активность органилфосфатов, поэтому дальнейший сравнительный анализ спектров проводился с использованием метода главных компонент (рис. 5). Метод позволяет выявить сходства и различия между спектрами без предварительной идентификации индивидуальных компонентов смеси [18] и реализовывался как для всей шкалы спектрофотометра (200–950 нм), так и для диапазона длин волн, соответствующего максимальному разделению пространства главных компонент на индивидуальные области (250–260 и 270–280 нм).

На долю первой и второй компонент проецировалась максимальная доля общей дисперсии для обоих вариантов анализа (рис. 5а, б). Однако если в случае всего спектрального диапазона наблюдается перекрывание областей точечных проекций спектров, соответствующих разным условиям культивирования (рис. 5а), то при анализе спектров специфического диапазона (рис. 5б), отчётливо выделяются локальные области, соответствующие:

- культивированию на контрольной среде без ФОС (серая область);

- контрольным средам «РПА» и «РПА + ФОС» без инокулята (фиолетовая);
- опытным средам, содержащим активные трёхфторзамещённые С.3 и А.3 (зелёная);
- опытным средам, содержащим циклический четырёхзамещённый С.4 (синяя);
- опытным средам, содержащим ациклический нефторированный А.0 со слабым бактериостатическим действием (красная).

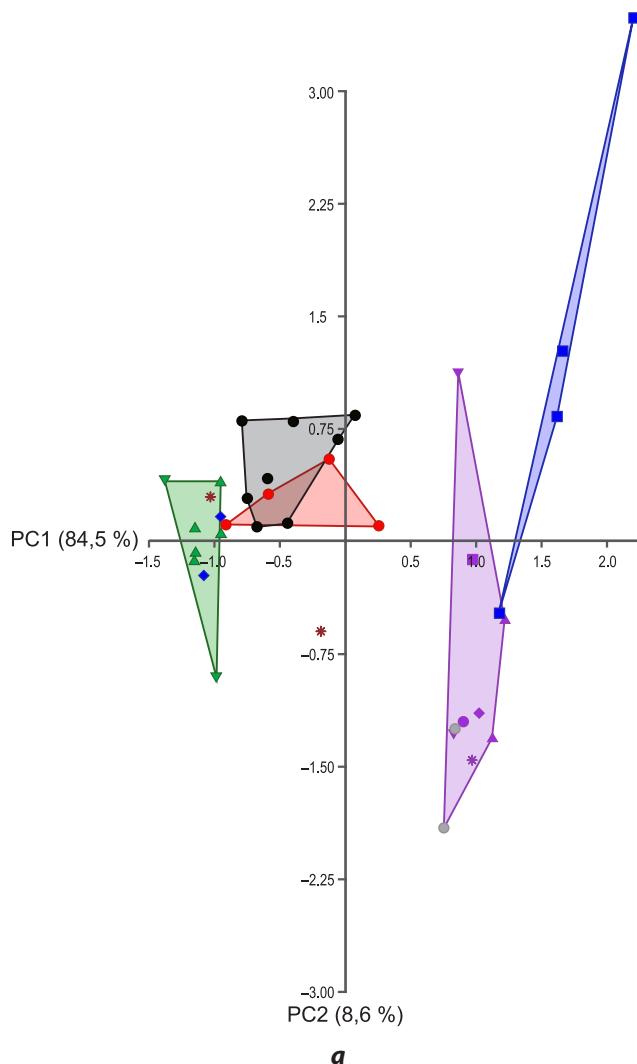


РИС. 5.

Представление УФ/видимых спектров исследованных растворов в пространстве главных компонент: **а** – для всего спектрального диапазона (200–950 нм); **б** – для диапазонов, выявляющих максимальные различия между спектрами разных групп (250–260 и 270–280 нм). Области, соответствующие ранжированию спектров по разным контрольным и опытным группам, выделены цветом. Форма маркера соответствует числу атомов фтора в молекуле органилфосфата: ● – контроль по культуре без ФОС; ○ – контроль по питательной среде; ● – А.0; ▲ – А.3; ▼ – С.3; ■ – С.4; ♦ – А.4; * – С.8. Контрольные среды, содержащие органилфосфаты, маркированы аналогичными символами фиолетового цвета. Обозначения ФОС соответствуют таблице 1

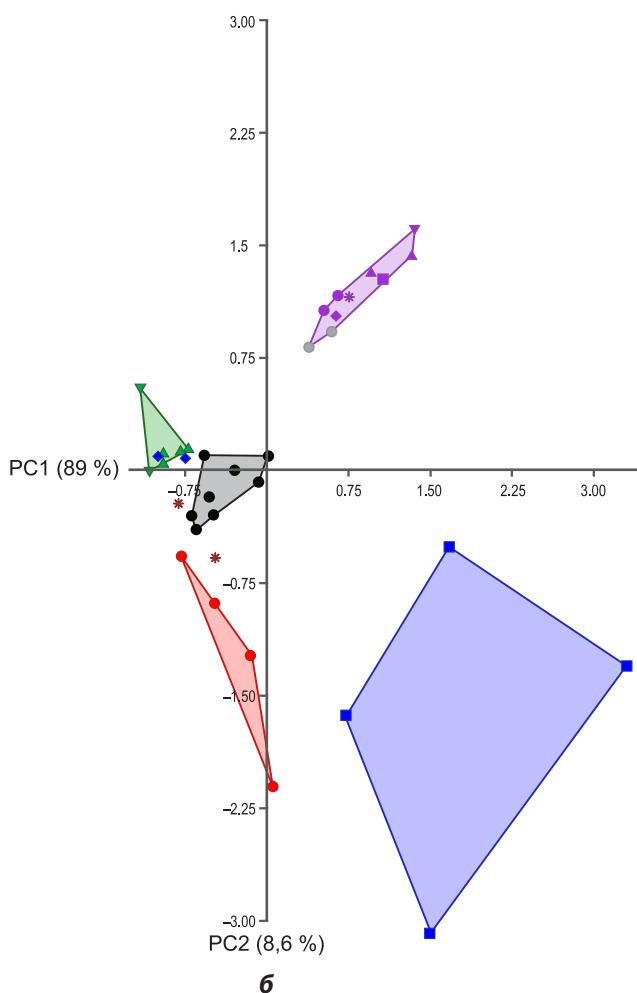


FIG. 5.

Representation of UV/visible spectra of the investigated solutions in the space of the principal components: **а** – for the entire spectral range (200–950 nm); **б** – for ranges with maximum differences between different groups of spectra (250–260 and 270–280 nm). Areas appropriate to the ranking of spectra for different control and experimental groups are marked with various color. The markers view corresponds to the number of fluorine atoms in an organyl phosphate molecule: ● – growth medium without OPC; ○ – uninoculated medium controls; ● – А.0; ▲ – А.3; ▼ – С.3; ■ – С.4; ♦ – А.4; * – С.8. Uninoculated media containing organyl phosphates are labeled with similar markers in purple. Designations of organyl phosphates correspond to Table 1

Эти результаты, на наш взгляд, указывают на то, что в спектрах содержатся паттерны, отражающие метаболические эффекты, опосредованные только структурой радикалов. То есть органилфосфаты с одинаковой алкильной частью индуцируют в клетках сходные молекулярные процессы, которые, во всяком случае, по отношению к *P. aeruginosa*, не обязательно сопряжены с проявлением биоцидного действия. Исключением являются органилфосфаты с тетрафторированными радикалами (A.4 и C.4), которые различаются и по биологической активности, и по влиянию на спектральные характеристики сред культивирования. Чтобы выявить более однозначную взаимосвязь между структурой алкильного радикала, биологической активностью исследуемого органилфосфата и спектральными свойствами сред культивирования необходимо исследовать аналогичные соединения с другими вариантами расположения фтора в этильном и пропильном радикалах.

На данном этапе следует обратить внимание на два соединения. Это, во-первых, A.3, который проявляет наиболее заметную собственную антибиотическую активность ко всем условно-патогенным видам, и механизм его действия объясняется окислением фторированного этильного радикала в присутствии неспецифических дегидрогеназ до токсичных соединений (например, до трифторацетата, индуцирующего развитие клеточной гипоксии) [10, 11]. Второе соединение – A.0 – обладает слабым бактериостатическим действием, вероятно, обусловленным влиянием только пропинильных групп в фосфатном линкере (рис. 2) (показано, что введение подобной группы усиливает активность антибиотиков [22]), а высвобождаемая эстеразами в виде спирта алкильная группа легко метаболизируется в клетке. Если лекарственный фрагмент будет связан с временным носителем через пропинильную группу, то активность трёхкомпонентного пролекарства на основе носителя A.0 будет определяться только специфичностью лекарственной части.

Проантибиотики на основе A.3, по сравнению с A.0, будут характеризоваться более низкой специфичностью, но более высокой активностью, если действие метаболически активных групп (лекарства и фторированного алкила) будет аддитивным или синергетичным. Подобные препараты могут найти применение не только в здравоохранении, но и в других видах деятельности, связанных с защитой от нежелательного микробиологического воздействия: АПК, лесная и деревоперерабатывающая промышленность и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе была изучена биоцидная активность шести фосфорорганических соединений, которые потенциально могут использоваться для дизайна проантибиотиков в качестве временного носителя активной части. Два соединения (A.3 и C.3) обладают собственной бактерицидной активностью, обусловленной липофильным CF_3CH_2 -радикалом. Наиболее вероятная

последовательность молекулярных процессов, протекающих с их участием, включает следующие этапы: транспортировка в клетку → гидролиз фосфоэфирной связи → окисление фторированного алкила до токсичных продуктов. Нефторированный A.0 также способен проникать через клеточные барьеры, не проявляя при этом биологической активности. То есть этот носитель не является прекурсором, поэтому пролекарство на его основе будет характеризоваться более высокой специфичностью.

На примере культуры *P. aeruginosa* показано, что эти особенности органилфосфатов отражаются в УФ/видимых спектрах сред культивирования. Хотя сигналов, соответствующих конкретным хромофорным группам, в спектрах не выявлено, их сравнительный анализ методами ординации указывает на связь структуры алкильного радикала и ФОС-опосредованного метаболического отклика клеток.

Для разработки более общих критериев, позволяющих прогнозировать влияние разных алкильных групп на эффективность проантибиотиков, необходимо получить дополнительную информацию о биологической активности других изомеров фторсодержащих алкильных радикалов и о спектральных свойствах ФОС-содержащих сред культивирования прочих тест-культур. Наконец, несомненный интерес представляет исследование биологических свойств молекул, включающих как активную часть пролекарства, так и защитные группы, которым посвящена данная работа.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Piplani M, Rana AC, Sharma PC. Prodrugs of antiinfective agents: A review. *J Pharm Pharm Sci.* 2016; 19(1): 82-113. doi: 10.18433/J3X61S
2. Pal A, Banik BK. Highly efficient prodrugs: Design and therapeutic applications. *Orient J Chem.* 2020; 36(6): 985-1000. doi: 10.13005/ojc/360601
3. Miller JJ, Shah IT, Hatten J, Barekatian Y, Mueller EA, Moustafa AM, et al. Structure-guided microbial targeting of antistaphylococcal prodrugs. *eLife.* 2021; 10: e66657. doi: 10.7554/eLife.66657
4. Yu H, Yang H, Shi E, Tang W. Development and clinical application of phosphorus-containing drugs. *Med Drug Discov.* 2020; 8: 100063. doi: 10.1016/j.medidd.2020.100063
5. Wiemer AJ. Metabolic efficacy of phosphate prodrugs and the remdesivir paradigm. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2020; 3(4): 613-626. doi: 10.1021/acsptsci.0c00076
6. Edwards RL, Heueck I, Lee SG, Shah IT, Miller JJ, Jezewski AJ, et al. Potent, specific MEpicides for treatment of zoonotic staphylococci. *PLoS Pathog.* 2020; 16(6): e1007806. doi: 10.1371/journal.ppat.1007806
7. Wiemer AJ, Wiemer DF. Prodrugs of phosphonates and phosphates: Crossing the membrane barrier. In: Montchamp JL (eds). *Phosphorus Chemistry I.* Springer International Publishing, Switzerland; 2014: 115-160. doi: 10.1007/128_2014_561

8. Heidel KM, Dowd CS. Phosphonate prodrugs: An overview and recent advances. *Future Med Chem.* 2019; 11(13): 1625-1643. doi: 10.4155/fmc-2018-0591
9. Baszczyński O, Janeba Z. Medicinal chemistry of fluorinated cyclic and acyclic nucleoside phosphonates. *Med Res Rev.* 2013; 33(6): 1304-1344. doi: 10.1002/med.21296
10. Ojima I. *Fluorine in medicinal chemistry and chemical biology*. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd; 2009. doi: 10.1002/9781444312096
11. O'Hagan D, Rzepa HS. Some influences of fluorine in bioorganic chemistry. *Chem Commun.* 1997; 7: 645-652. doi: 10.1039/A604140J
12. Chao CK, Balasubramanian N, Gerdes JM, Thompson CM. The inhibition, reactivation and mechanism of VX-, sarin-, fluoro-VX and fluoro-sarin surrogates following their interaction with HuAChE and HuBuChE. *Chem Biol Interact.* 2018; 291: 220-227. doi: 10.1016/j.cbi.2018.06.019
13. Верхотурова С.И., Налибаева А.М., Арбузова С.Н., Казанцева Т.И., Зинченко С.В., Михайленко В.Л., и др. Поляропаралкилфосфаты с пропаргильными заместителями. *Журнал общей химии.* 2019; 89(4): 574-579. doi: 10.1134/S0044460X19040115
14. Михайленко В.Л., Вятчина О.Ф., Налибаева А.М., Поздеева А.С., Бишимбаева Г.К., Верхотурова С.И. Оценка бактерицидной активности фторсодержащих диоксафосфоринаноксидов. *Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология».* 2019; 27: 30-40. doi: 10.26516/2073-3372.2019.27.30
15. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016; 6(2): 71-79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
16. Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. Image processing with ImageJ. *Biophotonics international.* 2004; 11(7): 36-42.
17. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica.* 2001; 4(1): 9.
18. Craig AP, Franca AS, Irudayaraj J. Pattern recognition applied to spectroscopy: Conventional methods and future directions. In: Darrell BV (eds.) *Pattern Recognition: Practices, Perspectives and Challenges*. New York, United States: Nova Science Publishers, Inc; 2013: 1-45.
19. Ruelle P. The n-octanol and n-hexane/water partition coefficient of environmentally relevant chemicals predicted from the mobile order and disorder (MOD) thermodynamics. *Chemosphere.* 2000; 40(5): 457-512. doi: 10.1016/s0045-6535(99)00268-4
20. Dietrich LE, Okegbé C, Price-Whelan A, Sakthah H, Hunter RC, Newman DK. Bacterial community morphogenesis is intimately linked to the intracellular redox state. *J Bacteriol.* 2013; 195(7): 1371-1380. doi: 10.1128/JB.02273-12
21. Schiessl KT, Hu F, Jo J, Nazia SZ, Wang B, Price-Whelan A, et al. Phenazine production promotes antibiotic tolerance and metabolic heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 762. doi: 10.1038/s41467-019-08733-w
22. Wang J, Ansari MF, Lin J-M, Zhou C-H. Design and synthesis of sulfonilamide aminophosphonates as novel antibacterial agents towards *Escherichia coli*. *Chin J Chem.* 2021; 39: 2251-2263. doi: 10.1002/cjoc.202100165

REFERENCES

1. Piplani M, Rana AC, Sharma PC. Prodrugs of antiinfective agents: A review. *J Pharm Pharm Sci.* 2016; 19(1): 82-113. doi: 10.18433/J3X615
2. Pal A, Banik BK. Highly efficient prodrugs: Design and therapeutic applications. *Orient J Chem.* 2020; 36(6): 985-1000. doi: 10.13005/ojc/360601
3. Miller JJ, Shah IT, Hatten J, Barekatain Y, Mueller EA, Moustafa AM, et al. Structure-guided microbial targeting of antistaphylococcal prodrugs. *eLife.* 2021; 10: e66657. doi: 10.7554/eLife.66657
4. Yu H, Yang H, Shi E, Tang W. Development and clinical application of phosphorus-containing drugs. *Med Drug Discov.* 2020; 8: 100063. doi: 10.1016/j.medidd.2020.100063
5. Wiemer AJ. Metabolic efficacy of phosphate prodrugs and the remdesivir paradigm. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2020; 3(4): 613-626. doi: 10.1021/acspctsci.0c00076
6. Edwards RL, Heueck I, Lee SG, Shah IT, Miller JJ, Jezewski AJ, et al. Potent, specific MEPicides for treatment of zoonotic staphylococci. *PLoS Pathog.* 2020; 16(6): e1007806. doi: 10.1371/journal.ppat.1007806
7. Wiemer AJ, Wiemer DF. Prodrugs of phosphonates and phosphates: Crossing the membrane barrier. In: Montchamp JL (eds.) *Phosphorus Chemistry I*. Springer International Publishing, Switzerland; 2014: 115-160. doi: 10.1007/128_2014_561
8. Heidel KM, Dowd CS. Phosphonate prodrugs: An overview and recent advances. *Future Med Chem.* 2019; 11(13): 1625-1643. doi: 10.4155/fmc-2018-0591
9. Baszczyński O, Janeba Z. Medicinal chemistry of fluorinated cyclic and acyclic nucleoside phosphonates. *Med Res Rev.* 2013; 33(6): 1304-1344. doi: 10.1002/med.21296
10. Ojima I. *Fluorine in medicinal chemistry and chemical biology*. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd; 2009: 624. doi: 10.1002/9781444312096
11. O'Hagan D, Rzepa HS. Some influences of fluorine in bioorganic chemistry. *Chem Commun.* 1997; 7: 645-652. doi: 10.1039/A604140J
12. Chao CK, Balasubramanian N, Gerdes JM, Thompson CM. The inhibition, reactivation and mechanism of VX-, sarin-, fluoro-VX and fluoro-sarin surrogates following their interaction with HuAChE and HuBuChE. *Chem Biol Interact.* 2018; 291: 220-227. doi: 10.1016/j.cbi.2018.06.019
13. Verkhoturova SI, Arbuzova SN, Kazantseva TI, Zinchenko SV, Chernysheva NA, Gusarova NK, et al. Polyfluoroalkyl phosphates bearing propargyl substituents. *Russian Journal of General Chemistry.* 2019; 89(4): 708-712. (In Russ.). doi: 10.1134/S107036321904011X
14. Mikhailenko VL, Vyatchina OF, Nalibayeva AM, Pozdeeva AS, Bishimbayeva GK, Verkhoturova SI. Estimation of bactericidal activity of fluorine-containing dioxaphosphorinane oxides. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology.* 2019; 27: 30-40. (In Russ.). doi: 10.26516/2073-3372.2019.27.30
15. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016; 6(2): 71-79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
16. Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. Image processing with ImageJ. *Biophotonics international.* 2004; 11(7): 36-42.
17. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica.* 2001; 4(1): 9.

18. Craig AP, Franca AS, Irudayaraj J. Pattern recognition applied to spectroscopy: Conventional methods and future directions. In: Darrell BV. (eds.) *Pattern Recognition: Practices, Perspectives and Challenges*. New York, United States: Nova Science Publishers, Inc; 2013: 1-45.
19. Ruelle P. The n-octanol and n-hexane/water partition coefficient of environmentally relevant chemicals predicted from the mobile order and disorder (MOD) thermodynamics. *Chemosphere*. 2000; 40(5):457-512. doi: 10.1016/s0045-6535(99)00268-4
20. Dietrich LE, Okegbe C, Price-Whelan A, Sakhtah H, Hunter RC, Newman DK. Bacterial community morphogenesis is intimately linked to the intracellular redox state. *J Bacteriol*. 2013; 195(7): 1371-1380. doi: 10.1128/JB.02273-12
21. Schiessl KT, Hu F, Jo J, Nazia SZ, Wang B, Price-Whelan A, et al. Phenazine production promotes antibiotic tolerance and metabolic heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 762. doi: 10.1038/s41467-019-08733-w
22. Wang J, Ansari MF, Lin J-M, Zhou C-H. Design and synthesis of sulfanilamide aminophosphonates as novel antibacterial agents towards *Escherichia coli*. *Chin J Chem*. 2021; 39: 2251-2263. doi: 10.1002/cjoc.202100165

Сведения об авторах

- Приставка Алексей Александрович** – кандидат биологических наук, доцент кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: pristavk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0724-8565>
- Михайлена Валентина Львовна** – кандидат химических наук, доцент кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: mival63@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2278-2990>
- Вятчина Ольга Фёдоровна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: olgairk3@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2205-1971>
- Юринова Галина Валерьевна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: yurinova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2266-6068>
- Верхотурова Светлана Ильясовна** – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории непредельных гетероатомных соединений, ФГБУН «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН», e-mail: verkhoturova@irioch.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0297-1981>
- Апарцин Константин Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела медико-биологических исследований и технологий, ФГБУН «Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: dr.apartsin@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0003-0577-9001>
- Саловарова Валентина Петровна** – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: vsalavarova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3693-9058>

Information about the authors

- Aleksey A. Pristavka** – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology, Bioengineering and Bioinformatics, Irkutsk State University, e-mail: pristavk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0724-8565>
- Valentina L. Mikhailenko** – Cand. Sc. (Chem.), Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology, Bioengineering and Bioinformatics of Irkutsk State University, e-mail: mival63@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2278-2990>
- Olga F. Vyatchina** – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Microbiology, Irkutsk State University, e-mail: olgairk3@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2205-1971>
- Galina V. Yurinova** – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology, Bioengineering and Bioinformatics, Irkutsk State University, e-mail: yurinova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2266-6068>
- Svetlana I. Verkhoturova** – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Unsaturated Heteroatomic Compounds, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: verkhoturova@irioch.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0297-1981>
- Konstantin A. Apartsin** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer at the Department of Medical and Biological Researches and Technologies, Irkutsk Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: dr.apartsin@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0003-0577-9001>
- Valentina P. Salavarova** – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department of Physicochemical Biology, Bioengineering and Bioinformatics, Irkutsk State University, e-mail: vsalavarova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3693-9058>

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

КОРРЕКЦИЯ ЭКСТРАКТОМ *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DC. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТИМУСЕ И СЕЛЕЗЁНКЕ МЫШЕЙ ПРИ ЦИКЛОФОСФАНОВОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

РЕЗЮМЕ

Разуваева Я.Г.,
Хобракова В.Б.,
Тугарина Ю.А.,
Оленников Д.Н.

ФГБУН «Институт общей
и экспериментальной биологии»
СО РАН (670047, г. Улан-Удэ,
ул. Сахьяновой, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Разуваева Янина Геннадьевна,
e-mail: tatur75@mail.ru

Цель работы. Определение влияния экстракта сухого *R. uniflorum* на морфофункциональное состояние тимуса и селезёнки при экспериментальной циклофосфановой иммуносупрессии.

Материалы и методы. Исследования проведены на мышах-самцах линии F1 (СВАхС57Бл/6) с исходной массой 18–20 г. Циклофосфан-ЛЭНС (ООО «Верофарм», Россия) в дозе 250 мг/кг вводили животным однократно внутрибрюшинно. Экстракт сухой *R. uniflorum* в дозе 100 мг/кг вводили *per os* животным в течение 14 дней. На 16-е сутки тимус и селезёнку фиксировали в формалине для проведения гистологических исследований. На микропрепаратах измеряли общую площадь тимуса, площадь коркового и мозгового вещества, толщину соединительно-тканной капсулы и площадь белой и красной пульпы селезёнки. В корковом веществе тимуса подсчитывали плотность распределения клеток, а также оценивали клеточный состав.

Результаты. Установлено, что экстракт *R. uniflorum* увеличивает общую площадь тимуса и кортико-медуллярный индекс на 37 и 26 % ($p \leq 0,05$) соответственно. В корковом веществе плотность распределения клеток увеличивается, в мозговом веществе – снижается, вследствие этого ни у одного животного опытной группы не отмечается «инверсии слоёв». В корковом веществе увеличивается число пролиферирующих лимфоцитов, бластов и больших лимфоцитов, а также снижается число макрофагов и клеток с деструкциями. В селезёнке относительный объём белой пульпы выше на 39 %, чем в контроле.

Выводы. Экстракт сухой *R. uniflorum* оказывает иммунокорригирующее действие на морфофункциональное состояние тимуса и селезёнки при циклофосфановой иммуносупрессии.

Ключевые слова: *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC., экстракт сухой, тимус, селезёнка, циклофосфан, иммуносупрессия

Статья получена: 14.02.2022
Статья принята: 23.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Разуваева Я.Г., Хобракова В.Б., Тугарина Ю.А., Оленников Д.Н. Коррекция экстрактом *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. морфофункциональных изменений в тимусе и селезёнке мышей при циклофосфановой иммуносупрессии. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 114-121. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.12

CORRECTION OF MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN MICE THYMUS AND SPLEEN BY *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DC. EXTRACT AT CYCLOPHOSPHAMIDE IMMUNOSUPPRESSION

ABSTRACT

Razuvaeva Ya.G.,
Khobrakova V.B.,
Tugarina Yu.A.,
Olennikov D.N.

Institute of General and Experimental biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Sakhyanova str. 6, Ulan-Ude 670047, Russian Federation)

Corresponding author:
Yanina G. Razuvaeva,
e-mail: tatur75@mail.ru

The aim of the study is to evaluate the effect of *R. uniflorum* dry extract on morphofunctional state of mice thymus and spleen at cyclophosphamide immunosuppression.

Materials and methods. The experiments were carried out on F1 (CBAxC57Bl/6) mice 18–20 g of weight. Immune deficiency was simulated by a single intraperitoneal introduction of cyclophosphamide in the dose 250 mg/kg. *R. uniflorum* dry extract in the dose 100 mg/kg was administered per os for 14 days. The thymus and spleen were fixed for histological studies on day 16. The thymus total area, the cortex and medulla area, the connective tissue capsule thickness, the spleen white and red pulp area were used to measure on micropreparations stained with hematoxylin-eosin and azure-eosin. The cell density and the cellular composition were calculated in the thymus cortical substance.

Results. The *R. uniflorum* extract increased the thymus total area and the cortico-medullary index by 37 and 26 % ($p \leq 0.05$), respectively. The cells density increased in the cortical substance, it decreased in the medulla, as a result “layer inversion” is not observed in any animal of the experimental group. The number of proliferating lymphocytes, blasts and large lymphocytes increased; the number of destructive cells and macrophages decreased in the cortical substance. The spleen white pulp relative volume was 39 % higher than in the control.

Conclusions. The *R. uniflorum* dry extract had an immunocorrective effect on the thymus and spleen morphofunctional state at cyclophosphamide immunosuppression.

Key words: *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC., dry extract, thymus, spleen, cyclophosphamide, immunosuppression

Received: 14.02.2022
Accepted: 23.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Razuvaeva Ya.G., Khobrakova V.B., Tugarina Yu.A., Olennikov D.N. Correction of morphofunctional changes in mice thymus and spleen by *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. extract at cyclophosphamide immunosuppression. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 114-121. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.12

В настоящее время использование цитостатиков в онкологии, трансплантологии и при лечении аутоиммунных болезней приводит к развитию значительного количества побочных эффектов, при этом снижается качество жизни больных, ограничивается применение иммунодепрессивной терапии, вплоть до её полной отмены, что является важной медицинской проблемой [1, 2]. В связи с этим, актуальным является поиск лекарственных препаратов, нивелирующих нежелательные эффекты химиотерапии, в том числе и иммуносупрессию. Альтернативой в коррекции побочных эффектов цитостатиков могут стать растительные препараты, обладающие на фоне низкой токсичности способностью стимулировать реакции иммунитета при морфофункциональных нарушениях иммунной системы [3–5].

В качестве иммунокорригирующего средства растительного происхождения интерес представляет левзея одноцветковая – *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. Ранее нами было установлено, что экстракт сухой, полученный из надземной части *R. uniflorum*, восстанавливает показатели клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, вызванном циклофосфаном [6]. Учитывая, что органы иммуногенеза проявляют выраженную реакцию в ответ на иммуносупрессивное влияние цитостатиков [6, 7], актуальным является исследование особенностей коррекции экстрактом *R. uniflorum* структурных изменений тимуса и селезёнки в условиях экспериментальной иммуносупрессии.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить влияние экстракта сухого из надземной части *R. uniflorum* на морфофункциональное состояние тимуса и селезёнки при экспериментальной циклофосфадновой иммуносупрессии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на мышах-самцах линии F1 (СВАхС57Bl/6) с исходной массой 18–20 г. Животных содержали в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP) и приказом МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Эксперименты проведены в соответствии с «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей». Протокол исследования согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (№ 2 от 05.11.2017).

Животные, соответствующие критериям включения в эксперимент (возраст, масса, пол), распределялись на три группы: интактная, контрольная и опытная. Циклофосфан-ЛЭНС (ООО «Верофарм», Россия) в дозе 250 мг/кг вводили однократно внутрибрюшинно животным контрольной и опытной групп. Животным опытной группы со второго дня вводили *per os* водный раствор

экстракта сухого *R. uniflorum* в дозе 100 мг/кг один раз в сутки в течение 14 дней. Животные контрольной и интактной групп получали дистиллированную воду в эквивалентном объёме по аналогичной схеме.

На 16-е сутки тимус и селезёнку фиксировали в 10%-м забуференном растворе формалина, далее органы проводили по стандартной гистологической проводке. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также азур-эозином. На микрофотографиях тимуса с помощью компьютерной программы «ZEN 2012» (Германия) замеряли площади долек, мозгового и коркового слоёв, а также толщину соединительно-тканной капсулы. Кортико-медуллярный индекс вычисляли по отношению площади коркового вещества к площади мозгового вещества. В субкапсулярной зоне и средних слоях коркового вещества вычисляли плотность распределения клеток на 1500 мкм², а также оценивали клеточный состав, подсчитывая количество эпителиоретикулоцитов, лимфобластов, больших, средних и малых лимфоцитов, клеток с фигурами митоза, деструктивно изменённых клеток и макрофагов. На микропрепаратах селезёнки определяли площади белой и красной пульпы и вычисляли их относительные значения.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., США). Статистические различия оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости *p* < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что на фоне применения цитостатика наблюдается выраженная гипоплазия тимуса, характеризующаяся снижением массы органа, площади его коркового и мозгового слоёв, а также уменьшением плотности клеток. При микроскопическом изучении тимуса контрольных животных выявлено, что строма органа отёчная, капсула разволокнена, и в ней отмечаются адипоциты. По данным морфометрических исследований, средний размер капсулы в контроле на 39 % превышает интактный показатель (рис. 1). В мозговом веществе наблюдаются дилатация и кровенаполнение сосудов. Паренхима органа имеет однотонный цвет, отсутствует контраст между корковым и мозговым веществом, вследствие снижения количества тимоцитов в корковом (на 21–29 %) и увеличения клеточной инфильтрации в мозговом слое (на 20 %) (рис. 2). Граница между корковым и мозговым веществами нечёткая.

Данные морфометрических исследований свидетельствуют, что однократное введение циклофосфана способствует снижению площади тимуса на 39 % (*p* ≤ 0,05) относительно таковой у животных интактной группы. При этом снижение размеров тимуса происходит, в основном, за счёт уменьшения размеров коркового вещества (на 37 %, *p* ≤ 0,05), чем мозгового вещества (на 25 %). Кортико-медуллярный индекс в контроле составляет 1,9 ± 0,53, что на 24 % ниже показателя

в интактной группе. Данные результаты свидетельствуют об акцидентальной инволюции тимуса и соответствуют результатам других авторов, показавших, что введение цитостатиков способствует уменьшению размеров органа, инверсии слоёв и снижению плотности клеток, за счёт усиления процессов некроза и апоптоза тимоцитов, а также снижения их пролиферации и дифференцировки [8–10].

При анализе клеточного состава коркового вещества установлено, что введение цитостатика способствует снижению пролиферативной активности тимоцитов и усилию процессов апоптоза и некроза (рис. 3).

Так, в субкапсулярной и средней зонах коры тимуса контрольных животных количество бластов снижается на 80 и 54 %, больших лимфоцитов – на 71 и 73 %, число клеток с деструктивными изменениями увеличивается в 2,8 и 2,4 раза соответственно по сравнению с показателями интактных животных. В корковом веществе контрольных животных число макрофагов повышается в 2,3–2,6 раза по сравнению с аналогичным показателем у животных интактной группы, что свидетельствует об активации макрофагальной реакции.

Установлено, что курсовое введение животным экстракта *R. uniflorum* ограничивает акцидентальную инво-

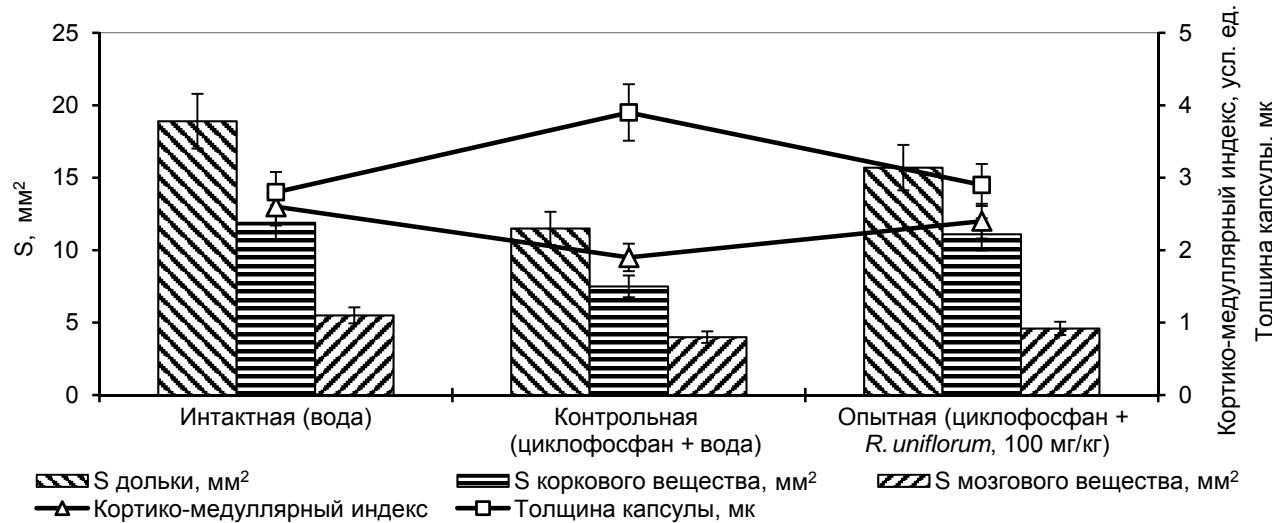


РИС. 1.

Морфометрические показатели тимуса мышей на фоне применения экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* при циклофосфамидной иммуносупрессии

FIG. 1.

Effect of *Rhaponticum uniflorum* dry extract on the mice thymus morphometric parameters by cyclophosphamide immunosuppression

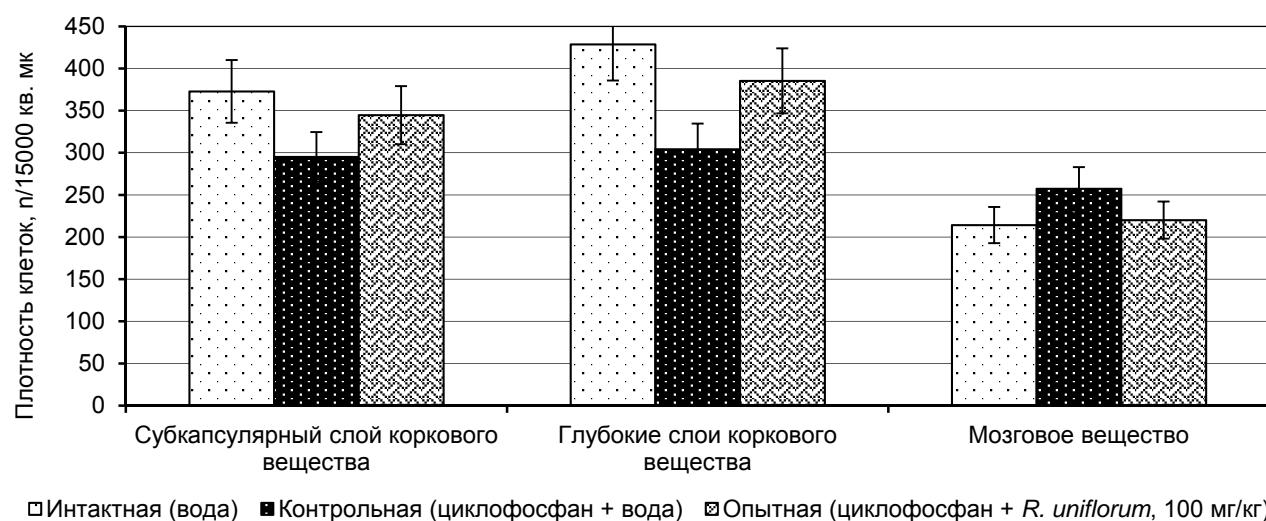


РИС. 2.

Влияние экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* на плотность распределения клеток в тимусе мышей при циклофосфамидной иммуносупрессии

FIG. 2.

Effect of *Rhaponticum uniflorum* dry extract on cell distribution density in mice thymus by cyclophosphamide immunosuppression

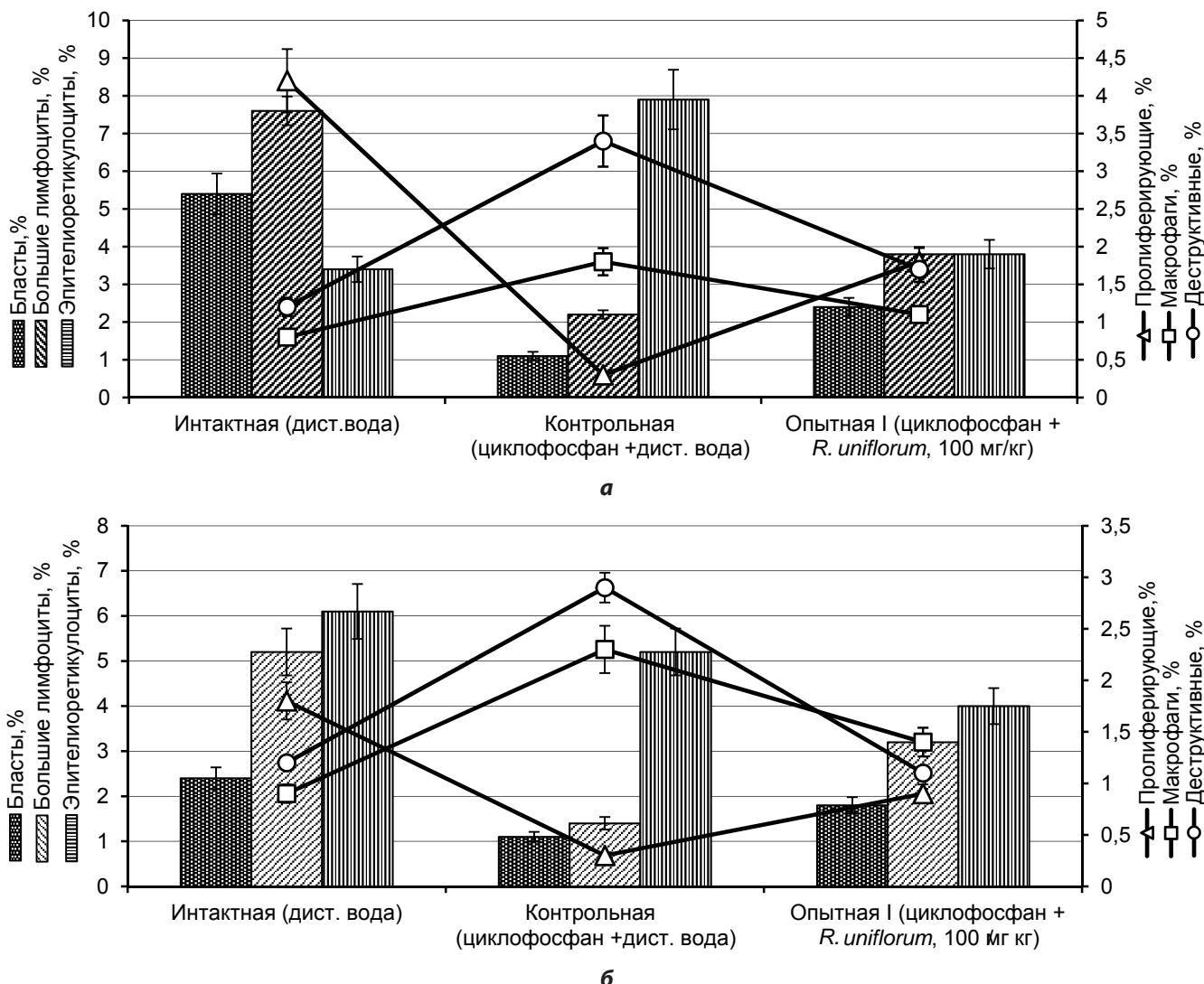


РИС. 3.

Клеточный состав коркового вещества тимуса мышей на фоне применения экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* при циклофосфановой иммуносупрессии: **а** – субкапсуллярная зона; **б** – средние слои

люцию тимуса и ускоряет в нём репаративные процессы. Так, у животных, принимавших экстракт *R. uniflorum*, в основном, за счёт увеличения площади коркового вещества (на 48 %; $p \leq 0,05$), общая площадь долек тимуса увеличивается на 37 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольным показателем. Кортико-медуллярный индекс составляет $2,43 \pm 0,22$, что на 26 % выше такового в контрольной группе (рис. 1). Вследствие увеличения количества плотности тимоцитов в субкапсуллярной зоне (на 17 %) и в средних слоях коркового вещества (на 27 %), а также снижения данного показателя в мозговом веществе (на 14 %) относительно контроля, кортико-медуллярная граница выглядит чёткой, «инверсии слоёв» не отмечается ни у одного животного опытной группы (рис. 2).

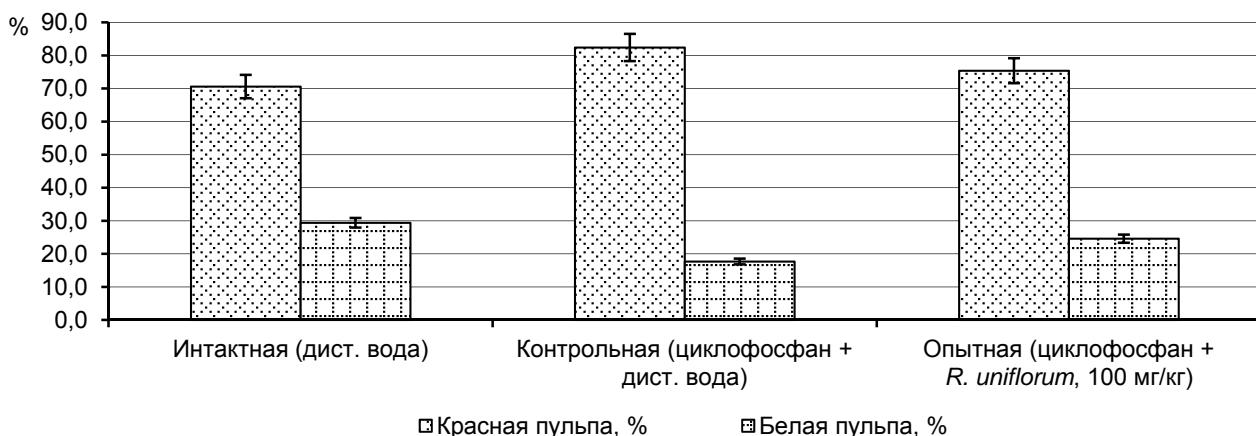
Увеличение плотности клеток в корковом веществе тимуса животных опытной группы обусловлено усиленiem репаративных и снижением деструктивных про-

цессов (рис. 3). Так, у животных, получавших исследуемый экстракт, в субкапсуллярной области и средних слоях коркового вещества увеличивается число бластов соответственно в 2,2 и 1,6 раза, больших лимфоцитов – в 1,7 и 2,3 раза, пролиферирующих лимфоцитов – в 6,0 и 3,0 раза, и снижается число клеток с деструкциями – в 2,0 и 1,6 раза, а также макрофагов – на 39 и 32 % по отношению к контрольным показателям.

Микроскопические исследования показали, что селезёнка мышей покрыта фиброзной капсулой и перитонеальным мезотелием; от фиброзной капсулы отходят соединительнотканые trabекулы, пронизывающие паренхиму органа, в состав которой входят красная и белая пульпа. Последняя представляет собой совокупность лимфоидных узелков тёмно-синего цвета и составляет в среднем одну третью часть от общей площади органа. У всех животных интактной группы в лимфоидных узелках хорошо выражен

FIG. 3.

Influence of *Rhaponticum uniflorum* dry extract on the mice thymus cortex cellular composition by cyclophosphamide immunosuppression: **a** – subcapsular zone; **б** – middle layers

**РИС. 4.**

Влияние экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* на морфометрические показатели селезёнки при циклофосфановой иммуносупрессии

центр размножения, периартериальная лимфоидная мицита, чётко ограниченные мантийной зоной из малых лимфоцитов.

Однократное введение циклофосфана-ЛЭНС в дозе 250 мг/кг способствует формированию структурных изменений в селезёнке, характеризующихся гемодинамическими нарушениями и инволюцией белой пульпы селезёнки. Так, у животных контрольной группы относительный объём белой пульпы составляет $17,6 \pm 1,38\%$ от общей площади органа, против $29,4 \pm 2,96\%$ в интактной группе (рис. 4). Центры размножения не отмечались ни у кого из животных контрольной группы. Вследствие снижения пролиферативной активности лимфоцитов и их апоптоза снижается плотность распределения клеток, и окраска фолликула становится светлой и однородной. В лимфоидных фолликулах нет чёткого разграничения на мантийную и маргинальную зоны. Аналогичные результаты получены другими исследователями [11, 12], показавшими, что цитостатики оказывают цитотоксическое действие, что характеризуется снижением плотности клеток в иммунных органах экспериментальных животных.

У животных опытной группы, получавших экстракт сухой *R. uniflorum*, структурные изменения в селезёнке менее выражены, чем у контрольных животных. Общая площадь белой пульпы больше на 39 %, чем в контроле. Лимфоидные узелки имеют правильную овальную или круглую форму с формирующими в них центрами размножения. У 50 % животных единично встречаются вторичные лимфоидные узелки, с чётким разделением на зоны.

Установленная в ходе экспериментальных исследований способность экстракта сухого *R. uniflorum* ограничивать на фоне циклофосфановой иммуносупрессии развитие инволютивных процессов в тимусе и селезёнке, обусловлена наличием в составе широкого спектра биологически активных веществ. Так, по данным И.А. Гольдиной и соавт. (2020), комплекс биофлавоноидов угнетает супрессивное влияние циклофосфана на спонтанную

FIG. 4.

Influence of *Rhaponticum uniflorum* dry extract on spleen morphometric parameters by cyclophosphamide immunosuppression

пролиферативную активность клеток селезёнки и митоген-индуцированную пролиферацию тимоцитов. Другими исследователями показано, что экстракт *Rhizopora apiculata*, содержащий комплекс флавоноидов, нивелирует гипоплазию тимуса и селезёнки при циклофосфановой иммуносупрессии [13]. Тriterпеноид милиацин ослабляет цитотоксическое действие химиотерапии и способствует более быстрому восстановлению морфофункционального состояния красного костного мозга и селезёнки [14].

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт *R. uniflorum* в дозе 100 мг/кг способствует нормализации морфофункционального состояния тимуса и селезёнки на фоне циклофосфановой иммуносупрессии. Исследуемый экстракт ограничивает деструктивные процессы, некроз и апоптоз тимоцитов и спленоцитов, усиливает их пролиферативную активность и дифференцировку и тем самым увеличивает объёмную долю лимфоидной ткани.

Финансирование

Исследования проведены в рамках выполнения темы госзадания по проекту FWSM-2021-0005 (№ госрегистрации 121030100227-7).

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar PP, Kukunuri DK, Neelima P. A review on chemotherapy induced toxicities: Challenges in their management. *Inte-*

national Journal of Clinical Pharmacokinetics and Medical Sciences. 2021; 1(1): 1-9. doi: 10.26452/ijcpms.v1i1.178

2. Schirrmacher V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (review). *Int J Oncology*. 2019; 54(2): 407-419. doi: 10.3892/ijo.2018.4661

3. Liu Y-Q, Wang X-L, He D-H, Cheng Y-X. Protection against chemotherapy- and radiotherapy-induced side effects: A review based on the mechanisms and therapeutic opportunities of phytochemicals. *Phytomedicine*. 2021; 80: 153402. doi: 10.1016/j.phymed.2020.153402

4. Yu J, Dong X-D, Jiao J-S, Ji H-Y, Liu A-J. Antitumor and immunoregulatory activities of a novel polysaccharide from *Astragalus membranaceus* on S180 tumor-bearing mice. *Int J Biol Macromol*. 2021; 189: 930-938. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.08.099

5. Хобракова В.Б., Тугарина Ю.А., Торопова А.А., Оленников Д.Н., Абидуева Л.Р. Влияние экстракта сухого левзеи однокветковой на состояние иммунной и антиоксидантной систем организма при экспериментальном иммунодефиците. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2022; 25(1): 43-49. doi: 10.29296/25877313-2022-01-07

6. Nakahara T, Uchi H, Lesokhin AM, Avogadri F, Rizzuto GA, Hirschhorn-Cyberman D, et al. Cyclophosphamide enhances immunity by modulating the balance of dendritic cell subsets in lymphoid organs. *Blood*. 2010; 115(22): 4384-4392. doi: 10.1182/blood-2009-11-251231

7. Бобрышева И.В. Изменение ультраструктуры тимуса белых крыс после введения циклофосфана. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2013; 12(4): 63-69.

8. Железнов Л.М. Особенности цитоархитектоники тимуса лабораторных животных при иммуносупрессии. *Український морфологічний альманах*. 2015; 13(3-4): 57-59.

9. Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.П., Прокудин В.С. Иммуноморфологические особенности тимуса крыс на фоне введения цитостатика в эксперименте. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2016; 12(1): 12-14.

10. Бобрышев И.В. Морфологические особенности белой пульпы селезёнки крыс в условиях экспериментальной иммуносупрессии. *Молодий вчений*. 2015; 2-6(17): 581-584.

11. Кащенко С.А., Золотаревская М.В. Морфометрические показатели селезёнки крыс после введения циклофосфана. *Український морфологічний альманах*. 2011; 9(2): 31-33.

12. Гольдина И.А., Маркова Е.В., Орловская И.А., Топоркова Л.Б., Козлов В.А. Корригирующие эффекты оригинального комплекса биофлавоноидов при циклофосфан-индуцированных нарушениях иммунитета. *Медицинская иммунология*. 2020; 22(6): 1111-1120. doi: 10.15789/1563-0625-CEO-2072

13. Prabhu VV, Guruvayoorappan C. Evaluation of immunostimulant activity and chemoprotective effect of mangrove *Rhizophora apiculata* against cyclophosphamide induced toxicity in BALB/c mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2012; 34(4): 608-615. doi: 10.3109/08923973.2011.642883

14. Железнова А.Д., Железнов Л.М., Штиль А.А., Фролов Б.А. Морфологические проявления защитного влияния милиацина в органах иммуногенеза при действии метотрексата. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007; 144(10): 458-463.

REFERENCES

1. Kumar PP, Kukunuri DK, Neelima P. A review on chemotherapy induced toxicities: Challenges in their management. *International Journal of Clinical Pharmacokinetics and Medical Sciences*. 2021; 1(1): 1-9. doi: 10.26452/ijcpms.v1i1.178
2. Schirrmacher V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (review). *Int J Oncology*. 2019; 54(2): 407-419. doi: 10.3892/ijo.2018.4661
3. Liu Y-Q, Wang X-L, He D-H, Cheng Y-X. Protection against chemotherapy- and radiotherapy-induced side effects: A review based on the mechanisms and therapeutic opportunities of phytochemicals. *Phytomedicine*. 2021; 80: 153402. doi: 10.1016/j.phymed.2020.153402
4. Yu J, Dong X-D, Jiao J-S, Ji H-Y, Liu A-J. Antitumor and immunoregulatory activities of a novel polysaccharide from *Astragalus membranaceus* on S180 tumor-bearing mice. *Int J Biol Macromol*. 2021; 189: 930-938. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.08.099
5. Hobrakova VB, Tugarina YuA, Toropova AA, Olennikov DN, Abidueva LR. Influence of dry leuzea uniflorum extract on the state of the body's immune and antioxidant systems in experimental immunodeficiency. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2022; 25(1): 43-49. (In Russ.). doi: 10.29296/25877313-2022-01-07
6. Nakahara T, Uchi H, Lesokhin AM, Avogadri F, Rizzuto GA, Hirschhorn-Cyberman D, et al. Cyclophosphamide enhances immunity by modulating the balance of dendritic cell subsets in lymphoid organs. *Blood*. 2010; 115(22): 4384-4392. doi: 10.1182/blood-2009-11-251231
7. Bobrysheva IV. Changes in the ultrastructure of the thymus of white rats after the administration of cyclophosphamide. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2013; 12(4): 63-69. (In Russ.).
8. Zheleznov LM. Features of cytoarchitectonics of laboratory animals' thymus at immunosuppression. *Ukrains'kiy morfologichniy al'manakh*. 2015; 13(3-4): 57-59. (In Russ.).
9. Lebedinskaya EA, Lebedinskaya OV, Godovalov AP, Prokudin VS. Immuno-morphological features of the rat's thymus at the experimental administration of cytostatics. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2016; 12(1): 12-14. (In Russ.).
10. Bobryshev IV. Morphological features of the white pulp of the spleen of rats under conditions of experimental immunosuppression. *Young Scientist*. 2015; 2(17): 581-584. (In Russ.).
11. Kashchenko SA, Zolotarevskaya MV. Morphometric indices of rats' spleen after injection of cyclophosphamide. *Ukrains'kiy morfologichniy al'manakh*. 2011; 9(2): 31-33. (In Russ.).
12. Gol'dina IA, Markova EV, Orlovskaya IA, Toporkova LB, Kozlov VA. Corrective effects of original bioflavonoid complex in the cyclophosphamide-induced immunity disorders. *Medical Immunology (Russia)*. 2020; 22(6): 1111-1120. (In Russ.). doi: 10.15789/1563-0625-CEO-2072
13. Prabhu VV, Guruvayoorappan C. Evaluation of immunostimulant activity and chemoprotective effect of mangrove *Rhizophora apiculata* against cyclophosphamide induced toxicity in BALB/c mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2012; 34(4): 608-615. doi: 10.3109/08923973.2011.642883
14. Zheleznova AD, Zheleznov LM, Shtil' AA, Frolov BA. Morphological manifestations of the protective effect of miliacin in the organs of immunogenesis under the action of methotrexate. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007; 144(10): 458-463. (In Russ.).

Сведения об авторах

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: tatur75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7829-1424>

Хобракова Валентина Бимбаевна – доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией экспериментальной фармакологии, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: val0808@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4689-5706>

Тугарина Юлия Алексеевна – аспирант, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: ytugarina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4606-7214>

Олеников Даниил Николаевич – доктор фармакологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: olennikovdn@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8194-1061>

Information about the authors

Yanina G. Razuvaeva – Dr. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology SB RAS, e-mail: tatur75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7829-1424>

Valentina B. Khobrakova – Dr. Sc. (Biol.), Docent, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Institute of General and Experimental Biology SB RAS, e-mail: val0808@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4689-5706>

Yuliya A. Tugarina – Postgraduate, Institute of General and Experimental Biology SB RAS, e-mail: ytugarina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4606-7214>

Daniil N. Olennikov – Dr. Sc. (Pharm.), Senior Research Officer at the Laboratory of Biomedical Research, Institute of General and Experimental Biology SB RAS, e-mail: olennikovdn@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8194-1061>

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ АЛКОГОЛЬНОЙ И ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

РЕЗЮМЕ

Майбогин А.М.¹,
Недзьведь М.К.²,
Корнев Н.В.³

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца»

Минздрава России (105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Россия)

² УО «Белорусский государственный медицинский университет» (220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83, Республика Беларусь)

³ УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» (220045, г. Минск, ул. Семашко, 8, корп. 8, Республика Беларусь)

Автор, ответственный за переписку:
Майбогин Артемий Михайлович,
e-mail: uvb777@rambler.ru

Обоснование. Печёночная энцефалопатия является актуальной проблемой современной медицины. Вместе с тем, её патогенез и гистологическая картина в настоящее время остаются недостаточно изученными. Ещё меньше известно о влиянии на них природы основного печёночного заболевания. Это определяет актуальность морфологических исследований головного мозга на поздних стадиях цирроза печени различной этиологии.

Цель исследования. Установить и сопоставить морфологические изменения головного мозга при циррозе печени алкогольной и вирусной (вирус гепатита С) этиологии.

Материалы и методы. Проведено морфологическое исследование головного мозга 40 умерших от цирроза в исходе хронической HCV-инфекции и 23 умерших от алкогольного цирроза. Изучены гистологические изменения в различных отделах мозга с применением обзорной и элективных окрасок. В случаях HCV-инфекции проведено иммуногистохимическое исследование для определения экспрессии антигенов HCVNS3 и CD68 в различных отделах мозга.

Результаты. В основе морфологической картины поражения мозга в материале из обеих исследованных групп лежат патологические изменения нейронов, глии и мелких церебральных сосудов, что соответствует классическим представлениям о патогенезе печёночной энцефалопатии. Вместе с тем в каждой группе наблюдался ряд морфологических особенностей, наиболее яркие из которых касались проявлений глиальной реакции. В группе алкогольного цирроза преобладали продуктивные изменения клеток макроглии с появлением множественных альцгеймеровских астроцитов II типа, а также спонгиоформные изменения в белом веществе. В отличии от этого, при циррозе в исходе HCV-инфекции обращали на себя внимание реактивные изменения клеток микроглии по типу микроглиоза в белом веществе мозга.

Заключение. Показаны особенности гистологических изменений головного мозга на терминальных стадиях заболевания печени алкогольной и вирусной этиологии. Это позволяет расширить существующие представления о морфологической картине печёночной энцефалопатии, что может быть использовано при изучении её патогенеза.

Ключевые слова: печёночная энцефалопатия, вирус гепатита С, алкогольный цирроз печени, мозг, глия, морфологические изменения

Статья получена: 05.02.2022

Статья принята: 29.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Майбогин А.М., Недзьведь М.К., Корнев Н.В. Морфологические изменения головного мозга при циррозе печени алкогольной и вирусной этиологии. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 122-130. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.13

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRAIN IN LIVER CIRRHOSIS OF ALCOHOLIC AND VIRAL ETIOLOGY

ABSTRACT

Maybogin A.M.¹,
Nedzvedz M.K.²,
Kornev N.V.³

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases (Sadovaya-Chernogryazskaya str. 14/19, Moscow 105064, Russian Federation)

² Belarusian State Medical University (Dzerzhinskogo ave. 83, Minsk 220116, Republic of Belarus)

³ City Clinical Pathological and Anatomical Bureau (Semashko str. 8, corpus 8, Minsk 220045, Republic of Belarus)

Corresponding author:
Artemij M. Maybogin,
e-mail: uvb777@rambler.ru

Background. Hepatic encephalopathy is an actual problem of modern medicine. However, its pathogenesis and histological picture are currently insufficiently studied. Less is known about the impact of the nature of primary liver disease on pathogenesis and histological picture of hepatic encephalopathy. This determines the relevance of further morphological studies of the brain in the late stages of liver cirrhosis of various etiologies.

The aim. To establish and compare the morphological changes in the brain in alcoholic liver cirrhosis and viral (hepatitis C virus (HCV) cirrhosis.

Materials and methods. The morphological study of the brain of 40 deceased in outcome of HCV-associated cirrhosis and 23 patients died in outcome of chronic alcoholism was carried out. Histological changes in various parts of the brain were studied using survey and elective stains. The immunohistochemical study of HCV NS3 and CD68 expression in different brain regions was performed in cases of HCV-infection.

Results. The changes of neurons, glial cells and cerebral microvessels underlie in the basis of morphological picture of brain damage in both studied groups underlie that corresponds to the "classical" model of hepatic encephalopathy pathogenesis. At the same time, a number of morphological features were observed. The most prominent differences concerned the manifestations of the glial reaction. The productive changes of macroglial cells with the appearance of multiple Alzheimer's astrocytes type 2 as well as spongious changes in subcortical white matter dominated in the observations of alcoholic cirrhosis. In contrast, microglia cells reaction (microgliosis) in white matter was noticed in HCV-associated cirrhosis.

Conclusions. The differences in histological signs of brain in the terminal stages of liver disease of viral and alcoholic etiology are shown. They broaden current idea of morphological picture of hepatic encephalopathy, and may be used to study its pathogenesis.

Key words: hepatic encephalopathy, hepatitis C virus, alcoholic liver cirrhosis, brain, glia, morphological changes

Received: 05.02.2022

Accepted: 29.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Maybogin A.M., Nedzvedz M.K., Kornev N.V. Morphological changes in the brain in liver cirrhosis of alcoholic and viral etiology. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 122-130. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.13

ВВЕДЕНИЕ

Поздние стадии заболевания печени, связанные с формированием портосистемного шунта, сопровождаются нарушением функционирования различных органов и систем, в т. ч. головного мозга. Развивающаяся при этом печёночная энцефалопатия (ПЭ) характеризуется широким спектром когнитивных, психопатологических и неврологических нарушений, выраженность которых варьирует от субклинических проявлений до комы. Данная патология является частым и одним из наиболее тяжёлых проявлений цирроза печени, которое вызывает существенное снижение качества жизни больных и сопряжено с высокими рисками смертности и рецидива. Проявления ПЭ, включая её так называемую «минимальную» форму, у больных с циррозом печени различной этиологии достигает 80 % и более. Однако её патогенез в настоящее время остаётся недостаточно изученным [1–4]. Как отмечает Американская и Европейская ассоциация по изучению болезней печени (AASLD/EASL), «данные по нарушениям работы мозга, обусловленным основным заболеванием печени, немногочисленны. Исключение составляют такие заболевания, как алкоголизм и гепатит С» [1]. В связи с этим представляется актуальным дальнейшее изучение морфологических изменений мозга при указанных заболеваниях.

При алкогольном циррозе печени головной мозг является одним из главных органов-мишеней. Известно, что при злоупотреблении алкоголем базальный печёночный метаболизм оказывается повышенным, и в кровь поступают метаболиты алкоголя, прежде всего ацетальдегид. Морфогенез алкогольного повреждения мозга в первую очередь заключается в поражении мелких церебральных сосудов, астроцитов и нейронов, следствием чего является развитие характерной психической и неврологической симптоматики [5–7].

Распространённость HCV-ассоциированного поражения мозга у инфицированных достигает 50 %. Установлено, что вирус проникает в головной мозг по механизму «тロянского коня», минуя гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) в моноцитах периферической крови, которые принимают участие в регенерации клеток микроглии и, таким образом, являются основным источником вирусной репликации в мозге [8, 9]. В основе развития церебральных расстройств при хронической HCV-инфекции лежит поражение клеток эндотелия мелких сосудов циркулирующими в плазме частицами вируса, цитокинами, антителами и иммунными комплексами, следствием чего является нарушение проницаемости ГЭБ. Это обуславливает депонирование в веществе мозга антител и иммунокомпетентных клеток, что в свою очередь инициирует запуск воспалительных и аутоиммунных реакций в различных церебральных отделах. Особое значение при этом приобретает эксайтотоксическое повреждение нейронов клетками микроглии, активированными под воздействием HCV. Наиболее распространёнными церебральными проявлениями у инфицированных являются снижение когнитивной функции, депрессивные расстройства и различные невро-

логические нарушения, следствием которых является ухудшение их качества жизни. Особенностью данной симптоматики является то, что её проявления не зависят от степени печёночного фиброза, показателей вирусной нагрузки и иных факторов, что отличает последнюю от церебральных расстройств при других заболеваниях печени [8, 10–12].

Уточнение существующих данных о морфологических изменениях головного мозга при циррозе печени различной этиологии будет способствовать изучению патогенеза ПЭ и созданию более эффективных подходов к её диагностике и лечению [1, 2].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить и сопоставить морфологические изменения головного мозга при циррозе печени алкогольной и вирусной (HCV) этиологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован секционный материал, историю болезни и протоколы вскрытий, собранные на базе УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» (г. Минск) и ГУЗ «Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро». Проведено морфологическое исследование головного мозга 63 умерших, которые были разделены на две отдельные группы. Первую группу составили 40 умерших от цирроза печени в исходе хронического вирусного гепатита С в возрасте от 35 до 76 лет; медиана возраста – 47,0 (45,0–49,0) лет. Диагноз основного заболевания во всех случаях был подтверждён молекулярно-генетическими методами согласно действующим клиническим протоколам. Длительность заболевания у всех инфицированных составляла не менее 5 лет. Показатели индекса степени склероза печени (по Desmet, 1994) в каждом случае составляли 16 баллов (цирроз) [13]. Непосредственными причинами смерти в данной группе явились острая постгеморрагическая анемия ($n = 12$), гепаторенальный синдром ($n = 27$) и острое нарушение мозгового кровообращения ($n = 1$) [11–12]. Вторую группу составили 23 умерших от цирроза печени алкогольной этиологии в возрасте от 33 до 68 лет; медиана возраста – 48,0 (48,0–52,0) лет. Летальный исход был обусловлен печёночно-клеточной недостаточностью ($n = 20$), острой сердечной недостаточностью ($n = 2$) и сепсисом ($n = 1$). Оценку стадии заболевания проводили с применением шкалы A. Ishak и соавт. (1995), показатели которой во всех наблюдениях составили 6 баллов (стадия цирроза) [14].

Для гистологического исследования вырезали кусочки из лобной (поле Бродмана 10) и височной (поле Бродмана 21) долей больших полушарий и подлежащего белого вещества, подкорковых ядер (*n. lentiformis*), мозжечка (включая зубчатое ядро) и ствола мозга (на уровне олив). После стандартной проводки и за-

ливки в парафин готовили срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, крезилвиолетом по Нисслю, на миelin по Клювер – Баррера, пикрофуксином по Ван-Гизону и на микроглию по методу Миягава – Александровской. В материале мозга при хронической HCV-инфекции также определяли иммуногистохимическую экспрессию вирусного белка HCV NS3 (клон МММ 33) и CD68 (микроглия, клон KP1) с использованием иммуногистостейнера Leica Bond и коммерческих моноклональных антител согласно протоколу компании-производителя [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

При макроскопическом исследовании головного мозга в наблюдениях алкогольного цирроза печени отмечались признаки атрофии коры больших полушарий: извилины были истончены, плотно прилегали к твёрдой мозговой оболочке, борозды углублены. Отмечались очаги склероза мягкой мозговой оболочки. Масса мозга в этой группе составила $1257,45 \pm 83,17$ г. В подкорковых ядрах (ограда, бледный шар, хвостатое ядро) отмечались единичные мелкие полости до 2 мм в диаметре. В области таламуса и в перивентрикулярных зонах белого вещества наблюдались точечные кровоизлияния.

При гистологическом исследовании кора больших полушарий характеризовалась нарушением послойного и радиального строения (рис. 1). В верхних отделах коры в некоторых случаях имели место небольшие очаги стриарного некроза с перифокальной реакцией макроглии. Обращала на себя внимание деформация пирамидных нейронов III и V слоёв, которые имели оттеснённые к периферии ядра и длинные извитые апикальные дендриты. В части нейроцитов отмечались гиперхромия и сморщивание, встречались нейроны с признаками гидропической дистрофии и хроматолиза, а также отдельные клетки-тени. В слоях пирамидальных нейронов наблюдались небольшие очажки нейронофагии и клеточного разрежения. Мелкие сосуды коры характеризовались очаговой пролиферацией эндотелия, фиброзом стенок и выраженным отёком периваскулярных пространств (рис. 1).

Наблюдаемые изменения сопровождались появлением значительного количества дегенеративно изменённых астроцитов по типу глии Альцгеймера II типа (АГ II), отличавшихся отёчными ядрами с маргинализацией хроматина («голые» ядра) и резко редуцированной цитоплазмой (рис. 2а). В базальных ядрах отмечались проявления нейронофагии и наличие сморщенных нейронов на фоне значительного количества клеток АГ II и спонгиоза нейропиля. Сохранные нейроны имели признаки гомогенизации, гиперхромии, кариопикноза и перицеллюлярного отёка. Большинство нейроцитов имели признаки липопигментной дистрофии (рис. 2б). В подкорковом белом веществе выявлялись сливающиеся очаги спонгиоза, по периферии которых имелись набухшие нервные волокна и очаги астроци-

тарной пролиферации с наличием клеток альцгеймеровской глии (рис. 2в).

В коре мозжечка выявлялись ишемические изменения и выпадение грушевидных нейронов, а также очаги глиальной пролиферации. При этом сохранившиеся клетки Пуркинье характеризовались набуханием цитоплазмы и кариопикнозом (рис. 2г). Изменения нейронов зубчатых ядер имели менее выраженный характер и характеризовались признаками неспецифических дистрофических изменений в отдельных клетках. В области ствола мозга наблюдались отёк нейропиля и выпадение отдельных ядерных нейронов. Изменения мелких церебральных сосудов в подкорковых отделах, в т. ч. в стволе мозга, характеризовались дистрофическими изменениями эндотелия, гиалинозом, фокальным склерозом соудистой стенки и выраженным отёком периваскулярных пространств (рис. 2д).

В группе наблюдений HCV-ассоциированного цирроза масса мозга составляла $1296,4 \pm 96,56$ г. Извилины больших полушарий имели правильную форму по всем поверхностям. В области ствола мозга наблюдались точечные кровоизлияния.

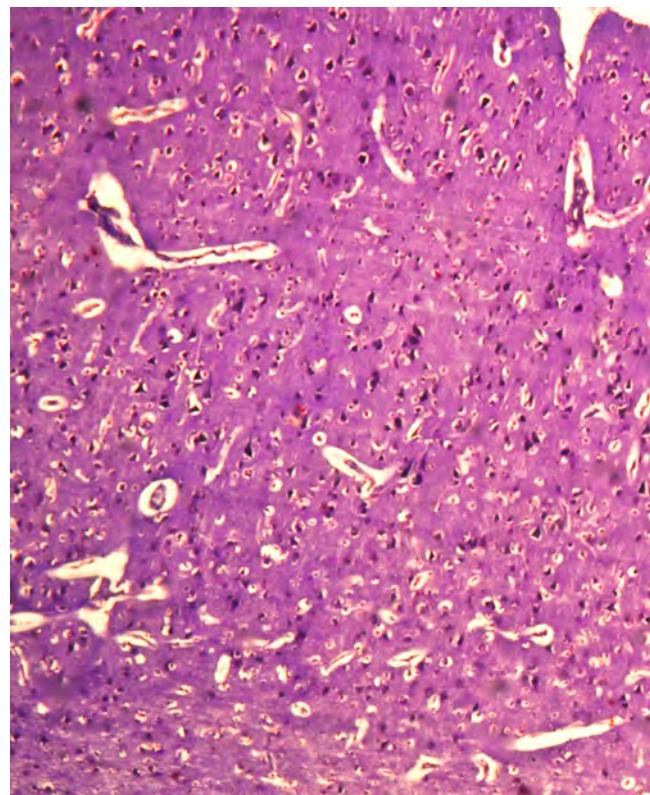


РИС. 1.

Нарушение гистоархитектоники, периваскулярный и перицеллюлярный отёк. Кора лобной доли при алкогольном циррозе печени. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$

FIG. 1.

Disorder of histoarchitectonics, perivascular and pericellular edema. Frontal cortex in alcoholic liver cirrhosis. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 200$

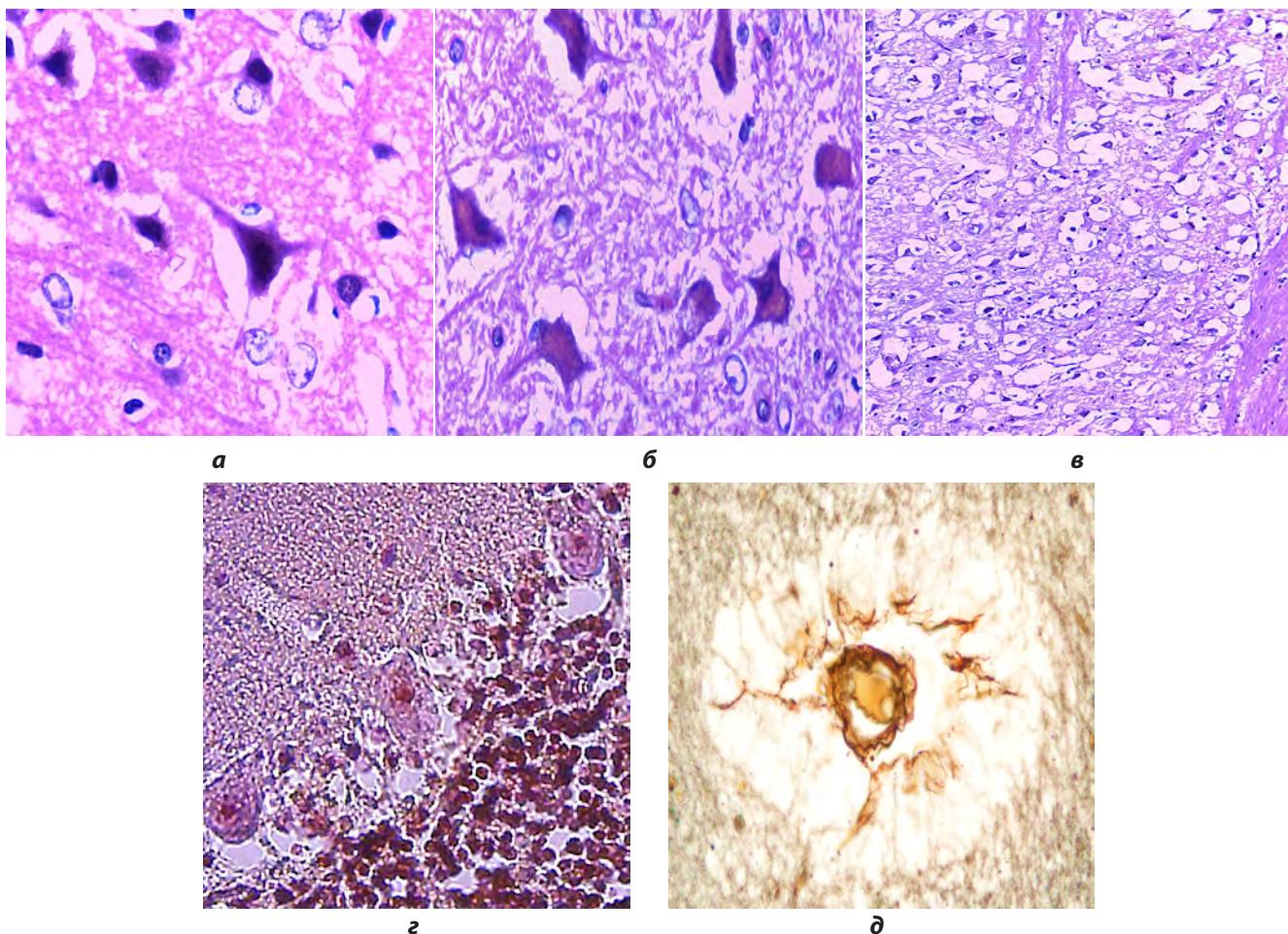


РИС. 2.

Морфологические изменения мозга при алкогольном циррозе печени. **а** – альцгеймеровские астроциты II типа среди нейронов с признаками гиперхромии и перицеллюлярного отёка. Чечевицеобразное ядро. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$. **б** – дистрофические изменения и липофусциноз нейронов подкорковых ядер. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$. **в** – отёк и спонгиоформные изменения в подкорковом белом веществе. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. **г** – отёк цитоплазмы и ядерные изменения в клетках Пуркинье на границе зернистого слоя мозжечка. Окраска по Нисслю, увеличение $\times 400$. **д** – периваскулярный отёк, фиброз стенки мелкого сосуда в белом веществе. Окраска по Ван-Гизону, увеличение $\times 400$

При микроскопическом исследовании кора больших полушарий в целом сохраняла послойное строение и радиальную исчерченность.

Во всех слоях наблюдались неспецифические дистрофические изменения нейронов по типу гидропической дистрофии, хроматолиза и сморщивания отдельных клеток. Это сопровождалось диффузной круглоклеточной воспалительной инфильтрацией и пролиферативными изменениями клеток макроглии, в т. ч. интенсивными проявлениями сателлитоза и нейронофагии (рис. 3, 4а). В результате на разных уровнях коры формировались мелкие очаги разрежения на ме-

FIG. 2.

Morphologic changes of the brain in alcoholic liver cirrhosis.
а – Alzheimer astrocytes type 2 among neurons with the signs of swelling and hyperchromia in n. lentiformis. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 400$. **б** – dystrophic changes and lipofuscinosis in neurons in basal nuclei. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 400$. **в** – swelling and spongiform transformation in white matter. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 400$. **г** – cytoplasm swelling and nuclear changes in Purkinje cells on the border with granular layer in cerebellum. Nissl staining, magnification $\times 400$. **д** – perivascular swelling and fibrosis microvascular wall in subcortical white matter. Staining by Van Gieson, magnification $\times 400$

сте отдельных нейронов или их групп. В подкорковом белом веществе при окраске на миелин наблюдались мелкие сливающиеся очажки облаковидной демиелинизации, нервные волокна в которых были в состоянии отёка и частичной деструкции (рис. 4б). При ИГХ-исследовании в этих зонах обращало на себя внимание значительное количество $CD68^+$ -клеток микроглии амёбOIDного типа, которые формировали множественные узелковые скопления в белом веществе (рис. 4в, г). Во всех случаях в клетках микроглии отмечалась цитоплазматическая экспрессия вирусного белка HCV NS3 (рис. 4д).

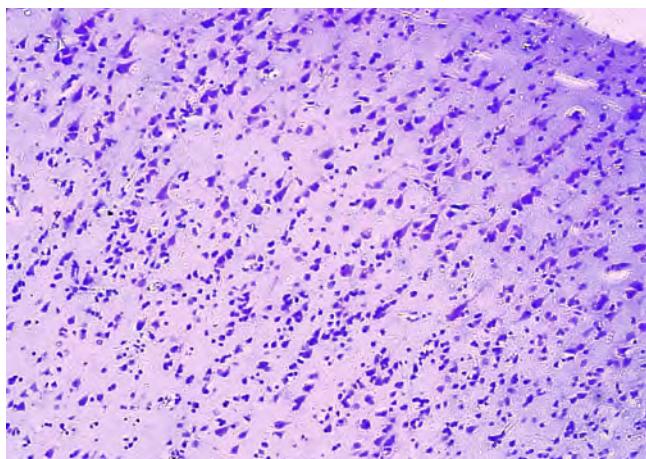
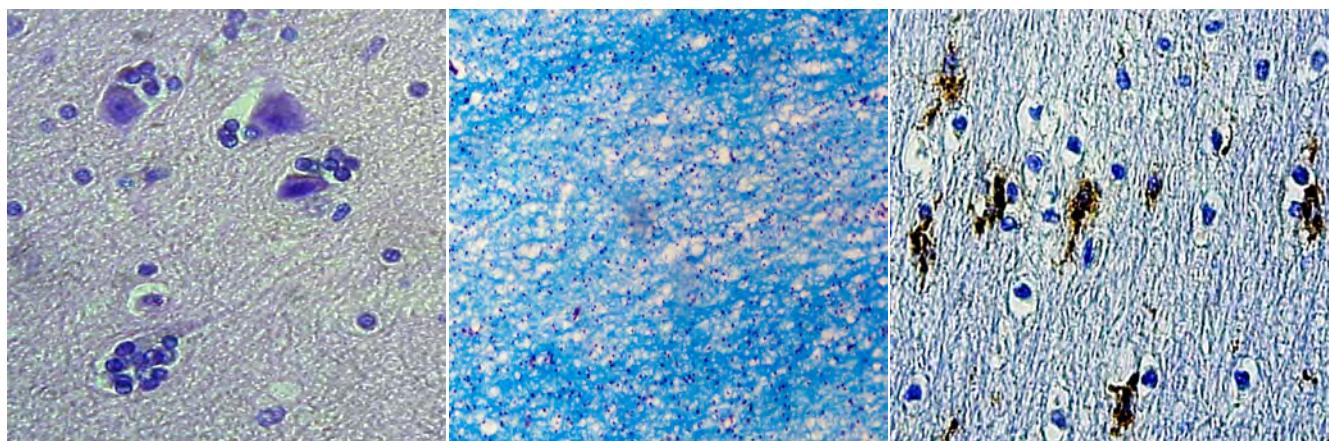


РИС. 3.

Круглоклеточная воспалительная инфильтрация в области коры лобной доли при циррозе в исходе хронической HCV-инфекции. Окраска по Нисслю, увеличение $\times 200$

FIG. 3.

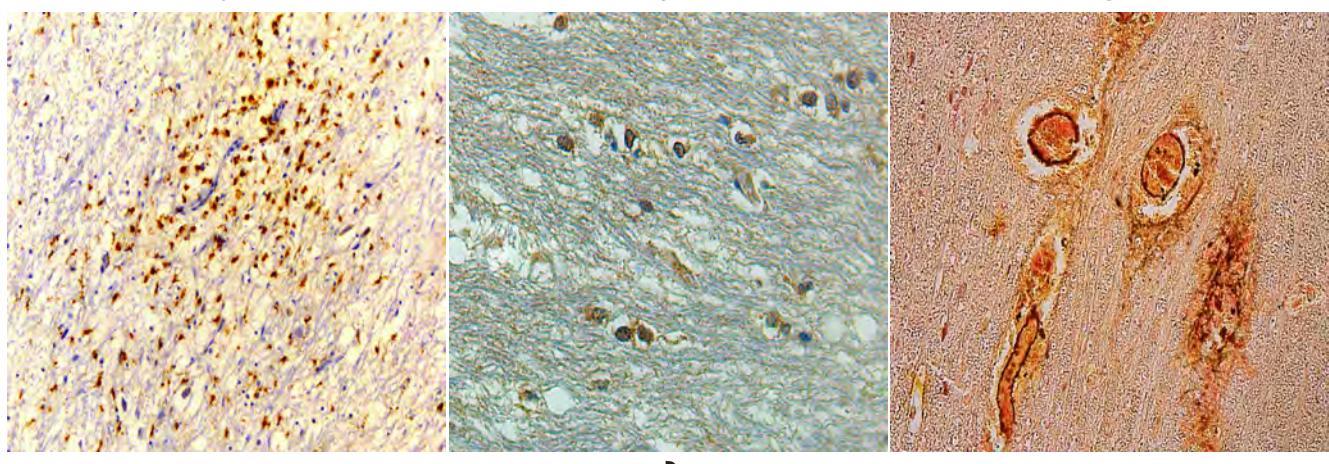
Round cell infiltration in frontal cortex in HCV-associated cirrhosis. Nissl staining, magnification $\times 200$



а

б

в



г

д

е

РИС. 4.

Морфологические изменения мозга при HCV-ассоциированном циррозе печени. **а** – нейронофагия в области коры лобной доли. Окраска по Нисслю, увеличение $\times 400$. **б** – демиелинизация в глубоких слоях подкоркового белого вещества. Окраска по Клювер – Баррера, увеличение $\times 200$. **в** – амёбOIDные клетки микроглии в белом веществе мозга. ИГХ-реакция с антителами к CD68, увеличение $\times 1000$. **г** – микроглиальный узелок в подкорковом белом веществе. ИГХ-реакция с антителами к CD68, увеличение $\times 200$. **д** – HCV-позитивные клетки микроглии в подкорковом белом веществе. ИГХ-реакция с антителами к HCV NS3, увеличение $\times 400$. **е** – деструкция стенок мелких сосудов с развитием периваскулярных кровоизлияний в области ствола мозга. Окраска по Ван-Гизону, увеличение $\times 200$

FIG. 4.

Morphologic changes of the brain in HCV-associated liver cirrhosis. **а** – neuronophagia in frontal cortex. Nissl staining, magnification $\times 400$. **б** – demyelination in subcortical white matter. Klüver – Barrera staining, magnification $\times 200$. **в** – ameboid microglia cells in white matter. ICH reaction with antibodies to CD68, magnification $\times 1000$. **г** – microglial nodule in subcortical white matter. ICH reaction with antibodies to CD68, magnification $\times 100$. **д** – HCV-positive microglial cells in subcortical white matter. ICH reaction with antibodies to HCV NS3, magnification $\times 400$; **е** – destruction of the walls of small vessel with perivascular microhemorrhages in brain stem. Van Gieson staining, magnification $\times 200$

В нейронах подкорковых ядер выявлялись неспецифические дистрофические изменения по типу гиперхроматоза и острого набухания, а также сморщеные клетки в небольшом количестве. В мозжечке изменения обнаруживались преимущественно в нейронах ядер, где они имели сходный характер с таковыми в подкорковых ганглиях. При этом не было выявлено грубых изменений грушевидных нейронов и признаков бергмановского глиоза, более характерных для алкогольной энцефалопатии, болезни Вильсона – Коновалова и приобретённой гепатоцеребральной дегенерации [7, 16]. Изменения нейронов в области ствола мозга характеризовались признаками острого набухания, гиперхромии и центрального хроматолиза. В ядрах ствола отмечалось выпадение отдельных нейронов и формирование глиальных узелков на месте погибших клеток. В ряде наблюдений в стволовых отделах отмечалась деструкция стенок мелких сосудов с развитием кольцевидных кровоизлияний (рис. 4е).

ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании головного мозга из обеих исследованных групп наблюдались изменения нейронов, клеток глии, мелких церебральных сосудов и нейропиля, что свидетельствовало о комплексном характере поражения вещества мозга при рассматриваемых заболеваниях [2, 5–7, 17]. Вместе с тем проведённое исследование показало, что наблюдаемые изменения обнаруживали определённые различия в зависимости от этиологии процесса. Изменения нейронов, наблюдавшиеся при алкогольном циррозе печени, имели более выраженный характер в области коры больших полушарий и подкорковых ядер и характеризовались признаками «хронического заболевания» по классификации Нисселя. Такие клетки имели сморщенный гиперхромный вид, отмечались отдельные клетки-тени. В части нейронов наблюдались признаками липофусциноза. Характерным признаком явились дистрофические изменения и выпадение грушевидных клеток коры мозжечка. Наблюдаемые изменения согласуются с известными данными о развитии церебральной атрофии (преимущественно в лобных долях) и структурных изменениях коры мозжечка при хронической алкогольной интоксикации [5–7].

В отличии от этого, при хронической HCV-инфекции преобладали признаки «тяжёлого заболевания нейронов» с гомогенизацией цитоплазмы, деформацией клеточных контуров, гиперхромией ядер и хроматолизом. Структурные изменения нейронов серого вещества больших полушарий в этой группе сопровождались интенсивными проявлениями сателлитоза, нейронофагии и круглоклеточной воспалительной инфильтрации.

Как при алкогольном, так и при вирусном циррозе в мозге выявлялась выраженная глиальная реакция, которая, однако, имела свои особенности в каждой из исследованных групп. Так, при алкогольном циррозе преобладали пролиферативные и дистрофические изменения астроцитов, в т. ч. появление множественных клеток АГ II, которые обнаруживались в области коры больших

полушарий, подкоркового белого вещества и базальных ядер. «Печёночная глия» является характерным морфологическим признаком ПЭ и представляет собой дегенеративно изменённые астроциты, которые являются единственными клетками, способными метаболизировать аммиак в мозге [2, 5, 6, 16]. В противоположность этому, при HCV-ассоциированном циррозе доминировали продуктивные изменения клеток микроглии (фагоцитарная трансформация, формирование узелков в белом веществе). Данные изменения соответствуют тканевой реакции по типу микроглиоза, развитие которого при хронической HCV-инфекции представляет собой морфологический эквивалент активации инфицированных вирусом гепатита С клеток микроглии. Последнее в свою очередь рассматривается как один из ведущих патогенетических факторов развития когнитивной дисфункции у инфицированных [8, 10–12, 15].

Изменения белого вещества в наблюдениях алкогольного цирроза сочетали в себе признаки очаговой дегенерации миелиновых волокон в сочетании со спонгиозом и персистирующим отёком периваскулярных пространств. По-видимому, в определённой степени этому способствовали альтеративные изменения и гибель астроцитов, обладающих опорной функцией, под воздействием этанола [5–7, 16]. В отличии от этого, в случаях HCV-инфекции проявления демиелинизации сопровождались выраженной круглоклеточной воспалительной инфильтрацией и микроглиозом [12, 15]. Это согласуется с данными литературы о развитии аутоиммунной демиелинизации у инфицированных вследствие повреждения и дисфункции ГЭБ. Повреждение миелиновых волокон в глубоких подкорковых отделах рассматривается как причина развития энцефалопатической симптоматики у инфицированных [10–11].

Изменения церебральных сосудов в обеих группах включали альтеративные и склеротические изменения эндотелия и структур стенки, что в наиболее выраженных случаях являлось причиной развития микрофокальных кровоизлияний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование показало, что в основе морфологической картины поражения головного мозга при алкогольном и HCV-ассоциированном циррозе печени лежат патологические изменения глио-ангионейронального комплекса, которые имели некоторые различия в зависимости от типа основного заболевания печени. Наиболее яркие из них касались проявлений глиальной реакции, которая является характерным морфологическим признаком ПЭ [2, 16, 17]. Показано, что при циррозе алкогольной этиологии в мозге преобладали продуктивные изменения астроцитов, включая появление множественных альцгеймеровских астроцитов II типа, а также спонгиоформные изменения в сером и белом веществе. В отличии от этого, при циррозе в исходе HCV-инфекции отмечалась пролиферация клеток микроглии по типу микроглиоза в белом веществе мозга.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. American Association for the Study of Liver Diseases, European Association for the Study of the Liver. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J Hepatol.* 2014; 60(2): 715-735. doi: 10.1016/j.jhep.2014.05.042
2. Rose CF, Amodio P, Bajaj JS, Dhiman RK, Montagnese S, Taylor-Robinson SD, et al. Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy. *J Hepatology.* 2020; 73(6): 1526-1547. doi: 10.1016/j.jhep.2020.07.013
3. Weissenborn K. Minimal/covert hepatic encephalopathy – impact of comorbid conditions. *J Clin Exp Hepatol.* 2019; 9(1): 109-111. doi: 10.1016/j.jceh.2018.08.010
4. Дамулин И.В. Минимальная печёночная энцефалопатия: современные клинические и патогенетические аспекты. *Терапевтический архив.* 2018; 90(2): 88-93. doi: 10.26442/terarkh201890289-93
5. Никифоров И.И., Ракитин М.М., Меркин А.Г., Аронов П.В., Костюк Г.П., Савельев Д.В. и др. Неврологические осложнения алкоголизма. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2017; 9(4): 95-100. doi: 10.14412/2074-2711-2017-4-95-100
6. Пауков В.С., Воронина Т.М., Кириллов Ю.А., Малышева Е.М. Структурно-функциональные основы алкогольной болезни. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2018; 28(5): 7-17. doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-5-7-17
7. Balzano T, Forteza J, Borreda I, Molina P, Giner J, Leone P, et al. Histological features of cerebellar neuropathology in patients with alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2018; 77(9): 837-845. doi: 10.1093/jnen/nly061
8. Wilkinson J, Radkowski M, Laskus T. Hepatitis C virus neuroinvasion: Identification of infected cells. *J Virol.* 2009; 83(3): 1312-1319. doi: 10.1128/JVI.01890-08
9. Ginhoux F, Lim S, Hoeffel G, Low D, Huber T. Origin and differentiation of microglia. *Front Cell Neurosci.* 2013; 7: 45. doi: 10.3389/fncel.2013.00045
10. Moretti R, Giuffrè M, Merli N, Caruso P, Di Bella S, Tiribelli C, et al. Hepatitis C virus-related central and peripheral nervous system disorders. *Brain Sci.* 2021; 11(12): 1569. doi: 10.3390/brainsci11121569
11. Yarlott L, Heald E, Forton D. Hepatitis C virus infection, and neurological and psychiatric disorders – a review. *J Adv Res.* 2017; 8(2): 139-148. doi: 10.1016/j.jare.2016.09.005
12. Pflugrad H, Meyer GJ, Dirks M, Raab P, Tryc AB, Goldbecker A, et al. Cerebral microglia activation in hepatitis C virus infection correlates to cognitive dysfunction. *J Viral Hepat.* 2016; 23(5): 348-357. doi: 10.1111/jvh.12496
13. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology.* 1994; 19(6): 1513-1520.
14. Ishak A, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol.* 1995; 22(6): 696-699. doi: 10.1016/0168-8278(95)80226-6
15. Майбогин А.М., Недзведь М.К. Микроглиоз в белом веществе головного мозга при хронической HCV-инфекции: морфологическое исследование. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2019; 11(3): 49-56. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-49-56
16. Гуловская Т.С., Чайковская Р.П., Ануфриев П.Л. Патоморфология головного мозга при гепатолентикулярной дегенерации (болезни Вильсона – Коновалова). *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2020; 14(2): 50-61. doi: 10.25692/ACEN.2020.2.7
17. Claeyns W, Van Hoecke L, Lefere S, Geerts A, Verhelst X, Van Vlierberghe H, et al. The neurogliovascular unit in hepatic encephalopathy. *JHEP Rep.* 2021; 3(5): 100352. doi: 10.1016/j.jhepr.2021.100352

REFERENCES

1. American Association for the Study of Liver Diseases, European Association for the Study of the Liver. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J Hepatol.* 2014; 60(2): 715-735. doi: 10.1016/j.jhep.2014.05.042
2. Rose CF, Amodio P, Bajaj JS, Dhiman RK, Montagnese S, Taylor-Robinson SD, et al. Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy. *J Hepatology.* 2020; 73(6): 1526-1547. doi: 10.1016/j.jhep.2020.07.013
3. Weissenborn K. Minimal/covert hepatic encephalopathy – impact of comorbid conditions. *J Clin Exp Hepatol.* 2019; 9(1): 109-111. doi: 10.1016/j.jceh.2018.08.010
4. Damulin IV. Minimal hepatic encephalopathy: current clinical and pathogenetic aspects. *Terapevticheskii archiv.* 2018; 2: 88-93 (In Russ.). doi: 10.26442/terarkh201890289-93
5. Nikiforov II, Rakitin MM, Merkin AG, Aronov PV, Kostyuk GP, Savel'yev DV, et al. Neurological complications of alcoholism. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2017; 9(4): 95-100. (In Russ.). doi: 10.14412/2074-2711-2017-4-95-100
6. Paukov VS, Voronina TM, Kirillov YuA, Malysheva EM. Structural and functional fundamentals of alcoholic disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2018; 28(5): 7-17. (In Russ.). doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-5-7-17
7. Balzano T, Forteza J, Borreda I, Molina P, Giner J, Leone P, et al. Histological features of cerebellar neuropathology in patients with alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2018; 77(9): 837-845. doi: 10.1093/jnen/nly061
8. Wilkinson J, Radkowski M, Laskus T. Hepatitis C virus neuroinvasion: Identification of infected cells. *J Virol.* 2009; 83(3): 1312-1319. doi: 10.1128/JVI.01890-08
9. Ginhoux F, Lim S, Hoeffel G, Low D, Huber T. Origin and differentiation of microglia. *Front Cell Neurosci.* 2013; 7: 45. doi: 10.3389/fncel.2013.00045
10. Moretti R, Giuffrè M, Merli N, Caruso P, Di Bella S, Tiribelli C, et al. Hepatitis C virus-related central and peripheral nervous system disorders. *Brain Sci.* 2021; 11(12): 1569. doi: 10.3390/brainsci11121569
11. Yarlott L, Heald E, Forton D. Hepatitis C virus infection, and neurological and psychiatric disorders – a review. *J Adv Res.* 2017; 8(2): 139-148. doi: 10.1016/j.jare.2016.09.005

12. Pflugrad H, Meyer GJ, Dirks M, Raab P, Tryc AB, Goldbecker A, et al. Cerebral microglia activation in hepatitis C virus infection correlates to cognitive dysfunction. *J Viral Hepat.* 2016; 23(5): 348-357. doi: 10.1111/jvh.12496
13. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology.* 1994; 19(6): 1513-1520.
14. Ishak A, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol.* 1995; 22(6): 696-699. doi: 10.1016/0168-8278(95)80226-6
15. Maybogin AM, Nedzved MK. Microgliosis in white matter of the brain in chronic HCV-infection: Morphological study. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders.* 2019; 11(3): 49-56. (In Russ.). doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-49-56
16. Gulevskaya TS, Chaykovskaya RP, Anufriev PL. Cerebral pathology in hepatolenticular degeneration (Wilson disease). *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2020; 14(2): 50-61. (In Russ.). doi: 10.25692/ACEN.2020.2.7
17. Claeys W, Van Hoecke L, Lefere S, Geerts A, Verhelst X, Van Vlierberghe H, et al. The neurogliovacular unit in hepatic encephalopathy. *JHEP Rep.* 2021; 3(5): 100352. doi: 10.1016/j.jhepr.2021.100352

Сведения об авторах

Майбогин Артемий Михайлович – врач-патологоанатом отдела патологической анатомии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, e-mail: uvb777@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1582-2106>

Недзведь Михаил Константинович – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: bsmu@bsmu.by

Корнев Николай Владимирович – заместитель начальника по медицинской части, УЗ «Городское патологоанатомическое бюро»

Information about the authors

Artemij M. Maybogin – Pathologist at the Department of Pathology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, e-mail: uvb777@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1582-2106>

Mikhail K. Nedzvedz – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Pathological Anatomy, Belarusian State Medical University, e-mail: bsmu@bsmu.by

Nikolay V. Kornev – Deputy Chief Medical Officer, City Clinical Pathological and Anatomical Bureau, Minsk, e-mail: gkpb@gkpbminsk.by

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕЖИМОВ РАДИОЧАСТОТНОЙ ЦИРКУЛЯРНОЙ ДЕНЕРВАЦИИ ЛЁГОЧНОЙ АРТЕРИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ (ЖИВОТНЫЕ, СВИНЫ)

РЕЗЮМЕ

Трофимов Н.А.,
Никольский А.В.,
Родионов А.Л.,
Егоров Д.В.,
Суркова Т.В.

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»
(428015, г. Чебоксары, Московский пр-т,
15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Никольский Александр Викторович,
e-mail: yahtingman@rambler.ru

Цель исследования. Оценка влияния режимов радиочастотного циркулярного воздействия на морфологические параметры тканей лёгочного ствола в эксперименте на животных (свиньи).

Материал и методы. В экспериментах использовались беспородные свиньи – 3 группы по 4 животных в каждой. Первая экспериментальная группа включала 188 гистологических образцов лёгочной артерии (ЛА) после радиочастотного циркулярного воздействия на неё с помощью зажима-аблатора. Выполнялись две линии воздействия на лёгочный ствол и по две линии воздействия на каждое устье ЛА. Аблация выполнялась до достижения целевого уровня импеданса тканей между браншами аблатора, соответствующего значениям для трансмурального повреждения. Вторая экспериментальная группа включала 162 гистологических образца ЛА после выполнения циркулярной денервации лёгочного ствола и устьев обеих ЛА. Аблация завершалась по достижении 50%-го уровня импеданса относительно значений импеданса при трансмуральном повреждении. Третья группа (контрольная) включала 55 гистологических образцов ЛА, не подвергавшихся радиочастотному воздействию. Полученный материал изучался методом световой микроскопии, окраской гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону, а также методом импрегнации солями серебра по С. Рамону-и-Кахалю.

Заключение. Получены морфологические критерии необратимой деструкции нервных волокон и ганглиев адвенциального слоя лёгочного ствола и бифуркации ЛА при применении двух исследуемых режимов абляции. Циркулярная денервация ЛА с применением подпороговых мощностей радиочастотного воздействия позволила избежать необратимых повреждений нервных окончаний и ганглиев интимального слоя ЛА, тем самым сохранив физиологическую нейрорефлекторную регуляцию ЛА и всего малого круга кровообращения. Выключение каскада патологических рефлексов позволяет устраниить фактор прогрессирования лёгочной гипертензии, связанный с увеличением периферического сопротивления прекапиллярного звена лёгочных артериол.

Ключевые слова: вторичная лёгочная гипертензия, радиочастотная абляция, денервация лёгочных артерий, гистологическое исследование

Статья поступила: 18.02.2022
Статья принята: 07.11.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Трофимов Н.А., Никольский А.В., Родионов А.Л., Егоров Д.В., Суркова Т.В. Оценка морфологических критериев эффективности режимов радиочастотной циркулярной денервации лёгочной артерии в эксперименте (животные, свиньи). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 131-142. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.14

ASSESSMENT OF MORPHOLOGICAL CRITERIA FOR THE EFFICIENCY OF RADIOFREQUENCY CIRCUMFERENTIAL DENERVATION OF THE PULMONARY ARTERY IN THE EXPERIMENT (ANIMALS, PIGS)

ABSTRACT

Trofimov N.A.,
Nikolskiy A.V.,
Rodionov A.L.,
Egorov D.V.,
Surkova T.V.

Chuvash State University
(Moskovskiy ave 15, Cheboksary 428015,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexander V. Nikolsky,
e-mail: yahtingman@rambler.ru

The aim of the study. To assess the influence of radiofrequency circumferential exposure modes on the morphological parameters of the pulmonary artery tissues in animal experiment (pigs).

Material and methods. In the experiments, we used outbred pigs divided into 3 groups (4 animals in each). The first experimental group included 188 histological samples of the pulmonary arteries (PA) after radiofrequency circumferential exposure on the PA using an ablator clamp. Two lines of exposure on the PA and two lines of exposure on each PA mouth were performed. Ablation was performed until the target level of tissue impedance between the ablator branches corresponding to the values at transmural damage was reached. The second experimental group included 162 histological samples of the PA after circumferential denervation of pulmonary trunk and both PA mouths. Ablation was completed upon reaching 50 % impedance level relative to the impedance values at transmural damage. The third group (control) included 55 histological samples of PA without radiofrequency exposure. The material obtained was studied using light microscopy, hematoxylin and eosin and van Gieson's staining, and also by impregnation with silver salts according to S. Ramón y Cajal.

Conclusions. Morphological criteria for irreversible destruction of nerve fibers and ganglia of the pulmonary trunk adventitial layer and for PA bifurcation were obtained when using two studied ablation modes. Circumferential PA denervation using subthreshold power of radiofrequency exposure made it possible to avoid irreversible damage to the nerve endings and ganglia of the PA intimal layer and thus to preserve physiological neuroreflexory regulation of the PA and the entire pulmonary circulation. Turning off the cascade of pathological reflexes eliminates the factor of the progression of pulmonary hypertension associated with an increase in peripheral resistance of the pulmonary arterioles precapillary link.

Key words: secondary pulmonary hypertension, radiofrequency ablation, pulmonary arteries denervation, histological study

Received: 18.02.2022
Accepted: 07.11.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Trofimov N.A., Nikolskiy A.V., Rodionov A.L., Egorov D.V., Surkova T.V. Assessment of morphological criteria for the efficiency of radiofrequency circumferential denervation of the pulmonary artery in the experiment (animals, pigs). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 131-142. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.14

АКТУАЛЬНОСТЬ

В России, как и во всём мире, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) занимает первые строчки в статистических отчётах. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2019 г. от ССЗ умерло 17,5 млн человек, что составило 31 % от всех случаев смерти в мире [1]. Одним из актуальных вопросов сердечно-сосудистой хирургии остаётся лёгочная гипертензия (ЛГ) [2, 3].

ЛГ – гемодинамическое и патофизиологическое состояние, которое характеризуется повышением среднего давления в лёгочной артерии (ЛА) ≥ 25 мм рт. ст. в покое, измеренного при чрезвенозной катетеризации сердца [4]. Эпидемиология ЛГ затрагивает около 1 % населения; в возрасте старше 65 лет она встречается у 10 % пациентов [3]. Тем не менее, заболеваемость и распространённость различных клинических групп ЛГ существенно различаются [5, 6].

Первичная форма ЛГ опосредована мутацией в 2q33 хромосоме, ответственной за пролиферацию эндотелиальных клеток. Вторичная ЛГ является многофакторным заболеванием у пациентов с системным поражением левых камер сердца после перенесённых тромбоэмболий, хронических болезней дыхательной системы на фоне метаболических расстройств [4, 7, 8].

Классификация 2018 г. описывает 5 клинических вариантов ЛГ: лёгочная артериальная гипертензия; ЛГ, связанная с патологией левых камер сердца; ЛГ, ассоциированная с заболеваниями дыхательной системы и/или гипоксемией; хроническая тромбоэмболическая ЛГ и другие виды обструкции лёгочных артерий; ЛГ с неясными или множественными механизмами [3, 9, 10].

Повышенная активность симпатической нервной системы – один из универсальных механизмов, участвующих в патогенезе ЛГ [11, 12]. Согласно экспериментальным данным, при возрастании внутриартериального давления в лёгочной артерии и полном закрытии её просвета резко повышаются сопротивление и лёгочное давление [13–15]. При этом конечно-диастолическое давление в левом и правом желудочках, давление в аорте и сердечный выброс остаются неизменёнными. Выявленная закономерность позволяет предположить, что барорецепторы, обеспечивающие рефлекторную дугу пульмо-пульмонального рефлекса, расположены близко к бифуркации лёгочного ствола [5].

Гистологическое обоснование существования симпатических нервных структур в адвентициальном слое ЛА, регулирующих тонус лёгочных артериол и способствующих повышению давления в малом круге кровообращения, впервые было освещено группой авторов под руководством J. Osorio в 1962 г. [16]. Впоследствии эти результаты нашли своё подтверждение в трудах С. Е. Juratsch и соавт. [13] и B.G. Baylen [17]. По данным исследователей, 80 % симпатических нервов располагаются в проксимальном и дистальном отделах бифуркации лёгочного ствола (область бифуркации, устья правой и левой ЛА и участок лёгочного ствола < 2 мм до бифуркации) в пределах 2,5–3 мм от просвета. У свиней в проксималь-

ных сегментах лёгочного артериального дерева концентрируются нервные стволы крупного диаметра (более 300 мкм), а дистальные отделы в основном представлены нервными стволами меньшего диаметра, располагающимися на близком расстоянии от просвета (< 1 мм) [13]. Артериальные барорецепторы расположены в адвентициальном слое сосудистой стенки, поэтому важно селективно воздействовать на адвентициальную и частично – на медиальную оболочку для достижения полного прекращения функционирования этих рецепторов.

В 2013 г. S.L. Chen и соавт. впервые в эксперименте на животных (собаки) применили радиочастотную абляцию ЛА в зоне бифуркации лёгочного ствола. Непосредственные результаты хирургического вмешательства были обнадёживающими и способствовали значительному снижению лёгочной гипертензии [18].

Денервация лёгочных артерий является новым патогенетически обоснованным методом лечения. Процедура денервации может осуществляться методом радиочастотной абляции лёгочного ствола, в сосудистой стенке которого сконцентрирована большая часть нервных волокон симпатической нервной системы [19].

Следующим этапом развития метода денервации лёгочных артерий являются поиск и разработка высокоселективных и малоинвазивных методов деструкции симпатических нервных сплетений в адвентии ЛА без повреждения соседних анатомических структур, что и послужило поводом для нашего исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка влияния различных режимов радиочастотного циркулярного воздействия на морфологические параметры тканей лёгочного ствола в эксперименте на животных (свиньи).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовались беспородные свиньи. Работа с лабораторными животными осуществлялась согласно протоколу исследований в соответствии с Женевской конвенцией 1985 г. и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000) о гуманном отношении к животным. Получено заключение локального этического комитета № 10/Д-2019 от 25.06.2019.

Исследование включало анализ забранного материала от 12 животных. В ходе эксперимента были сформированы 3 группы по 4 животных в каждой. В первой и второй экспериментальных группах применялись два различных режима циркулярного радиочастотного воздействия на лёгочный ствол и ЛА соответственно.

Первая экспериментальная группа ($n = 4$) включала животных в состоянии внутривенного наркоза, которым выполнялась левосторонняя торакотомия с выделением лёгочного ствола. С применением зажима-аблатора проводилось циркулярное механическое пережатие лёгочного ствола и радиочастотное воздействие на стенки

сосуда при помощи встроенных в бранши электродов. Выполнялись по две линии абляционного воздействия на лёгочный ствол и по две линии воздействия на каждое устье ЛА с формированием 6 линий абляции (рис. 1, 2).

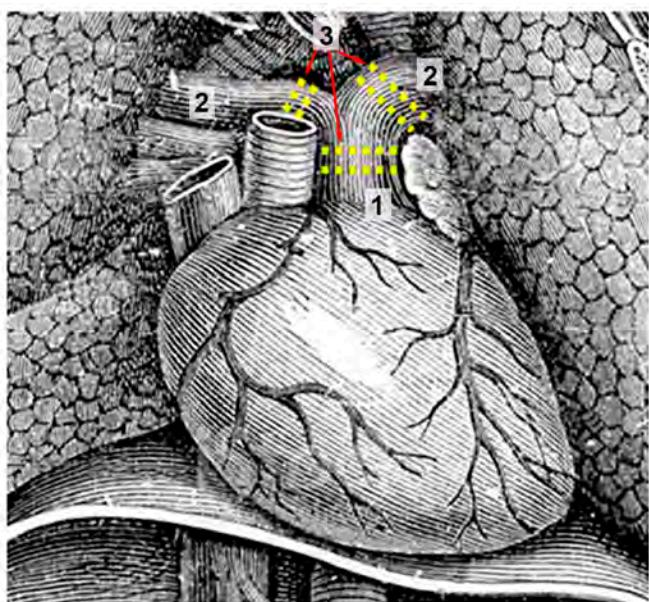


РИС. 1.

Схема циркулярной денервации ЛА [20]: 1 – лёгочный ствол; 2 – устья правой и левой ЛА; 3 – линии нанесения циркулярного абляционного воздействия (жёлтый пунктир)

FIG. 1.

Scheme of circular PA denervation: 1 – pulmonary trunk; 2 – right and left pulmonary arteries mouths; 3 – lines for applying circumferential ablation exposure (yellow dotted line)

Радиочастотное воздействие наносилось контролируемо; в эксперименте использовался аппаратный генератор с автоматической программацией выхода энергии (рис. 2). В момент абляции проводился постоянный

аппаратный контроль импеданса ткани с автоматическим отражением его в виде динамического графика, в том числе отражались расчётные границы предполагаемого уровня наступления трансмурального повреждения тканей. Абляция выполнялась до достижения целевого уровня импеданса тканей между браншами аблатора, соответствующего значениям для трансмурального повреждения. Через 2 часа после завершения циркулярной денервации ЛА выполнялся забор материала; далее все животные группы выводились из эксперимента. Изучался лёгочный ствол в области бифуркации на правую и левую его ветви (рис. 1).

Первая экспериментальная группа (ЭГ1) была представлена 188 гистологическими образцами и разбита на подгруппы ЭГ1А и ЭГ1Б. Деление на подгруппы было обусловлено тем, что во время выполнения циркулярного абляционного воздействия на ткани лёгочной артерии бранши зажима-аблатора неравномерно воздействуют на лёгочный ствол, формируя условные «краевые зоны» в областях дупликатуры сосуда (рис. 2). По этой причине мы посчитали целесообразным выделить в рамках 1-й экспериментальной группы две подгруппы соответственно областям воздействия. Подгруппа ЭГ1А содержала материал центральной области среза ЛА (92 гистологических образца). В подгруппу ЭГ1Б вошли препараты «краевой зоны» (96 гистологических образцов). Таким образом, в каждой из подгрупп ЭГ1 были представлены препараты от всех 4 исследуемых животных.

Вторая экспериментальная группа ($n = 4$) включала животных (свиней), которым в состоянии внутривенного наркоза выполнялась левосторонняя торакотомия с выделением ЛА и производилась циркулярная денервация лёгочного ствола и устьев обеих ЛА с формированием шести линий воздействия по описанной методике. Режим абляционного воздействия во 2-й экспериментальной группе контролировался по уровню импеданса тканей ЛА. Абляция завершалась по достижении 50%-го уровня импеданса относительно значений импе-

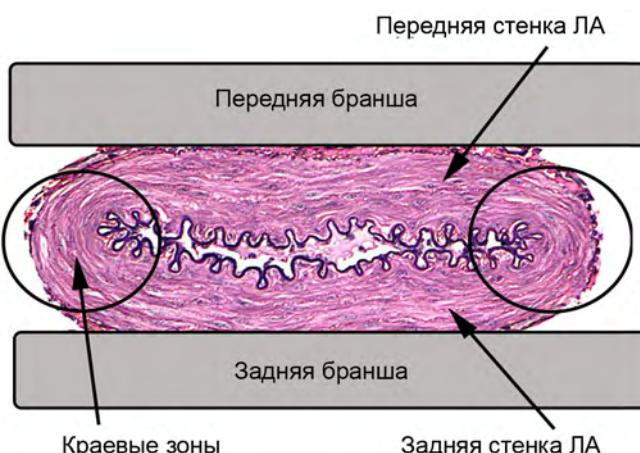


РИС. 2.

Фиксация стенок ЛА в браншах при их поперечном пережатии

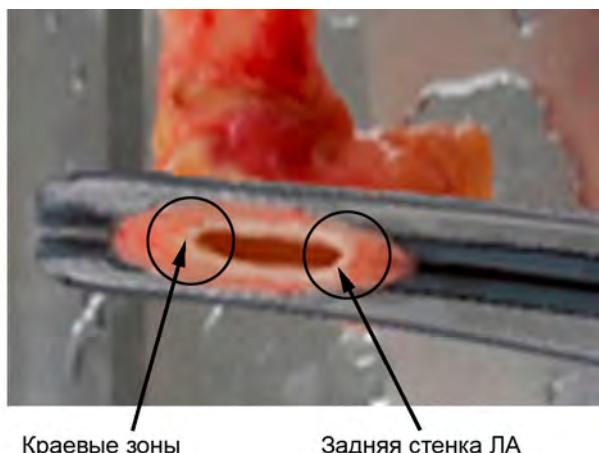
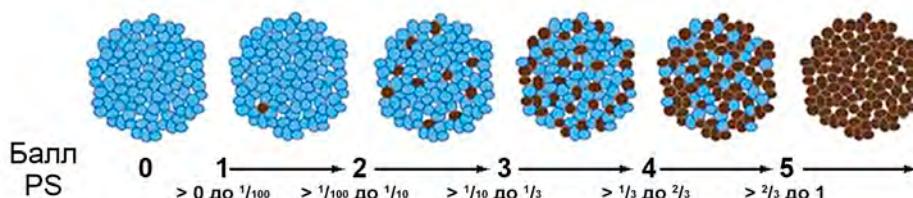


FIG. 2.

Fixation of the pulmonary artery walls in the branches during their transverse clamping

**РИС. 3.**

Система балльной оценки интенсивности окраски по Оллреду [22]

данса при трансмуральном повреждении. Через 2 часа после завершения циркулярной денервации ЛА выполнялся забор материала; далее все животные группы выводились из эксперимента. Проводился забор лёгочного ствола в области бифуркации на правую и левую его ветви (162 гистологических образца).

Вторая экспериментальная группа (ЭГ2) состояла из двух подгрупп: ЭГ2А – материал центральной области среза ЛА (76 гистологических образцов); ЭГ2Б – препараты срезов «краевой зоны» (86 гистологических образцов). В каждой из подгрупп ЭГ2 были представлены препараты от всех 4 исследуемых животных.

Третья группа – контрольная ($n = 4$) – включала материал 4 животных, которым проводился внутривенный наркоз с последующим выполнением левостороннего торакотомного доступа и забором образцов ЛА без выполнения циркулярного радиочастотного воздействия. Далее животные группы выводились из эксперимента (55 гистологических образцов).

В дальнейшем из полученных образцов ЛА формировались два среза, в каждом выделялось по 6 полей для визуального анализа. Дополнительно проводили до 10 повторных расчётов определения оптической плотности в каждом поле зрения. Материал ЛА после проведённого радиочастотного воздействия фиксировали в 10%-м растворе забуференного нейтрального формалина. Образцы обрабатывались в растворе в течение 36 часов при комнатной температуре [21].

Полученный материал изучался методом световой микроскопии (СМ), при помощи окраски гематоксилином и эозином; фиксировались типовые общие патологические процессы. Результаты световой микроскопии объективно демонстрировали глубину и степень изменений в тканях ЛА экспериментальных групп исследования после выполнения процедуры PADN в зависимости от режима выполнения радиочастотной абляции.

Окраской по Ван-Гизону определялись изменения в фиброзной и мышечной ткани. Далее проводилась импрегнация тканей солями серебра (по Сантьяго Рамону-и-Кахалю [21]) позволявшая визуализировать ретикулиновые волокна, стволы и окончания периферических нервных волокон в срезе ЛА.

Степень термоаблационного воздействия браншами зажима-аблатора на ткани лёгочной артерии оценивалась согласно балльному методу интенсивности окраски (полуколичественный анализ патологических процессов по Оллреду) (рис. 3).

FIG. 3.

Scoring system for color intensity according to Allred [22]

Наличие и выраженность патологических процессов рассчитывалась для каждого из десяти полей зрения. Возможность их математической оценки осуществлялась за счёт применения компьютерной морфометрии, прилагаемой на фотоснимках срезов препаратов, полученных фотоаппаратом Olympus SP350 в оптике микроскопа Leica СМЕ.

Статистическая оценка результатов проводилась с применением программного обеспечения SPSS Statistics 26 (IBM Corp., США). Количественные данные описывались с использованием среднего и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$) [23]. Статистические гипотезы при наличии нормального распределения исходных данных верифицировались с применением t -критерия Стьюдента. Для неравных дисперсий использовался ранговый U-критерий Манна – Уитни [23]. При построении таблиц сопряжённости для сравнения для проверки равенства выборок всех 4 групп применяли критерий Краскела – Уоллиса (для количественных и ранговых данных) и критерий хи-квадрат Пирсона (для качественных данных). Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$ [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом исследования полученного гистологического материала тканей ЛА было проведение световой микроскопии с целью выявления качественных признаков радиочастотного и механического воздействия.

В препаратах контрольной группы при СМ визуализировалась чёткая дифференцировка слоёв стенки ЛА с сохранённой архитектоникой, отсутствовали явления перицеллюлярного и перикапиллярного отёка, не определялись зоны фибринOIDного некроза (рис. 4).

В 1-й экспериментальной группе в центральных зонах (подгруппа ЭГ1А) наблюдались участки фибринOIDного некроза, явления дезорганизации эластических мышечных волокон с явлениями кариорексиса и кариолизиса в фибробластах и гладкомышечных миоцитах. Системно описанные выше изменения фиксировались в адвентициальной оболочке с распространением на медиальную область стенки лёгочной артерии, местами повреждение носило трансмуральный характер с поражением субэндотелиальных структур и было представлено в образцах в виде фибринOIDного некроза и метахромазии волокон соединительной ткани (рис. 5).

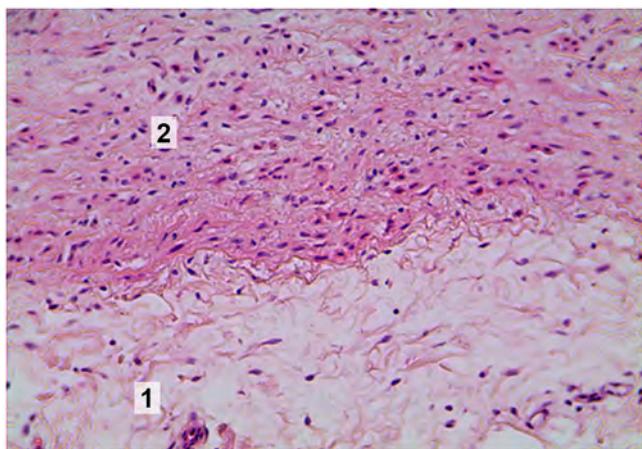


РИС. 4.

Световая микроскопия. Контрольная группа: центральный участок поперечного среза стенки лёгочной артерии; ув. $\times 200$, окраска гематоксилином и эозином. 1 – адвентициальный слой с сохранённой архитектоникой, перицеллюлярный отёк отсутствует; 2 – структура клеток медиального слоя сохранена, перицеллюлярный отёк отсутствует

FIG. 4.

Light microscopy. Control group: central zone of the transverse section of the pulmonary artery wall; magnification $\times 200$, hematoxylin and eosin staining. 1 – adventitial layer with preserved architecture, no pericellular edema; 2 – the structure of the medial layer cells is preserved, no pericellular edema

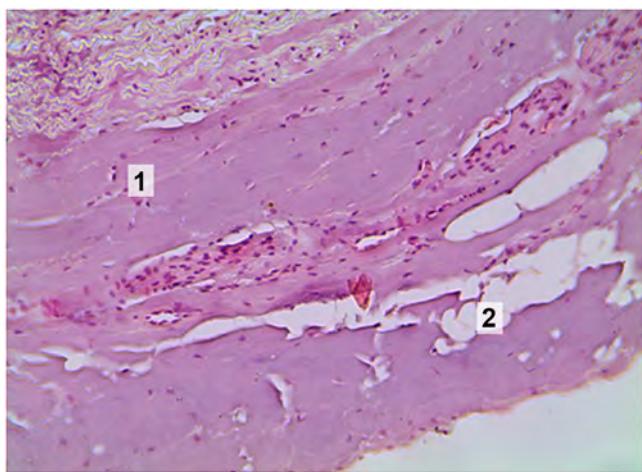


РИС. 5.

Световая микроскопия. Подгруппа ЭГ1А: центральный участок поперечного среза стенки лёгочной артерии в зоне радиочастотного воздействия; ув. $\times 200$, окраска гематоксилином и эозином. 1 – фибринOIDНЫЙ некроз в адвентициальном слое; 2 – образование полостных структур в адвентициальном слое

FIG. 5.

Light microscopy. Subgroup EG1A: central zone of the transverse section of the pulmonary artery wall in the radiofrequency exposure area; magnification $\times 200$, hematoxylin and eosin staining.

1 – fibrinoid necrosis in the adventitious layer; 2 – formation of cavity structures in the adventitious layer

Глубина и площадь фибринOIDного некроза, а также явления метахромазии были более выражены и чаще

носили трансмуральный характер в «краевых зонах» (ЭГ1Б); после радиочастотного воздействия в области механического сжатия дупликатуры тканей ЛА наблюдалась глубокая трансмуральная дезорганизация тканей стенки ЛА (рис. 6).

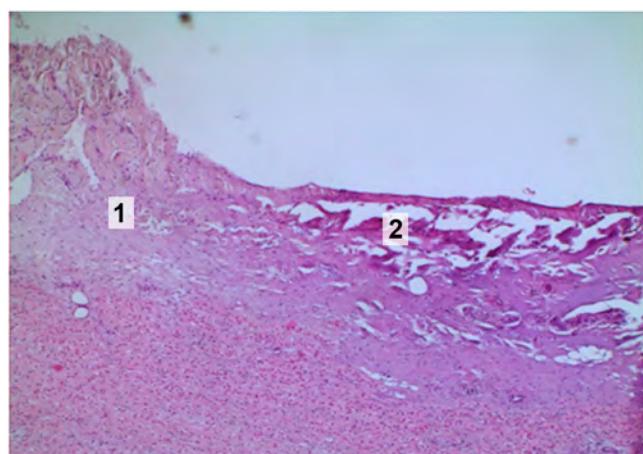


РИС. 6.

Световая микроскопия. Подгруппа ЭГ1Б: «краевая зона» поперечного среза участка абляционного воздействия; ув. $\times 200$, окраска гематоксилином и эозином. 1 – фибринOIDНЫЙ некроз в адвентициальном слое; 2 – образование полостных структур в адвентициальном слое

FIG. 6.

Light microscopy. Subgroup EG1B: “marginal zone” of the transverse section of the ablation exposure area; magnification $\times 200$, hematoxylin and eosin staining. 1 – fibrinoid necrosis in the adventitious layer; 2 – formation of cavity structures in the adventitious layer

Изменения в тканях ЛА 2-й экспериментальной группы после радиочастотного воздействия фиксировались при световой микроскопии в адвентициальном слое в виде фибринOIDного некроза с переходом на медиальный слой в виде мукоидного набухания, явлений перицеллюлярного и периваскулярного отёка (рис. 7).

Эндотелий и интимальные структуры в тканях лёгочной артерии во 2-й экспериментальной группе не имели признаков необратимых структурных повреждений.

Для оценки глубины (трансмуральности) термоабляционного воздействия на соединительную ткань также применялась окраска препаратов по Ван-Гизону. В контрольной группе на поперечных срезах ЛА отсутствовали патологические признаки: разволокнение коллагеновых волокон и набухание эластических волокон, отсутствовали зоны фибринOIDного некроза (рис. 8).

На срезах тканей, окрашенных по Ван-Гизону, в препаратах подгруппы ЭГ1А определялись участки дезорганизации волокон соединительной ткани с распространением на адвентициальный и медиальный слои ЛА в центральной зоне.

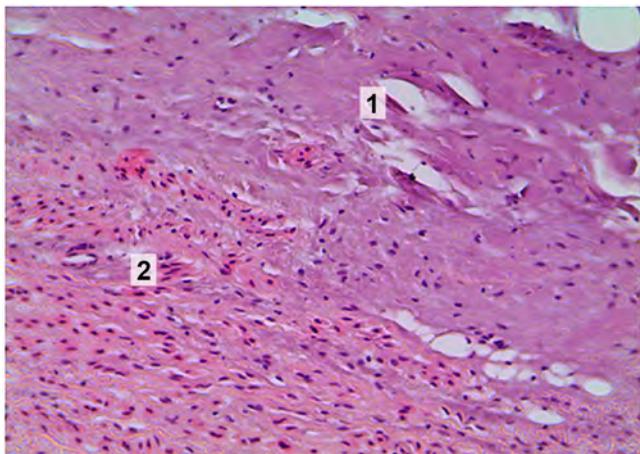


РИС. 7.

Световая микроскопия. Подгруппа ЭГ2А: центральный участок поперечного среза участка абляционного воздействия; ув. $\times 200$, окраска гематоксилином и эозином. 1 – разволокнение структур адвентиции, появление полостных образований различного размера; 2 – мукоидное набухание, умеренный перицеллюлярный и периваскулярный отёк структур медиального слоя

FIG. 7.

Light microscopy. Subgroup EG2A: central zone of the transverse section of the ablation exposure area; magnification $\times 200$, hematoxylin and eosin staining. 1 – separation of fibers in the adventitia structures, formation of cavity structures of various sizes; 2 – mucoïd swelling, moderate pericellular and perivascular edema of the medial layer structures

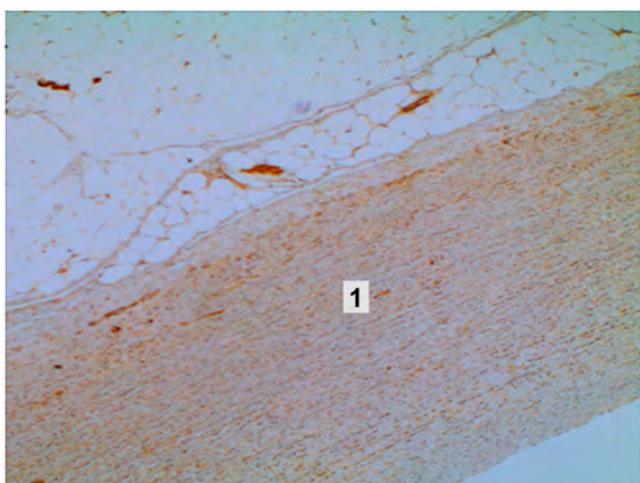


РИС. 8.

Световая микроскопия. Контрольная группа: поперечный срез участка абляционного воздействия; ув. $\times 200$, окраска по Ван-Гизону. 1 – в медиальном слое и адвентиции отсутствуют разволокнение коллагеновых и набухание эластических волокон; отсутствуют зоны фибринOIDного некроза

FIG. 8.

Light microscopy. Control group: transverse section of the ablation exposure area; magnification $\times 200$, van Gieson's staining. 1 – no separation of collagen fibers and no swelling of elastic fibers in the medial layer and adventitia; no zones of fibrinoid necrosis

В тканях «краевых частей» сосуда в подгруппе ЭГ1Б, помимо вышеописанных изменений, фиксировались участки разволокнения, дезорганизации субэндокардиальных областей (рис. 9). Во всех препаратах подгруппы ЭГ1Б определялся трансмуральный характер повреждения стенки ЛА.

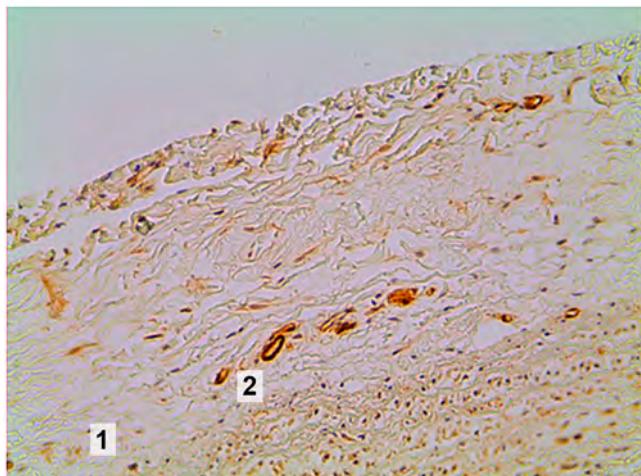


РИС. 9.

Световая микроскопия. Подгруппа ЭГ1Б: «краевая зона» поперечного среза участка абляционного воздействия; ув. $\times 200$, окраска по Ван-Гизону. 1 – участки деструкции волокон фиброзной ткани в адвентициальном слое; 2 – периваскулярный отёк vasa vasorum

FIG. 9.

Light microscopy. Subgroup EG1B: “marginal zone” of the transverse section of the ablation exposure area; magnification $\times 200$, van Gieson's staining. 1 – areas of destruction of fibrous tissue fibers in the adventitious layer; 2 – perivascular edema of vasa vasorum

Патологические изменения в архитектонике аргирофильных волокон выявлялись при пропитывании солями серебра.

В контрольной группе значимой дезорганизации тканей ЛА не наблюдалось, и определялась максимальная среди образцов других групп плотность импрегнированных солями серебра структур: ретикулиновых волокон, стволов и окончаний периферических нервных волокон.

В подгруппах ЭГ1А и ЭГ1Б отмечалось неоднородное прокрашивание стенки ЛА солями серебра. Адвентициальный слой был слабо импрегнирован серебром, что обусловлено патологическими изменениями структуры ретикулиновых и нервных волокон после проведённого радиочастотного воздействия. Дезорганизация волокон средней оболочки ЛА имела постоянный системный характер (рис. 10).

Во 2-й экспериментальной группе также отмечалось значительно меньшее относительно группы контроля отложение солей серебра в адвентициальном слое и структурах стенки ЛА, близких к нему (рис. 11). Медиальный слой обнаруживал признаки

дезорганизации ретикулиновых волокон не по всей толщине и преимущественно в препаратах подгруппы ЭГ2Б.

Для проведения межгруппового анализа гистологических результатов была сформирована таблица по каждому признаку для всех групп исследования (табл. 1).

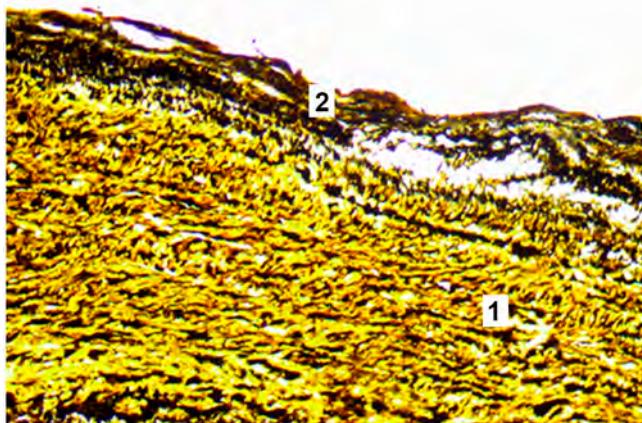


РИС. 10.

Световая микроскопия. Подгруппа ЭГ2А: поперечный срез лёгочной артерии; ув. $\times 200$, импрегнация солями серебра. 1 – дезорганизация ретикулиновых волокон средней оболочки; 2 – адвентициальная оболочка

FIG. 10.

Light microscopy. Subgroup EG2A: transverse section of pulmonary artery; magnification $\times 200$, impregnation with silver salts. 1 – disorganization of the reticulin fibers of the middle coat; 2 – adventitial membrane

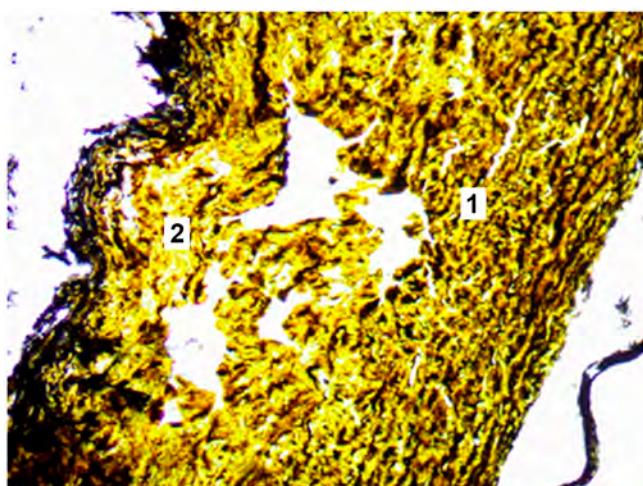


РИС. 11.

Световая микроскопия. Подгруппа ЭГ2Б: поперечный срез лёгочной артерии; ув. $\times 200$, импрегнация солями серебра. 1 – дезорганизация ретикулиновых волокон средней оболочки; 2 – адвентициальная оболочка

FIG. 11.

Light microscopy. Subgroup EG2B: transverse section of pulmonary artery; magnification $\times 200$, impregnation with silver salts. 1 – disorganization of the reticulin fibers of the middle coat; 2 – adventitial membrane

ТАБЛИЦА 1
АНАЛИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ
РАДИОЧАСТОТНОГО И МЕХАНИЧЕСКОГО
ВОЗДЕЙСТВИЯ

Анализ полученных в эксперименте морфометрических и морфологических данных: площадь и глубина фибринOIDного некроза, наличие метахромазии, явлений разобщения коллагеновых и ретикулиновых волокон, – показал статистически значимые ($p < 0,001$) изменения стенки ЛА после циркулярной денервации в 1-й экспериментальной группе относительно 2-й экспериментальной группы.

TABLE 1
ANALYSIS OF PATHOLOGICAL SIGNS
OF RADIOFREQUENCY AND MECHANICAL EXPOSURE

| Патологические признаки | 1-я экспериментальная группа | | 2-я экспериментальная группа | | Группа контроля (n = 55) |
|--|--|------------------------------------|--|------------------------------------|-----------------------------|
| | ЭГ1А, центральная часть (n = 92) | ЭГ1Б, краевая часть (n = 96) | ЭГ2А, центральная часть (n = 76) | ЭГ2Б, краевая часть (n = 86) | |
| ФибринOIDный некроз | 3 | 3–4 | 2–3 | 3 | 0 |
| Глубина фибринOIDного некроза в стенке сосуда(мкм) | 587 ± 84 | 726 ± 58 | 286 ± 54 | 322 ± 74 | 0 |
| Площадь фибринOIDного некроза к общей площади стенки сосуда (в %) | $14,7 \pm 5,0$ | $23,4 \pm 8,1$ | $8,1 \pm 3,3$ | $12,1 \pm 4,2$ | 0 |
| Разобщение коллагеновых волокон меди | 3 | 3–4 | 2–3 | 3 | 0 |
| Ретикулиновые волокна, стволы и окончания периферических нервных волокон | 3 | 2 | 3–4 | 3 | 5 |
| Метахромазия | 2–3 | 3–4 | 2 | 2–3 | 0 |

Повреждение ретикулиновых, коллагеновых и нервных волокон в 1-й экспериментальной группе распространялось на адвентициальный и медиальный слои стенки ЛА и подтверждалось при окрашивании структур стенки ЛА солями серебра. В интимальном слое также наблюдалась неоднородная импрегнация аргентофильных волокон. Во 2-й экспериментальной группе определялось повреждение нервных аргентофильных волокон и структур соединительной ткани в адвентициальном слое циркулярно по всей окружности ЛА. Интима имела равномерную интенсивную окраску волокнистых структур по Сантьяго Рамону-и-Кахалю.

Следует отметить, что наибольшая плотность патологических признаков наблюдалась в препаратах «краевых зон» (подгруппы ЭГ1Б и ЭГ2Б) каждой отдельно взятой экспериментальной группы, что, вероятно, обусловлено механическим сдавлением тканей, уплотнением их структуры и, как следствие, повышением ёмкостных характеристик в качестве токоприёмника и проводника для радиочастотной энергии. В контрольной группе не наблюдалось значимой дезорганизации тканей ЛА, а плотность окрашенных солями серебра нервных волокон была максимальной относительно других групп исследования.

Для сравнения степени дезорганизации волокнистых структур медиального слоя ЛА высчитывался показатель оптической плотности, равный десятичному логарифму разности светопропускания через объект [21] (табл. 2).

Средняя оптическая плотность образцов 1-й экспериментальной группы абляции оказалась статистически значимо ниже, чем во 2-й экспериментальной группе и в группе контроля ($p < 0,001$), несмотря на присутствие различий в степени дезорганизации волокнистых структур соединительной ткани среднего слоя ЛА между образцами подгрупп (подгруппа ЭГ1А – $0,1576 \pm 0,045$; подгруппа ЭГ1Б – $0,1382 \pm 0,0013$). Среднее значение удельной площади разобщения соединительной ткани в образцах центральной части (подгруппа ЭГ1А) составило

28 %, а в образцах «краевой части» (подгруппа ЭГ1Б) – 39 % от площади тканей в поле зрения. Аналогичная корреляция значений сравнительной оптической плотности стенки ЛА и средней удельной площади дезорганизации соединительной ткани наблюдалась в препаратах 2-й экспериментальной группы (подгруппа ЭГ2А – $0,2077 \pm 0,09$; подгруппа ЭГ2Б – $0,1718 \pm 0,042$).

В «краевых зонах» подгруппы ЭГ2Б значение сравнительной оптической плотности стенки ЛА также было больше (25 %) относительно значения в подгруппе ЭГ2А (19 %). Описанные отличия морфометрических показателей в «краевых зонах» от центральных областей в экспериментальных группах можно объяснить фактором механического воздействия зажима-аблатора на медиальный слой стенки артерии на сгибе. Однако ведущее значение, вероятно, имеет компактизация ткани и, как следствие, улучшение токопроводных и ёмкостных её характеристик, что увеличивает общую эффективную дозу доставленной при воздействии радиочастотной энергии и соответственно увеличивает патологические изменения в стенке ЛА.

В эксперименте были получены морфологические критерии необратимой деструкции нервных волокон и ганглиев циркулярно в адвентициальном слое лёгочного ствола и бифуркации ЛА с применением двух исследуемых режимов абляции. Применение первого режима абляции в 1-й экспериментальной группе сопровождалось облигатным поражением нервных структур интимального слоя в «краевых зонах» (подгруппа ЭГ1Б), а также в областях центральной зоны воздействия (подгруппа ЭГ1А), где наблюдалась неравномерная импрегнация солями серебра волокон интимального слоя и снижалась средняя удельная площадь аргентофильных волокон. Во 2-й экспериментальной группе при импрегнации тканей солями серебра в интимальном слое наблюдалось равномерное распределение аргентофильных волокон без системных признаков разволокнения.

ТАБЛИЦА 2
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПЛОТНОСТИ И СТЕПЕНИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОПРЕДЕЛЯЕМЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

TABLE 2
COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE DENSITY AND DEGREE OF DISTRIBUTION OF DETERMINED PATHOLOGICAL CHARACTERISTICS

| Патологические признаки | 1-я экспериментальная группа | | 2-я экспериментальная группа | | Группа контроля (n = 55) |
|--|------------------------------|---------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------------|
| | ЭГ1А (n = 92) | ЭГ1Б (n = 96) | ЭГ2А (n = 76) | ЭГ2Б (n = 86) | |
| Средняя сравнительная оптическая плотность стенки ЛА (M ± σ) | $0,1576 \pm 0,045$ | $0,1382 \pm 0,0013$ | $0,2077 \pm 0,09$ | $0,1718 \pm 0,042$ | $0,3214 \pm 0,03$ |
| Среднее значение удельной площади дезорганизации соединительной ткани (p ± σ _p %) | 28 ± 3,2 | 39,2 ± 1,7 | 19,4 ± 1,6 | 25,9 ± 2,2 | – |
| Средняя удельная площадь аргентофильных волокон (p ± σ _p %) | $54,52 \pm 2,7$ | $52,32 \pm 1,2$ | $57,51 \pm 2,4$ | $58,32 \pm 3,2$ | $68,22 \pm 1,4$ |

Таким образом, в 1-й экспериментальной группе повреждались рефлексогенные зоны и барорецепторы, расположенные в интимальном слое главных ветвей лёгочной артерии, что могло привести к выключению рефлекса Парина. Рефлекторный механизм регуляции венозного возврата к сердцу и лёгочным сосудам крайне важен и связан с воздействием повышенного внутрисосудистого давления в ЛА на барорецепторы интимы ЛА; в результате снижаются частота сердечных сокращений, внутрисосудистое давление в большом круге кровообращения, что в конечном итоге уменьшает венозный возврат к сосудам малого круга кровообращения. Рефлекс Парина имеет ведущее значение для разгрузки сосудов малого круга кровообращения, предохраняя правый желудочек от перегрузки, и препятствует декомпенсации лёгочного кровообращения, в том числе развитию острого отёка лёгких [12]. Поэтому травма интимального слоя артериальных сосудов окажет негативное влияние на работу одного из компенсаторных механизмов, активируемых у больных при развитии ЛГ.

Результаты применения второго режима радиочастотной абляции ЛА во 2-й экспериментальной группе позволяют сделать вывод об отсутствии в исследуемых образцах стенки ЛА системного повреждения сосудосуживающих симпатических нервных волокон в интимальном слое. Таким образом, выполнение циркулярной денервации лёгочного ствола и устьев ЛА в режиме радиочастотного воздействия, достаточного для достижения лишь 50%-го уровня тканевого импеданса относительно значений импеданса при трансмуральном поражении, позволило создать циркулярное повреждение адвентиции ЛА без разрушения рефлекторных зон в интимальном слое артерии.

В исследовании группы X.L. Rudner и соавт. [цит. по 22] также было выявлено преимущественное расположение симпатических волокон в адвентициальном слое лёгочного ствола. Описанная S.L. Chen и соавт. [18] методика циркулярной неселективной радиочастотной абляции устьев ЛА в области бифуркации лёгочного ствола направлена на анатомическую денервацию и доказанно снижает давление в ЛА. Тем не менее, выполнение расширенной круговой абляции ЛА независимо от преимущественного расположения нервов в стенке сосуда может быть связано с дальнейшим фиброзным поражением, ремоделированием и потерей растяжимости ЛА [22]. Перспективным направлением совершенствования методики денервации ЛА представляются более селективные подходы к абляции ЛА [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эксперименте были проанализированы морфологические и морфометрические критерии эффективности двух различных режимов циркулярной радиочастотной денервации лёгочной артерии. Сравнению подверглись результаты, полученные в трёх группах исследования.

Было установлено, что при проведении циркулярной денервации ЛА применение подпороговых мощностей радиочастотного воздействия, соответствующих

50%-му значению импеданса тканей ЛА от соответствующих значений импеданса при трансмуральном повреждении, позволило избежать необратимых повреждений нервных окончаний и ганглиев интимального слоя ЛА, тем самым сохранив физиологическую нейрорефлекторную регуляцию ЛА и всего малого круга кровообращения. Полученные в эксперименте результаты демонстрируют эффективность радиочастотной абляции симпатических ганглиев и нервных волокон адвентициального слоя по всей окружности среза ЛА при достижении 50%-го уровня тканевого импеданса относительно уровня импеданса в момент трансмурального поражения. Таким образом, выключается каскад патологических рефлексов, факторов прогрессирования ЛГ, связанных со спазмом прекапиллярного русла лёгочных артериол.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 21-75-10075 (<https://rscf.ru/project/21-75-10075>).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойцов С.А., Драпкина О.М., Шляхто Е.В., Конради А.О., Баланова Ю.А., Жернакова Ю.В. и др. Исследование ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации). Десять лет спустя. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021; 20(5): 3007. doi: 10.15829/1728-8800-2021-3007
2. Goldbarg SH, Elmariah S, Miller MA, Fuster V. Insights into degenerative aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50(13): 1205-1213. doi: 10.1016/j.jacc.2007.06.024
3. Трофимов Н.А., Медведев А.П., Никольский А.В., Кичигин В.А., Жамлиханова С.С., Бабокин В.Е. Денервация лёгочных артерий у пациентов с пороками митрального клапана,сложнёнными фибрillацией предсердий и высокой лёгочной гипертензией. *Современные технологии в медицине*. 2019; 11(4): 95-105. doi: 10.17691/stm2019.11.4.11
4. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2016; 37(1): 67-119. doi: 10.1093/eurheartj/ehv317
5. Briongos Figuero S, Moya Mur JL, García-Lledó A, Centella T, Salido L, Aceña Navarro Á, et al. Predictors of persistent pulmonary hypertension after mitral valve replacement. *Heart Vessels*. 2016; 31(7): 1091-1099. doi: 10.1007/s00380-015-0700-2
6. Богачев-Прокофьев А.В., Железнев С.И., Афанасьев А.В., Фоменко М.С., Демидов Д.П., Шарифуллин Р.М., и др. Абляция ганглионарных сплетений лёгочной артерии при хирургическом лечении пороков митрального клапана у пациентов с

высокой лёгочной гипертензией. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2016; 19(4): 19-25. doi: 10.21688/1681-3472-2015-4-19-25

7. Petrov V, Lebedev S, Pirova A, Nilolskiy A, et al. Cardiomodel – new software for cardiac electrophysiology simulation. In: Voevodin V, Sobolev S (eds). *Supercomputing. RuSCDays. Communications in Computer and Information Science*. Springer, Cham: 2018; 965: 195-207. doi: 10.1007/978-3-030-05807-4_17

8. Породенко Н.В., Скибицкий В.В., Запевина В.В. Диагностика и лечение первичной лёгочной гипертензии: современный взгляд на проблему. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2014; 3(145): 140-144. doi: 10.25207/1608-6228-2014-3-140-144

9. Gaine S. Pulmonary hypertension. *JAMA*. 2000; 284(24): 3160-3168. doi: 10.1001/jama.284.24.3160

10. Авдеев С.Н., Барбараши О.Л., Баутин А.Е., Волков А.В., Веселова Т.Н., Галявич А.С., и др. Лёгочная гипертензия, в том числе хроническая тромбоэмболическая лёгочная гипертензия. *Клинические рекомендации 2020. Российский кардиологический журнал*. 2021; 26(12): 4683. doi: 10.15829/1560-4071-2021-4683

11. Iung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Gohlke-Bärwolff C, Levang OW, et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on valvular heart disease. *Eur Heart J*. 2003; 24(13): 1231-1243. doi: 10.1016/s0195-668x(03)00201-x

12. Трофимов Н.А., Медведев А.П., Бабокин В.Е., Драгунов А.Г., Ефимова И.П., Гартфельдер М.В., и др. Эффективность процедуры PADN у пациентов с высокой лёгочной гипертензией на фоне дисфункции митрального клапана, осложнённой фибрилляцией предсердий, и влияние на сохранность синусового ритма в послеоперационном периоде. *Медицинский алфавит*. 2018; 4(37-374): 18-24.

13. Juratsch CE, Jengo JA, Castagna J, Laks MM. Experimental pulmonary hypertension produced by surgical and chemical denervation of the pulmonary vasculature. *Chest*. 1980; 77(4): 525-530. doi: 10.1378/chest.77.4.525

14. Velez-Roa S, Ciarka A, Najem B, Vachiery JL, Naeije R, van de Borne P. Increased sympathetic nerve activity in pulmonary artery hypertension. *Circulation*. 2004; 110(10): 1308-1312. doi: 10.1161/01.CIR.0000140724.90898.D3

15. Железнев С.И., Демидов Д.П., Афанасьев А.В., Назаров В.М., Демин И.И., Богачев-Прокофьев А.В., и др. Радиочастотная денервация лёгочной артерии при хирургической коррекции диспластических пороков митрального клапана с высокой лёгочной гипертензией. *Российский кардиологический журнал*. 2016; 11(139): 70-72. doi: 10.15829/1560-4071-2016-11-70-72

16. Osorio J, Russek M. Reflex changes on the pulmonary and systemic pressures elicited by stimulation of baroreceptors in the pulmonary artery. *Circ Res*. 1962; 10: 664-667. doi: 10.1161/01.res.10.4.664

17. Baylen BG, Emmanouilides GC, Juratsch CE, Yoshida Y, French WJ, Criley JM. Main pulmonary artery distention: A potential mechanism for acute pulmonary hypertension in the human newborn infant. *J Pediatr*. 1980; 96: 540-544. doi: 10.1016/s0022-3476(80)80863-8

18. Chen SL, Zhang FF, Xu J, Xie DJ, Zhou L, Nguyen T, et al. Pulmonary artery denervation to treat pulmonary arterial hypertension: the single-center, prospective, first-in-man PADN-1 study (first-in-man pulmonary artery denervation for treatment of pulmonary artery hypertension). *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62(12): 1092-1100. doi: 10.1016/j.jacc.2013.05.075

19. Косоногов А.Я., Никольский А.В., Косоногов К.А., Майорова М.В., Кацубо Е.М., Поздышев В.А., и др. Первый опыт выполнения эндоваскулярной денервации лёгочного ствола у пациента с высокой лёгочной гипертензией. *Медицинский альманах*. 2017; 3(48): 41-43.

20. Привес М.Г., Лысенков Н.К., Бушкович В.И. *Анатомия человека*; изд. 12-е, перераб. И доп. СПб.: Издательский дом СПбМАПО; 2004.

21. Кларк Э.Р., Эберхардт Кларк К.Н. *Микроскопические методы исследования материалов*. М.: Техносфера; 2007.

22. Allred D.C. Assessment of prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemistry. *Connection*. 2005; 9: 4-5.

23. Гланц С.А. *Медико-биологическая статистика*. Пер. с англ. М.: Практика; 1998.

REFERENCES

1. Boytsov SA, Drapkina OM, Shlyakhto EV, Konradi AO, Balanova YuA, Zhernakova YuV, et al. Epidemiology of cardiovascular diseases and their risk factors in regions of Russian Federation (ESSE-RF) study. Ten years later. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021; 20(5): 3007. (In Russ.). doi: 10.15829/1728-8800-2021-3007

2. Goldborg SH, Elmariah S, Miller MA, Fuster V. Insights into degenerative aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50(13): 1205-1213. doi: 10.1016/j.jacc.2007.06.024

3. Trofimov NA, Medvedev AP, Nikolskiy AV, Kichigin VA, Zhamlihanova SS, Babokin VE. Denervation of pulmonary arteries in patients with mitral valve defects complicated by atrial fibrillation and pulmonary hypertension. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2019; 11(4): 95-105. (In Russ.). doi: 10.24022/0236-2791-2019-61-6-506-514

4. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2016; 37(1): 67-119. doi: 10.1093/euroheartj/ehv317

5. Briongos Figuero S, Moya Mur JL, García-Lledó A, Centella T, Salido L, Aceña Navarro Á, et al. Predictors of persistent pulmonary hypertension after mitral valve replacement. *Heart Vessels*. 2016; 31(7): 1091-1099. doi: 10.1007/s00380-015-0700-2

6. Bogachev-Prokofiev AV, Zheleznev SI, Afanasyev AV, Fomenko MS, Demidov DP, Sharifulin RM, et al. Denervation of pulmonary artery during mitral valve surgery in patients with high pulmonary hypertension. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2016; 19(4): 19-25. (In Russ.). doi: 10.21688/1681-3472-2015-4-19-25

7. Petrov V, Lebedev S, Pirova A, Nilolskiy A, et al. Cardiomodel – new software for cardiac electrophysiology simulation. In: Voevodin V, Sobolev S (eds). *Supercomputing. RuSCDays. Communications in Computer and Information Science*. Springer, Cham: 2018; 965: 195-207. doi: 10.1007/978-3-030-05807-4_17

8. Породенко Н.В., Скитинский В.В., Запевина В.В. The diagnosis and treatment of primary pulmonary hypertension: A modern view on the problem. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2014; 3(145): 140-144. (In Russ.). doi: 10.25207/1608-6228-2014-3-140-144

9. Gaine S. Pulmonary hypertension. *JAMA*. 2000; 284(24): 3160-3168. doi: 10.1001/jama.284.24.3160
10. Avdeev SN, Barbarash OL, Bautin AE, Volkov AV, Veselova TN, Galyavich AS, et al. 2020 Clinical practice guidelines for Pulmonary hypertension, including chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Russian Journal of Cardiology*. 2021; 26(12): 4683. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2021-4683
11. Iung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Gohlke-Bärwolf C, Levang OW, et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on valvular heart disease. *Eur Heart J*. 2003; 24(13): 1231-1243. doi: 10.1016/s0195-668x(03)00201-x
12. Trofimov NA, Medvedev AP, Babokin VE, Dragunov AG, Efimova IP, Gartfelder MV, et al. Effectiveness of PADN-procedure in patients with high pulmonary hypertension against background of mitral valve dysfunction complicated by atrial fibrillation and effect on preservation of sinus rhythm in postoperative period. *Medical Alphabet*. 2018; 4(37): 18-24. (In Russ.)
13. Juratsch CE, Jengo JA, Castagna J, Laks MM. Experimental pulmonary hypertension produced by surgical and chemical denervation of the pulmonary vasculature. *Chest*. 1980; 77(4): 525-530. doi: 10.1378/chest.77.4.525
14. Velez-Roa S, Ciarka A, Najem B, Vachiery JL, Naeije R, van de Borne P. Increased sympathetic nerve activity in pulmonary artery hypertension. *Circulation*. 2004; 110(10): 1308-1312. doi: 10.1161/01.CIR.0000140724.90898.D3
15. Zheleznev SI, Demidov DP, Afanasiev AV, Nazarov VM, Demin II, Bogachev-Prokofiev AV, et al. Radiofrequency denervation of pulmonary artery in surgery of dysplastic mitral valve defects with
- severe pulmonary hypertension. *Russian Journal of Cardiology*. 2016; 11(139): 70-72. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2016-11-70-72
16. Osorio J, Russek M. Reflex changes on the pulmonary and systemic pressures elicited by stimulation of baroreceptors in the pulmonary artery. *Circ Res*. 1962; 10: 664-667. doi: 10.1161/01.res.10.4.664
17. Baylen BG, Emmanouilides GC, Juratsch CE, Yoshida Y, French WJ, Criley JM. Main pulmonary artery distention: A potential mechanism for acute pulmonary hypertension in the human newborn infant. *J Pediatr*. 1980; 96: 540-544. doi: 10.1016/s0022-3476(80)80863-8
18. Chen SL, Zhang FF, Xu J, Xie DJ, Zhou L, Nguyen T, et al. Pulmonary artery denervation to treat pulmonary arterial hypertension: the single-center, prospective, first-in-man PADN-1 study (first-in-man pulmonary artery denervation for treatment of pulmonary artery hypertension). *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62(12): 1092-1100. doi: 10.1016/j.jacc.2013.05.075
19. Kosonogov AYa, Nikolskiy AV, Kosonogov KA, Mayorova MV, Katsubo EM, Pozdyshev VA, et al. The first experience of performing endovascular denervation of the pulmonary trunk in a patient with high pulmonary hypertension. *Medical Almanac*. 2017; 3(48): 41-43. (In Russ.).
20. Prives MG, Lysenkov NK, Bushkovich VI. *Human anatomy*; 12th ed., revised and corrected. Saint Petersburg; 2004.
21. Clark ER, Eberhardt Clark KN. *Microscopic methods for the study of materials*. Moscow: Tekhnosfera; 2007. (In Russ.).
22. Allred D.C. Assessment of prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemistry. *Connection*. 2005; 9: 4-5.
23. Glantz SA. *Biomedical statistics*. Moscow: Praktika; 1998. (In Russ.).

Сведения об авторах

- Трофимов Николай Александрович** – доктор медицинских наук, врач сердечно-сосудистый хирург, доцент кафедры общей хирургии и хирургических болезней, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: nikolai.trofimov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1975-5521>
- Никольский Александр Викторович** – кандидат медицинских наук, врач сердечно-сосудистый хирург, ассистент кафедры общей хирургии и хирургических болезней, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: yahtingman@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5605-0128>
- Родионов Андрей Леонидович** – кандидат медицинских наук, врач сердечно-сосудистый хирург, ассистент кафедры общей хирургии и хирургических болезней, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: a.rodionov.andrei@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4775-569X>
- Егоров Дмитрий Владимирович** – врач сердечно-сосудистый хирург, ассистент кафедры общей хирургии и хирургических болезней, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: meddevil@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3538-8661>
- Суркова Татьяна Валерьевна** – студентка 4-го курса медицинского факультета, лаборант кафедры общей хирургии и хирургических болезней, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: beckertany@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4098-5740>

Information about the authors

- Nikolay A. Trofimov** – Dr. Sc. (Med.), Cardiovascular Surgeon, Associate Professor at the Department of General Surgery and Surgical Diseases, Chuvash State University, e-mail: nikolai.trofimov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1975-5521>
- Alexander V. Nikolskiy** – Cand. Sc. (Med.), Cardiovascular Surgeon, Teaching Assistant at the Department of General Surgery and Surgical Diseases, Chuvash State University, e-mail: yahtingman@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5605-0128>
- Andrey L. Rodionov** – Cand. Sc. (Med.), Cardiovascular Surgeon, Teaching Assistant at the Department of General Surgery and Surgical Diseases, Chuvash State University, e-mail: a.rodionov.andrei@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4775-569X>
- Dmitrii V. Egorov** – Cardiovascular Surgeon, Teaching Assistant at the Department of General Surgery and Surgical Diseases, Chuvash State University, e-mail: meddevil@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3538-8661>
- Tatyana V. Surkova** – 4th year Student at the Medical Faculty, Assistant at the Department of General Surgery and Surgical Diseases, Chuvash State University, e-mail: beckertany@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4098-5740>

Вклад авторов

- Трофимов Н.А. – написание первой версии статьи.
- Никольский А.В. – критический пересмотр статьи на предмет важного интеллектуального содержания.
- Родионов А.Л. – концепция и дизайн исследования, получение данных, их анализ и интерпретация.
- Егоров Д.В. – концепция и дизайн исследования, получение данных, их анализ и интерпретация.
- Суркова Т.В. – концепция и дизайн исследования, получение данных, их анализ и интерпретация.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РОГОВИЧНЫХ ЛЕНТИКУЛ В ХИРУРГИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ РОГОВИЦЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

РЕЗЮМЕ

Бойко Э.В.^{1, 2, 3},
Титов А.В.¹,
Масян Я.И.¹,
Мирсаитова Д.Р.¹

¹ Санкт-Петербургский филиал ФГАУ
«НМИЦ «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (192283,
г. Санкт-Петербург, ул. Ярослава Гашека,
21, Россия)
² ФГБОУ ВО «Северо-Западный
государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова»
Минздрава России (191015,
г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41,
Россия)
³ ФГБОУ ВО «Военно-медицинская
академия имени С.М. Кирова»
Минобороны России (194044,
г. Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, 6, Россия)

В данном обзоре мы провели анализ отечественной и иностранной литературы по использованию роговичной лентикулы, полученной путём кератофефракционной хирургии по технологии SMILE (SMall Incision Lenticula Extraction). Активно ведутся исследования по применению лентикулы в рефракционных целях: для коррекции гиперметропии (LIKE – Lenticular Intrastromal Keratoplasty), для коррекции пресбиопии (PEARL – PrEsbyopic Allogenic Refractive Lenticule). Немало работ посвящено использованию лентикулярной ткани для лечения кератэктомий различного генеза. Так, ряд авторов для лечения кератоконуса предлагают имплантацию лентикулы в сформированный фемтолазером роговичный карман реципиента (SLAK – Stromal lenticule addition keratoplasty). Описаны клинические случаи комбинированного лечения: имплантации лентикулы и роговичных интрастромальных сегментов для лечения пеллюцидной дегенерации роговицы. Большое количество работ посвящено применению лентикул для тектонического покрытия язвенных дефектов, краевых истончений при язве Мурена. Описаны отдельные клинические случаи использования роговичной лентикулы для покрытия выраженного роговичного дефекта при рецидивирующем птеригиуме. В данный обзор также были включены статьи, посвящённые проблемам хранения и децеллюляризации роговичных лентикул. Проанализированные статьи показывают широкую область применения роговичной лентикулы, тем не менее требуется больше исследований в каждой из сфер применения, также необходимо решить проблему заготовки и хранения лентикулярной ткани.

Ключевые слова: лентикула, ReLEx SMILE, кератоконус, пеллюцидная дегенерация, интрастромальная кератопластика

Автор, ответственный за переписку:
Масян Янек Иванович,
e-mail: yanick.masian@gmail.com

Статья получена: 31.08.2021
Статья принята: 25.11.2021
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Бойко Э.В., Титов А.В., Масян Я.И., Мирсаитова Д.Р. Возможности применения роговичных лентикул в хирургии заболеваний роговицы (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 143-152. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.15

POSSIBLE USE OF CORNEAL LENTICULE IN SURGERY OF CORNEAL DISEASES (LITERATURE REVIEW)

ABSTRACT

Boiko E.V. ^{1, 2, 3},
Titov A.V. ¹,
Masian J.I. ¹,
Mirsaitova D.R. ¹

¹ Saint Petersburg Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Yaroslava Gasheka str. 21, Saint Petersburg 192283, Russian Federation)

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kirochnaya str. 41, Saint Petersburg 191015, Russian Federation)

³ S.M. Kirov Military Medical Academy (Akademika Lebedeva str. 6, Saint Petersburg 194044, Russian Federation)

In this review, we analyzed the domestic and foreign literature on the use of corneal lenticula obtained by keratorefractive surgery using the SMILE technology (SMall Incision Lenticula Extraction). Research is being actively carried out on the use of a lenticular tissue for refractive purposes: for the correction of hyperopia (LIKE – Lenticular Intrastromal Keratoplasty), for the correction of presbyopia (PEARL – PrEsbyopic Allogenic Refractive Lenticule). A significant amount of works are devoted to the use of lenticular tissue for the treatment of keratectasias of various origins. For example, a number of authors for the treatment of keratoconus suggest implantation of a lenticule into the recipient's corneal pocket formed by a femtolaser (SLAK – Stromal lenticule addition keratoplasty). Clinical cases of combined treatment are described: implantation of a lenticule and corneal intrastromal segments for the treatment of corneal pellucid degeneration. A large number of works are devoted to the use of lenticules for tectonic coverage of ulcerative defects, marginal thinning in Mooren's ulcer. Several clinical cases of the use of a corneal lenticule to cover a deep corneal defect in recurrent pterygium are described. This review also included articles on the storage and decellularization of corneal lenticules. The analyzed articles show a wide area of application of the corneal lenticule; however, more research is required in each of the areas of application, and it is also necessary to solve the problem of procurement and storage of lenticular tissue.

Key words: lenticule, ReLEX SMILE, keratoconus, pellucidal corneal degeneration, intrastromal keratoplasty

Corresponding author:

Janek I. Masian,

e-mail: yanick.masian@gmail.com

Received: 31.08.2021

Accepted: 25.11.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Boiko E.V., Titov A.V., Masian J.I., Mirsaitova D.R. Possible use of corneal lenticule in surgery of corneal diseases (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 143-152. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.15

По данным Р.М. Mathews и соавт. (2018), примерно 216,6 млн человек в мире страдают нарушениями зрения, у 4,5 млн из них ухудшение зрения вызвано потерей прозрачности роговицы. На пятом месте по частоте среди других причин слепоты после катаракты, аномалий рефракции, глаукомы и возрастной макулярной дегенерации находятся заболевания роговицы. По данным Глобального исследования трансплантации роговицы и глазных банков, в 116 странах мира делается до 185 тыс. трансплантаций роговиц в год. По данным литературы, только 1 из 70 человек с обратимой роговичной патологией в итоге подвергается хирургическому вмешательству из-за множества причин, таких как региональные, социальные, экономические и политические факторы. Одно из важных мест в этом списке занимает проблема доступности и эффективности трансплантации роговицы (кератопластики). Всё это определяет важность внедрения различных технологий кератопластики в лечение причин нарушения прозрачных свойств роговицы [1]. В прошлом основной целью хирургического вмешательства при трансплантации роговицы была замена роговицы на всю её толщину. Последствия такой хирургии оказались не всегда оправданными при патологии, локализованной в определённых слоях роговицы, и не всегда предсказуемыми из-за значительного нарушения анатомической структуры глаза. На современном этапе полностью поменялась парадигма хирургических подходов кератопластики в сторону микроинвазивного подхода за счёт трансплантации отдельных слоёв роговицы, подверженных дисфункции [2].

Дефицит донорского материала (органов и тканей), в первую очередь донорской роговицы, диктует поиск новых путей для проведения лечения различных патологий переднего отрезка глаза, требующих пересадки роговицы.

Технический прогресс лазерных рефракционных технологий определил появление нового метода «безлоскутной» (flapless) кератопефракционной хирургии – операции SMILE (SMall Incision Lenticula Extraction), в процессе которой осуществляется удаление роговичной ткани (лентикулы) через малый разрез. Данная технология проводится на базе технологии ReLEx (Refractive Lenticule Extraction). С помощью фемтосекундной лазерной установки VisuMax (Carl Zeiss Meditec AG, Германия) выкраивают лентикулу – рефракционную линзу диаметром 5–8 мм с возможностью коррекции миопии до –10,00 D, миопического астигматизма до –5,00 D и сферического эквивалента до –12,5 D, которую удаляют через малый доступ – разрез в 2–3 мм. Благодаря этому изменяется профиль передней поверхности роговицы, соответственно и преломляющая сила роговицы – рефракция [3]. В отличие от операций Laser Assisted In Situ Keratomileusis (LASIK) и Photorefractive keratectomy (PRK), при которых ткань роговицы удаляется за счёт эффекта абляции эксимерного лазера [4], при технологии SMILE выкроенную рефракционную лентикулу удаляют и утилизируют [1]. Растущий интерес хирургов к выполнению технологии SMILE и увеличение объёмов могут обеспечить хирургов тысячами донорских лентикул, которые

можно использовать в лечении и коррекции не только пресбиопии, гиперметропии, дегенерации роговиц, но и в терапевтических целях. Применение фемтосекундного лазера обеспечивает высокую точность формирования роговичной лентикулы и обеспечивает преимущества перед другими синтетическими вкладками в отношении биосовместимости, сохраняя обмен питательных веществ в ткани и снижая риск экструзии имплантата, позволяет снизить риск интраоперационных осложнений. Но, с другой стороны, роговичная лентикула имеет низкий, но потенциальный риск отторжения, однако предоперационная подготовка и децеллюляризация материала минимизирует его.

Целью данного обзора является анализ международного и отечественного опыта по применению роговичной лентикулы в хирургии заболеваний роговицы.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РОГОВИЧНОЙ ЛЕНТИКУЛЫ В РЕФРАКЦИОННЫХ ЦЕЛЯХ

Проведено немало опытов имплантации роговичной лентикулы на животных с целью исследования, прежде всего, возможностей управляемого изменения показателей кривизны и преломления роговицы с одновременным изучением развития воспалительных реакций, процессов приживления и отторжения лентикулы [5–9].

В 2012 г. R.I. Angunawela и соавт. представили работу по выполнению аутологичной пересадки роговичной лентикулы в эксперименте на животных (кроликах). Результаты, полученные в ходе исследования, показали, что прозрачность роговицы после повторной имплантации роговичной линзы постепенно улучшалась с 3-го по 28-й день послеоперационных наблюдений [9].

Группа исследователей во главе с A. Riau (2013) получила результаты, схожие исследованию R.I. Angunawela и соавт., только в эксперименте на обезьянах. Восстановление прозрачности роговицы было отмечено к 8-й неделе после операции. При этом толщина роговицы, рефракция и топография её соответствовали показателям до операции к 16-й неделе наблюдений [10].

Н. Liu и соавт. (2012) подтвердили возможность выполнения пересадки роговичной лентикулы кролику, отмечено наличие восстановления без осложнений, а регенерация нервных окончаний наблюдалась на 1-м месяце после операции [11].

Так, например, G.P. Williams и соавт. (2018) провели очень интересное исследование на приматах, с целью определения и сравнения показателей сферичности и воспалительных реакций роговицы при коррекции гиперметропии с помощью технологий кератомилез *in situ*, безлоскутной хирургии (SMILE) и повторной имплантации роговичной линзы на модели исследуемых животных с показателями сферической рефракции +2,0 D и +4,0 D [5].

Впервые в 2015 г. R. Liu и соавт. выполнили имплантацию аллогенной лентикулы в эксперименте на обезьянах, отмечалось увеличение показателей кератометрии к 6-му месяцу, которые составляли 82 % от предполагаемой коррекции [12].

J. Zhao и соавт в 2017 г. успешно провели аллогенную трансплантацию роговичной лентикулы на кроликах. В течение 6 месяцев наблюдений отмечался стабильный процесс приживления роговичной линзы [13].

Успешные результаты множества опытов на животных дали возможность перейти с экспериментов к пересадке аутологичных и аллогенных лентикул на людях.

I.B. Damgaard с коллегами (2018) провели исследование на кадаверных глазах, с целью изучения коррекции гиперметропии с помощью имплантации лентикулы [14].

Первый клинический пример имплантации нативной аллогенной лентикулы был описан K.R. Pradhan и соавт. (2013). Пациент имел высокую степень гиперметропической рефракции в связи с афакией правого глаза +12,0 D. Через год после операции рефракция правого глаза уменьшилась до +7,5 D, сфероэквивалент снизился до 5,52 D, с результатом неполной коррекции в 50 %. Исследователи связывают данный факт с изменением сферичности задней поверхности роговицы и ремоделированием эпителия роговицы после операции [15].

L. Sun с коллегами (2015) применяли лентикулы для коррекции гиперметропии у 5 пациентов (10 глаз), где один из глаз был с миопической рефракцией, другой имел гиперметропическую коррекцию. Проводили удаление лентикулы на миопическом глазу и имплантацию её в парный гиперметропический глаз. В сравнении с дооперационными показателями, в глазах с имплантированной лентикулой средний сферический эквивалент уменьшился на 5,53 D, остаточный сферический эквивалент составлял от +1,13 до -2,63 D. Средняя некорригируемая острота зрения вдаль увеличилась приблизительно на две строки (от 20/63 до 20/40 по данным таблицы Snellen), а корригируемая острота зрения в 4 глазах (80 %) улучшилась на одну строку, 2 глаза (40 %) получили две строки, а 1 глаз (20 %) получил более двух строк [16].

Были сделаны выводы, что пересадка аутологичной роговичной линзы, полученной при SMILE для коррекции гиперметропии, может быть достаточно безопасной, эффективной и стабильной, но её предсказуемость должна быть улучшена со временем и требует дальнейших изучений.

Профессор T. Seiler (2018 г., Цюрих, Швейцария) запатентовал технологию Lenticular Intrastromal Keratoplasty – LIKE (лентикулярной интрастромальной кератопластики). На первом этапе данной технологии на глазу пациента создаётся поверхностный лоскут аналогично технологии LASIK. Далее на ложе укладывается и центрируется по оптической оси предварительно подготовленная лентикула из донорской ткани человека с Боуменовой мембраной. Затем поверхностный лоскут возвращается в исходное положение, и роговице дают стабилизироваться приблизительно восемь недель. На втором этапе, при необходимости, клапан поднимается и выполняется окончательная лазерная коррекция на лентикуле LIKE [17]. Так как данная технология принадлежит компании Gebauer Medizintechnik GmbH, она также производит и продаёт заготовленные лентикулы LIKE и оборудование, с помощью которого можно получать соответствующие лентикулы.

M. Moshirfar с коллегами (2018) предложили альтернативу технологии LIKE, назвав её Small-incision Lenticule Intrastromal Keratoplasty – sLIKE (интрастромальная лентикулярная кератопластика с малым разрезом) [18]. Суть данного метода заключается в том, что вместо поверхностного лоскута в строме роговицы выкраивают карман диаметром от 8 до 9 мм, в который через 5 мм разрез имплантируют и центрируют заготовленную лентикулу диаметром 6,5–7,0 мм. Таким образом, увеличивается не только кривизна передней поверхности роговицы, но и центральная её толщина. Также авторы предлагают профилактический кросслинкинг роговичного коллагена с имплантированной лентикулой с целью предотвращения возможного регресса полученных результатов.

Ведутся работы по коррекции пресбиопии с помощью интрастромальной имплантации лентикулы выпуклой формы [19, 20]. В 2017 г. был предложен метод коррекции пресбиопии – PrEsbyopic Allogenic Refractive Lenticule, PEARL (пресбиопическая аллогенная рефракционная лентикула) с помощью имплантации лентикулы, полученной из донорского материала [19]. При данной процедуре в сформированный с помощью фемтосекундного лазера стромальный карман имплантируют лентикулу диаметром 1,0 мм и толщиной $61,5 \pm 3,32$ мкм. Лентикулу выставляют строго по оптической оси. Благодаря данной методике, в проекции центра зрачка формируется выпуклость с дополнительной кривизной передней поверхности роговицы, которая служит как добавочная линза для близкого расстояния [19].

РОГОВИЧНАЯ ЛЕНТИКУЛА В КОРРЕКЦИИ КЕРАТЕКТАЗИЙ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Лентикулы пытаются использовать не только для коррекции аметропий, но и в лечении кератектазий и дефектов роговицы. Так, S. Ganesh и соавт. (2015) в лечении кератоконуса применяли лентикулы, полученные после процедуры SMILE у пациентов с миопией разной степени. В строме роговицы с помощью фемтосекундного лазера на глубине 120 мкм формировали карман диаметром 7,5 мм, в который через 2,0 мм разрез имплантировали лентикулу диаметром 6,5 мм и сразу проводили кросслинкинг роговичного коллагена. В исследовании участвовали 6 пациентов (6 глаз) с прогрессирующим кератоконусом. У всех пациентов наблюдалось улучшение некорригируемой остроты зрения, у 4 так же улучшилась максимально корригируемая острота зрения [21].

H. Jin с коллегами в 2019 г. представили работу, где сравнивали 2 группы пролеченных пациентов: 1-я группа пациентов – после сквозной кератопластики и 2-я группа – после интрастромальной имплантации лентикулы вогнутой формы [22]. Роговичные лентикулы, использованные в имплантации, получали из донорского материала, предоставленного глазным банком Глазного Госпиталя города Хайнань, Китай. Толщина лентикулы в центре составляла около 250 мкм. На роговице реципиента выполняли коррекцию близорукости – 0,75 дптр (толщина 28 мкм) по методике SMILE. После

удаления лентикулы реципиента в сформированный стромальный карман имплантировали донорскую лентикулу. Исследование проводилось на 31 пациенте, 20 из которых – после сквозной кератопластики (СКП) и 11 – после имплантации лентикулы, кроссслинкинг роговичного коллагена в данных группах пациентов не проводили. В обеих группах результаты корректируемой и некорректируемой остроты зрения улучшились и оставались стабильными на протяжении 2-летнего периода наблюдения. Авторы отмечают более комфортный для пациента послеоперационный период и менее длительный период закапывания стероидных препаратов в группе с имплантацией роговичной лентикулы [22].

Похожую работу в 2017 г. представили исследователи из США [19]. Десяти пациентам с кератоконусом 3-й и 4-й стадии были имплантированы интрастромальные роговичные лентикулы в форме отрицательного мениска на глубину 160 мкм. У 8 пациентов отмечали улучшение некорректируемой остроты зрения, у 9 – корректируемой остроты зрения. Благодаря форме лентикулы в виде отрицательного мениска уменьшилась средняя кривизна передней поверхности роговицы и увеличилась толщина центральной части роговицы [23].

L. Mastropasqua и соавт. (2018) и M. Nobile и соавт. (2021) приводят новый метод лечения кератоконуса под названием SLAK (Stromal lenticule addition keratoplasty – кератопластика с добавлением стромальных роговичных лентикул). Данный метод подразумевает имплантацию заготовленной лентикулы с помощью фемтосекундного лазера VisuMax® (Carl Zeiss Meditec AG, Германия). Команда получала лентикулы в форме отрицательного мениска с помощью технологии FLeX для коррекции гиперметропической рефракции. Далее лентикула помещалась в роговицу пациента в предварительно сформированный фемтосекундным лазером карман на глубину 120 мкм. По данным авторов, у 15 пациентов, пролеченных данным способом, получилось добиться смещения самой тонкой части роговицы к центру или в пределах 1 мм от центра. Средняя кривизна роговицы изменилась (Sim-K) с $59,63 \pm 7,58$ до $57,19 \pm 6,33$ D, толщина роговицы в центральной части – с 408 ± 59 до 472 ± 70 мкм, в самом тонком месте – с 362 ± 67 до 435 ± 68 мкм. Данный метод позволил уменьшить избыточную кривизну роговицы за счёт уплощения центральной части, увеличивалась толщина роговицы в центральной и наиболее тонкой точке роговицы [23, 24].

В отечественной литературе также присутствуют данные об использовании роговичной лентикулы в лечении кератоконуса.

Коллегами из Калужского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России Ю.Ю. Голубевой и соавт. (2019) проведена работа, где 15 пациентам проведён кроссслинкинг роговичного коллагена (по данным пахиметрии минимальная толщина роговицы – менее 400 мкм). После десептилизации и пропитывания роговицы раствором рибофлавина на протяжении 30 мин переходили ко второму этапу лечения – ультрафиолетовому облучению роговицы световым пятном 7,0 мм в течение 10 минут

с уровнем энергии в 9 мВт/см², с уложенным стромальным роговичным лоскутом на поверхности роговицы пациента. В сроке наблюдения 6 мес. морфофункциональные показатели роговицы сопровождались изменениями, характерными для классической методики УФ-кроссслинкинга (Дрезденский протокол) [25].

И.В. Васильева с коллегами (2017) провели аналогичную работу, были использованы лентикулы, полученные после применения методики ReLEX SMILE [26].

О.Ф. Зиятдинова и А.Ю. Расчёсов (2019) опубликовали клинический случай применения стромальной лентикулы в лечении кератоконуса с толщиной роговицы менее 400 мкм [27]. В статье продемонстрированы возможности имплантации донорской роговичной лентикулы при развитой стадии кератоконуса. Пациенту с кератоконусом 3-й стадии и толщиной роговицы 382 мкм в самой тонкой точке была имплантирована донорская роговичная лентикула диаметром 6,9 мм, центральная толщина – 190 мкм в роговичный карман диаметром 8,6 мм на глубине 115 мкм, сформированный с помощью фемтосекундного лазера. После 6 мес. максимальная корректируемая острота зрения улучшилась на 4 строчки (с 0,2 до 0,6) [27].

Т.Ю. Шилова в 2020 г. получила патент (№ 2718581) на способ хирургического лечения кератоконуса. Лентикулу извлекали и подвергали эксимерлазерной абляции до формирования гиперметропического профилля, а затем имплантировали пациенту с кератоконусом, в интрастромальный карман, сформированный с помощью фемтолазера.

Группа отечественных исследователей под руководством Ю.Ю. Калинникова (2019) описала клинический случай одновременной имплантации рефракционной лентикулы и сегмента интракорнеального кольца при лечении краевой пеллюцидной дегенерации. В качестве донорского пластинчатого трансплантата использовалась рефракционная лентикула, полученная во время операции SMILE. Описанная методика позволила частично уменьшить цилиндр и укрепить истончённую роговицу. Острота зрения вдали без коррекции улучшилась с 0,02 до 0,5, а острота зрения вдали с коррекцией повысилась с 0,4 до 0,7 при снижении роговичного астигматизма на 4,5 D. Новая методика, описанная в этом отчёте, оказалась успешной для этого конкретного пациента и, следовательно, может быть эффективной и безопасной при тяжёлых стадиях заболевания [28].

ПРИМЕНЕНИЕ РОГОВИЧНОЙ ЛЕНТИКУЛЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ДЕФЕКТАХ РОГОВИЦЫ И ПТЕРИГИУМЕ

Актуальным представляется использование лентикулы для закрытия дефектов при язвенных поражениях роговицы, так как, в частности, в развивающихся странах ежегодно регистрируется от 1,5 до 2 млн случаев язвенных поражений роговицы [29], в США встречаемость микробных кератитов составляет 11 на 100 000 человек населения в год, и в 12 % случаев требуется пересадка рого-

вицы [30]. По данным Глобального исследования по глазным трансплантациям, известно, что лишь 1 из 70 человек с излечимой патологией роговицы подвергается хирургическому вмешательству, и одной из основных проблем является недостаточность донорского материала [31]. Соответственно, приходится искать иные способы лечения роговичных дефектов. О.Р. Pant с коллегами из Китая и Таиланда (2020) опубликовали работу, в которую были включены 18 пациентов (18 глаз), которым была проведена тектоническая кератопластика с использованием рефракционной лентикулы, выделенной после процедуры SMILE. Оперативное лечение было успешным для 16 из 18 пациентов; одному пациенту пришлось выполнить повторную имплантацию лентикулы, и одному пациенту была выполнена аутоконъюнктивотеноопластика [32].

В другом исследовании представлены данные 22 пациентов, которым было выполнено покрытие роговичного дефекта лентикулой, 14 пациентов (16 глаз) с язвой роговицы и 6 пациентов (6 глаз) с перфорацией роговицы. Необходимо отметить, что большинство причин язвы роговицы или перфорации были иммунологическими (54,5%). Осложнений выявлено не было, анатомическая целостность глазного яблока и герметичность передней камеры была достигнута во всех случаях. Однако у троих пациентов потребовалось повторное покрытие лентикулой спустя 3 месяца после первоначальной операции по причине изначально малой остаточной толщины роговицы (< 250 мкм) [33]. Соответственно, при дефектах роговицы, при отсутствии целой донорской роговицы, лентикулы, выделенные при процедуре SMILE, могут послужить хорошей альтернативой [32–34].

Роговичные лентикулы можно использовать при выраженному истончении роговицы в случае рецидивирующего птеригиума. В литературе встречаются клинические случаи применения лентикулы для тектонического покрытия при выраженных истончениях роговицы после многократного хирургического удаления птеригиума. Так, О.Р. Pant и соавт. (2018) опубликовали свой опыт применения лентикулы в виде материала для покрытия у 65-летнего пациента с рецидивирующим птеригиумом и истончением периферической части роговицы до 270 мкм. Авторы использовали лентикулу, полученную с помощью VisuMax® Femtosecond laser (Carl Zeiss Meditec AG, Германия), при коррекции миопии у рефракционного пациента со сферической рефракцией -8,5 диоптрий (толщина лентикулы более 100 мкм). Лентикуле придали нужную форму и покрыли наиболее истонченную часть роговицы, фиксация 8 швами, нейлон 10-0. В послеоперационном наблюдении более 8 мес. – прозрачное приживление лентикулы [35].

Н. Не с соавт. (2021) опубликовали клинический случай хирургического лечения язвы Мурена в сочетании с птеригиумом. У пациентки 61 года с выраженным болевым синдромом и краевым истончением роговицы была выполнена ламеллярная кератопластика с иссечением птеригиума. В области язвы подготовлено ложе, куда после иссечения птеригиума была помещена и фиксирована узловыми швами (нейлон 10-0) подготовленная

лентикула от рефракционного пациента после лазерной коррекции по технологии ReLEx SMILE. В период наблюдения более 1 года – прозрачное приживление и отсутствие жалоб у пациентки [36].

КОНСЕРВАЦИЯ И ХРАНЕНИЕ РОГОВИЧНЫХ ЛЕНТИКУЛ

Ведутся работы в направлении консервации и хранения роговичных лентикул [37, 38]. Так, исследователи из Сингапура в 2017 г. представили работу, в которой сравнивали прозрачность и сохранность лентикул в 4 разных средах (DMEM, сыворотка молодых бычков, Optisol GS и 100%-й глицерин) со сроком хранения 48 часов и 4 недели. В результате исследования статистически значимых изменений ни в группах со сроком хранения 48 часов, ни в группах со сроком хранения 4 недели, выявлено не было [36].

S. Ganesh и соавт. из института Фако- и Рефракционной хирургии Бангалора (Индия) в 2014 г. опубликовали работу, в которой представлены данные по криоконсервации лентикул, полученных после применения методики SMILE у пациентов с близорукостью. Средняя продолжительность хранения лентикулы в жидком азоте составила 96 дней (от 19 до 178 дней). Далее эти лентикулы были использованы для лечения 8 гиперметропических глаз и 1 афакического глаза. Срок наблюдения в среднем составил 155,4 дня (от 38 до 310 дней), в течение которых, по словам авторов, отрицательной динамики и ухудшения зрения не наблюдалось [39].

В 2018 г. M.I. Hu и соавт. оценили эффективность применения растворов Triton X-100, додецил-сульфата натрия и трипсин-ЭДТА различных концентраций для получения децеллюляризованной роговичной лентикулы. После обработки лентикулы промывали в гипертоническом, изотоническом и гипотоническом трис-буферах, с последующим добавлением ДНКазы и РНКазы. В опыте было доказано, что растворы 0,25%-й и 0,5%-й трипсин-ЭДТА в гипотоническом трис-буфере позволяли добиться самого низкого содержания ДНК, в то время как количество гликозаминогликанов сохранялось на высоком уровне [40].

В литературе имеются данные использования лентикулы, полученной при коррекции зрения с помощью ReLEx SMILE технологии. Тем не менее, существующие протоколы хранения, децеллюляризации лентикулы, параметры прогнозирования рефракционного эффекта с целью коррекции аметропий не лишены недостатков и до конца не изучены [40–43].

Решить проблемы нехватки донорской роговицы можно путём применения технологии децеллюляризации, что позволяет создавать тканеинженерные структуры. С.А. Борзенок и соавт. (2021) провели сравнительный анализ протоколов децеллюляризации стромальных роговичных лентикул, полученных при коррекции близорукости по методике ReLEx SMILE. Для децеллюляризации материала применяли три протокола: 1) обработка 1,5 М хлоридом натрия с нуклеазами (NaCl); 2) 0,1 %

SDS (SDS); 3) обработка раствором Трипсин-ЭДТА с последующим двойным отмыванием в гипотоническом трис-буферном растворе с нуклеазами (Трипсин-ЭДТА). Во всех трёх методах ядерный и клеточный материал был удалён с высокой долей эффективности, остаточное количество ДНК не превышало 50 нг/мг. К сожалению, протокол с применением трипсин-ЭДТА может привести к снижению прозрачности роговицы, так как имеется значительное повреждение внеклеточного матрикса, который выступает в роли каркаса. При использовании протокола с хлоридом натрия прозрачность образцов была приближена к первоначальным лентикулам [42].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тканевой материал в виде лентикулы, полученный как при методике SMILE, так и из донорской, кадаверной, роговицы, может иметь разное применение. Его можно использовать в целях лечения, например при кератоконусе роговицы, при разных его стадиях, а также для коррекции аметропии (гиперметропии). Учитывая, что ни в одной из работ не было отмечено реакций со стороны организма реципиента на донорскую ткань, можно сказать, что использование данного материала достаточно безопасно. В этом направлении необходимы более тщательные исследования. Также необходима разработка методик, направленных на заготовку, хранение и обработку лентикул.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Mathews PM, Lindsley K, Aldave AJ, Akpek EK. Etiology of global corneal blindness and current practices of corneal transplantation: A focused review. *Cornea*. 2018; 37(9): 1198-1203. doi: 10.1097/ICO.0000000000001666
- Ing JJ, Ing HH, Nelson LR, Hodge DO, Bourne WM. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology*. 1998; 105(10): 1855-1865. doi: 10.1016/S0161-6420(98)91030-2
- Ağca A, Demirok A, Yıldırım Y, Demircan A, Yaşa D, Yeşilkaya C, et al. Refractive lenticule extraction (ReLEX) through a small incision (SMILE) for correction of myopia and myopic astigmatism: Current perspectives. *Clin Ophthalmol*. 2016; (10): 1905-1912. doi: 10.2147/OPTH.S80412
- Shortt AJ, Allan BD, Evans JR. Laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) versus photorefractive keratectomy (PRK) for myopia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; (1): CD005135. doi: 10.1002/14651858
- Williams GP, Wu B, Liu YC, Teo E, Nyein CL, Peh G, et al. Hyperopic refractive correction by LASIK, SMILE or lenticule reimplantation in a non-human primate model. *PLoS One*. 2018; 13(3): e0194209. doi: 10.1371/journal.pone.0194209
- Liu LP, Wang Y, He M, Li SQ, Zeng MZ, Zhong XW. Preliminary investigation femtosecond laser-assisted refractive lenticule transplantation in rhesus monkeys. *Journal Of Sun Yat-sen University (Medical Sciences)*. 2015; 36(3): 449-455.
- Damgaard IB, Liu YC, Riau AK, Teo EPW, Tey ML, Nyein CL, et al. Corneal remodelling and topography following biological inlay implantation with combined crosslinking in a rabbit model. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 4479. doi: 10.1038/s41598-019-39617-0
- Barraquer JI. Modification of refraction by mean of intracorneal inclusions. *Int Ophthalmol Clin*. 1966; 6(1): 53-78.
- Angunawela RI, Riau AK, Chaurasia SS, Tan DT, Mehta JS. Refractive lenticule re-implantation after myopic ReLEX: A feasibility study of stromal restoration after refractive surgery in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53(8): 4975-4985. doi: 10.1167/iovs.12-10170
- Riau AK, Angunawela RI, Chaurasia SS, Lee WS, Tan DT, Mehta JS. Reversible femtosecond laser-assisted myopia correction: A non-human primate study of lenticule re-implantation after refractive lenticule extraction. *PLoS One*. 2013; 8(6): e67058. doi: 10.1371/journal.pone.0067058
- Liu H, Zhu W, Jiang AC, Sprecher AJ, Zhou X. Femtosecond laser lenticule transplantation in rabbit cornea: Experimental study. *J Refract Surg*. 2012; 28(12): 907-911. doi: 10.3928/1081597X-20121115-05
- Liu R, Zhao J, Xu Y, Li M, Niu L, Liu H, et al. Femtosecond laser assisted corneal small incision allogenic intrastromal lenticule implantation in monkeys: A pilot study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015; 56(6): 3715-3720. doi: 10.1167/iovs.14-15296
- Zhao J, Shen Y, Tian M, Sun L, Zhao Y, Zhang X, et al. Corneal lenticule allotransplantation after femtosecond laser small incision lenticule extraction in rabbits. *Cornea*. 2017; 36(2): 222-228. doi: 10.1097/ICO.00000000000001076
- Damgaard IB, Ivarsen A, Hjortdal J. Biological lenticule implantation for correction of hyperopia: An ex vivo study in human corneas. *J Refract Surg*. 2018; 34(4): 245-252. doi: 10.3928/1081597X-20180206-01
- Pradhan KR, Reinstein DZ, Carp GI, Archer TJ, Gobbe M, Gurung R. Femtosecond laser-assisted keyhole endokeratophakia: Correction of hyperopia by implantation of an allogeneic lenticule obtained by SMILE from a myopic donor. *J Refract Surg*. 2013; 29(11): 777-782. doi: 10.3928/1081597X-20131021-07
- Sun L, Yao P, Li M, Shen Y, Zhao J, Zhou X. The safety and predictability of implanting autologous lenticule obtained by SMILE for hyperopia. *J Refract Surg*. 2015; 31(6): 374-379. doi: 10.3928/1081597X-20150521-03
- The tool for additive hyperopia surgery – creating refractive lenticules for LIKE surgery. URL: <https://www.gebauermedical.com/refractive/> [date of access: 10.06.2018].
- Moshirfar M, Shah TJ, Masud M, Fanning T, Linn SH, Ronquillo Y, et al. A modified small-incision lenticule intrastromal keratoplasty (sLIKE) for the correction of high hyperopia: A description of a new surgical technique and comparison to lenticule intrastromal keratoplasty (LIKE). *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol*. 2018; 7(2): 48-56.
- Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, Agarwal A, Aravind R, Sajjimol AI. Preliminary evidence of successful near vision enhancement with a new technique: PrEsbyopic Allogenic Refractive Lenticule (PEARL) corneal inlay using a SMILE lenticule. *J Refract Surg*. 2017; 33(4): 224-229. doi: 10.3928/1081597X-20170111-03
- Konstantopoulos A, Liu YC, Teo EP, Lwin NC, Yam GH, Mehta JS. Early wound healing and refractive response of dif-

- ferent pocket configurations following presbyopic inlay implantation. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0172014. doi: 10.1371/journal.pone.0172014
21. Ganesh S, Brar S. Femtosecond intrastromal lenticular implantation combined with accelerated collagen cross-linking for the treatment of keratoconus – initial clinical result in 6 eyes. *Cornea*. 2015; 34(10): 1331-1339. doi: 10.1097/YCO.0000000000000539
22. Jin H, He M, Liu H, Zhong X, Wu J, Liu L, et al. Small-incision femtosecond laser-assisted intracorneal concave lenticule implantation in patients with keratoconus. *Cornea*. 2019; 38(4): 446-453. doi: 10.1097/ICO.0000000000001877
23. Mastropasqua L, Nobile M, Salgari N, Mastropasqua R. Femtosecond laser-assisted stromal lenticule addition keratoplasty for the treatment of advanced keratoconus: A preliminary study. *J Refract Surg*. 2018; 34(1): 36-44. doi: 10.3928/1081597X-20171004-04
24. Nobile M, Salgari N, Mehta JS, Calienno R, Erroi E, Bondi J, et al. Epithelial and stromal remodelling following femtosecond laser-assisted stromal lenticule addition keratoplasty (SLAK) for keratoconus. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 2293. doi: 10.1038/s41598-021-81626-5
25. Голубева Ю.Ю., Терещенко А.В., Трифаниенкова И.Г., Вишнякова Е.Н., Демьянченко С.К. Методика ультрафиолетового кросслинкинга в лечении прогрессирующего кератоконуса при «тонкой роговице». *Современные технологии в офтальмологии*. 2019; (4): 59-62. doi: 10.25276/2312-4911-2019-4-59-62
26. Васильева И.В., Егоров В.В., Васильев А.В. Анализ эффективности и безопасности кросслинкинга роговичного коллагена у пациентов с толщиной роговицы менее 400 мкм после дезептилизации с применением донорской роговичной лентикулы. *Практическая медицина*. 2017; 9(110): 25-28.
27. Зиятдинова О.Ф., Расчёсков А.Ю. Интрастромальная имплантация донорской роговичной лентикулы при развитой стадии кератоконуса. *Современные технологии в офтальмологии*. 2019; (5): 277-280. doi: 10.25276/2312-4911-2019-5-277-280
28. Kalinnikov Y, Zinovyeva A, Nevrov D, Leontyeva G. Simultaneous implantation of refractive lenticule and intracorneal ring segment in the management of pellucid marginal degeneration. *J Refract Surg*. 2019; 35(9): 606-609. doi: 10.3928/1081597X-20190812-01
29. Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: A global perspective. *Bull World Health Organ*. 2001; 79(3): 214-221.
30. Estopinal CB, Ewald MD. Geographic disparities in the etiology of bacterial and fungal keratitis in the United States of America. *Semin Ophthalmol*. 2016; 31(4): 345-352. doi: 10.3109/08820538.2016.1154173
31. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. Global survey of corneal transplantation and eye banking. *JAMA Ophthalmol*. 2016; 134(2): 167-173. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776
32. Pant OP, Hao J, Zhou D, Pant M, Lu C. Tectonic keratoplasty using small incision lenticule extraction-extracted intrastromal lenticule for corneal lesions. *J Int Med Res*. 2020; 48(1): 300060519897668. doi: 10.1177/0300060519897668
33. Jiang Y, Li Y, Liu XW, Xu J. A novel tectonic keratoplasty with femtosecond laser intrastromal lenticule for corneal ulcer and perforation. *Chin Med J (Engl)*. 2016; 129(15): 1817-1821. doi: 10.4103/0366-6999.186639
34. Abd Elaziz MS, Zaky AG, El Saebay Sarhan AR. Stromal lenticule transplantation for management of corneal perforations: one year results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017; 255(6): 1179-1184. doi: 10.1007/s00417-017-3645-6
35. Pant OP, Hao JL, Zhou DD, Wang F, Lu CW. A novel case using femtosecond laser-acquired lenticule for recurrent pterygium: Case report and literature review. *J Int Med Res*. 2018; 46(6): 2474-2480. doi: 10.1177/0300060518765303
36. He N, Song W, Gao Y. Treatment of Mooren's ulcer coexisting with a pterygium using an intrastromal lenticule obtained from small-incision lenticule extraction: Case report and literature review. *J Int Med Res*. 2021; 49(6): 3000605211020246. doi: 10.1177/03000605211020246
37. Liu YC, Williams GP, George BL, Soh YQ, Seah XY, Peh GSL, et al. Corneal lenticule storage before reimplantation. *Mol Vis*. 2017; (23): 753-764
38. Zohdi V, Whelan DR, Wood BR, Pearson JT, Bamberg KR, Black MJ. Importance of tissue preparation methods in FTIR microspectroscopical analysis of biological tissues: "traps for new users". *PLoS One*. 2015; 10(2): e0116491. doi: 10.1371/journal.pone.0116491
39. Ganesh S, Brar S, Rao PA. Cryopreservation of extracted corneal lenticules after small incision lenticule extraction for potential use in human subjects. *Cornea*. 2014; 33(12): 1355-1362. doi: 10.1097/ICO.0000000000000276
40. Huh MI, Lee KP, Kim J, Yi S, Park BU, Kim HK. Generation of femtosecond laser-cut decellularized corneal lenticule using hypotonic trypsin-EDTA solution for corneal tissue engineering. *J Ophthalmol*. 2018; 2018: 2590536. doi: 10.1155/2018/2590536
41. Костенев С.В., Борзенок С.А., Ли В.Г., Носиров П.О. Применение лентикулярной ткани в рефракционной хирургии роговицы. *Офтальмохирургия*. 2021; (1): 68-72. doi: 10.25276/0235-4160-2021-1-68-72
42. Борзенок С.А., Костенев С.В., Дога А.В., Шацких А.В., Ли В.Г., Островский Д.С. и др. Сравнительный анализ протоколов децеллюляризации лентикулярной ткани роговицы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021; 23(2): 137-146. doi: 10.15825/1995-1191-2021-2-137-146
43. Mohamed-Noriega Rim K, Toh K-P, Poh R, Balehosur D, Riau A, Htoo HM, et al. Cornea lenticule viability and structural integrity after refractive lenticule extraction (ReLEx) and cryopreservation. *Mol Vis*. 2011; (17): 3437-3449.

REFERENCES

1. Mathews PM, Lindsley K, Aldave AJ, Akpek EK. Etiology of global corneal blindness and current practices of corneal transplantation: a focused review. *Cornea*. 2018; 37(9): 1198-1203. doi: 10.1097/ICO.0000000000001666
2. Ing JJ, Ing HH, Nelson LR, Hodge DO, Bourne WM. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology*. 1998; 105(10): 1855-1865. doi: 10.1016/S0161-6420(98)91030-2
3. AĞCA A, Demirok A, Yıldırım Y, Demircan A, Yaşa D, Yeşilkaya C, et al. Refractive lenticule extraction (ReLEx) through a small incision (SMILE) for correction of myopia and myopic astigmatism: Current perspectives. *Clin Ophthalmol*. 2016; (10): 1905-1912. doi: 10.2147/OPTH.S80412
4. Shortt AJ, Allan BD, Evans JR. Laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) versus photorefractive keratectomy (PRK)

- for myopia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013; (1): CD005135. doi: 10.1002/14651858
5. Williams GP, Wu B, Liu YC, Teo E, Nyein CL, Peh G, et al. Hyperopic refractive correction by LASIK, SMILE or lenticule reimplantation in a non-human primate model. *PLoS One.* 2018; 13(3): e0194209. doi: 10.1371/journal.pone.0194209
 6. Liu LP, Wang Y, He M, Li SQ, Zeng MZ, Zhong XW. Preliminary investigation femtosecond laser-assisted refractive lenticule transplantation in rhesus monkeys. *Journal Of Sun Yat-sen University (Medical Sciences).* 2015; 36(3): 449-455.
 7. Damgaard IB, Liu YC, Riau AK, Teo EPW, Tey ML, Nyein CL, et al. Corneal remodelling and topography following biological inlay implantation with combined crosslinking in a rabbit model. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 4479. doi: 10.1038/s41598-019-39617-0
 8. Barraquer JI. Modification of refraction by mean of intracorneal inclusions. *Int Ophthalmol Clin.* 1966; 6(1): 53-78.
 9. Angunawela RI, Riau AK, Chaurasia SS, Tan DT, Mehta JS. Refractive lenticule re-implantation after myopic ReLEX: A feasibility study of stromal restoration after refractive surgery in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53(8): 4975-4985. doi: 10.1167/iovs.12-10170
 10. Riau AK, Angunawela RI, Chaurasia SS, Lee WS, Tan DT, Mehta JS. Reversible femtosecond laser-assisted myopia correction: A non-human primate study of lenticule re-implantation after refractive lenticule extraction. *PLoS One.* 2013; 8(6): e67058. doi: 10.1371/journal.pone.0067058
 11. Liu H, Zhu W, Jiang AC, Sprecher AJ, Zhou X. Femtosecond laser lenticule transplantation in rabbit cornea: Experimental study. *J Refract Surg.* 2012; 28(12): 907-911. doi: 10.3928/1081597X-20121115-05
 12. Liu R, Zhao J, Xu Y, Li M, Niu L, Liu H, et al. Femtosecond laser assisted corneal small incision allogenic intrastromal lenticule implantation in monkeys: A pilot study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015; 56(6): 3715-3720. doi: 10.1167/iovs.14-15296
 13. Zhao J, Shen Y, Tian M, Sun L, Zhao Y, Zhang X, et al. Corneal lenticule allotransplantation after femtosecond laser small incision lenticule extraction in rabbits. *Cornea.* 2017; 36(2): 222-228. doi: 10.1097/ICO.0000000000001076
 14. Damgaard IB, Ivarsen A, Hjortdal J. Biological lenticule implantation for correction of hyperopia: An ex vivo study in human corneas. *J Refract Surg.* 2018; 34(4): 245-252. doi: 10.3928/1081597X-20180206-01
 15. Pradhan KR, Reinstein DZ, Carp GI, Archer TJ, Gobbe M, Gurung R. Femtosecond laser-assisted keyhole endokeratophakia: Correction of hyperopia by implantation of an allogeneic lenticule obtained by SMILE from a myopic donor. *J Refract Surg.* 2013; 29(11): 777-782. doi: 10.3928/1081597X-20131021-07
 16. Sun L, Yao P, Li M, Shen Y, Zhao J, Zhou X. The safety and predictability of implanting autologous lenticule obtained by SMILE for hyperopia. *J Refract Surg.* 2015; 31(6): 374-379. doi: 10.3928/1081597X-20150521-03
 17. *The tool for additive hyperopia surgery – creating refractive lenticules for LIKE surgery.* URL: <https://www.gebauermedical.com/refractive/> [date of access: 10.06.2018].
 18. Moshirfar M, Shah TJ, Masud M, Fanning T, Linn SH, Ronquillo Y, et al. A modified small-incision lenticule intrastromal keratoplasty (sLIKE) for the correction of high hyperopia: A description of a new surgical technique and comparison to lenticule intrastromal keratoplasty (LIKE). *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* 2018; 7(2): 48-56.
 19. Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, Agarwal A, Aravind R, Sajjimol AI. Preliminary evidence of successful near vision enhancement with a new technique: PrEsbyopic Allogenic Refractive Lenticule (PEARL) corneal inlay using a SMILE lenticule. *J Refract Surg.* 2017; 33(4): 224-229. doi: 10.3928/1081597X-20170111-03
 20. Konstantopoulos A, Liu YC, Teo EP, Lwin NC, Yam GH, Mehta JS. Early wound healing and refractive response of different pocket configurations following presbyopic inlay implantation. *PLoS One.* 2017; 12(2): e0172014. doi: 10.1371/journal.pone.0172014
 21. Ganesh S, Brar S. Femtosecond intrastromal lenticular implantation combined with accelerated collagen cross-linking for the treatment of keratoconus – initial clinical result in 6 eyes. *Cornea.* 2015; 34(10): 1331-1339. doi: 10.1097/ICO.0000000000000539
 22. Jin H, He M, Liu H, Zhong X, Wu J, Liu L, et al. Small-incision femtosecond laser-assisted intracorneal concave lenticule implantation in patients with keratoconus. *Cornea.* 2019; 38(4): 446-453. doi: 10.1097/ICO.0000000000001877
 23. Mastropasqua L, Nobile M, Salgari N, Mastropasqua R. Femtosecond laser-assisted stromal lenticule addition keratoplasty for the treatment of advanced keratoconus: A preliminary study. *J Refract Surg.* 2018; 34(1): 36-44. doi: 10.3928/1081597X-20171004-04
 24. Nobile M, Salgari N, Mehta JS, Calienno R, Erroi E, Bondi J, et al. Epithelial and stromal remodelling following femtosecond laser-assisted stromal lenticule addition keratoplasty (SLAK) for keratoconus. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 2293. doi: 10.1038/s41598-021-81626-5
 25. Golubeva YuYu, Tereshchenko AV, Trifanenkova IG, Vishnyakova YeN, Dem'yanchenko SK. Ultraviolet crosslinking technique in the treatment of progressive keratoconus with a "thin cornea". *Sovremennye tekhnologii v oftalmologii.* 2019; (4): 59-62. (In Russ.). doi: 10.25276/2312-4911-2019-4-59-62
 26. Vasilyeva IV, Egorov VV, Vasilyev AV. Analysis of efficiency and safety of corneal collagen crosslinking in patients with cornea thickness less than 400 microns after deepitilization with application of corneal lenticule graft. *Practical medicine.* 2017; 9(11): 25-28. (In Russ.).
 27. Ziatdinova OF, Rascheskov AY. The intrastromal lenticule implantation for advanced keratoconus. *Sovremennye tekhnologii v oftalmologii.* 2019; (5): 277-280. (In Russ.). doi: 10.25276/2312-4911-2019-5-277-280
 28. Kalinnikov Y, Zinov'yeva A, Nevrov D, Leontyeva G. Simultaneous implantation of refractive lenticule and intracorneal ring segment in the management of pellucid marginal degeneration. *J Refract Surg.* 2019; 35(9): 606-609. doi: 10.3928/1081597X-20190812-01
 29. Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: A global perspective. *Bull World Health Organ.* 2001; 79(3): 214-221.
 30. Estopinal CB, Ewald MD. Geographic disparities in the etiology of bacterial and fungal keratitis in the United States of America. *Semin Ophthalmol.* 2016; 31(4): 345-352. doi: 10.3109/08820538.2016.1154173
 31. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Congnasse F, et al. Global survey of corneal transplantation and eye banking. *JAMA Ophthalmol.* 2016; 134(2): 167-173. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776
 32. Pant OP, Hao J, Zhou D, Pant M, Lu C. Tectonic keratoplasty using small incision lenticule extraction-extracted intras-

- tromal lenticule for corneal lesions. *J Int Med Res.* 2020; 48(1): 300060519897668. doi: 10.1177/0300060519897668
33. Jiang Y, Li Y, Liu XW, Xu J. A novel tectonic keratoplasty with femtosecond laser intrastromal lenticule for corneal ulcer and perforation. *Chin Med J (Engl).* 2016; 129(15): 1817-1821. doi: 10.4103/0366-6999.186639
34. Abd Elaziz MS, Zaky AG, El Saebay Sarhan AR. Stromal lenticule transplantation for management of corneal perforations; one year results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017; 255(6): 1179-1184. doi: 10.1007/s00417-017-3645-6
35. Pant OP, Hao JL, Zhou DD, Wang F, Lu CW. A novel case using femtosecond laser-acquired lenticule for recurrent pterygium: Case report and literature review. *J Int Med Res.* 2018; 46(6): 2474-2480. doi: 10.1177/0300060518765303
36. He N, Song W, Gao Y. Treatment of Mooren's ulcer coexisting with a pterygium using an intrastromal lenticule obtained from small-incision lenticule extraction: Case report and literature review. *J Int Med Res.* 2021; 49(6): 3000605211020246. doi: 10.1177/03000605211020246
37. Liu YC, Williams GP, George BL, Soh YQ, Seah XY, Peh GSL, et al. Corneal lenticule storage before reimplantation. *Mol Vis.* 2017; (23): 753-764
38. Zohdi V, Whelan DR, Wood BR, Pearson JT, Bamberg KR, Black MJ. Importance of tissue preparation methods in FTIR
- micro-spectroscopical analysis of biological tissues: "traps for new users". *PLoS One.* 2015; 10(2): e0116491. doi: 10.1371/journal.pone.0116491
39. Ganesh S, Brar S, Rao PA. Cryopreservation of extracted corneal lenticules after small incision lenticule extraction for potential use in human subjects. *Cornea.* 2014; 33(12): 1355-1362. doi: 10.1097/ICO.0000000000000276
40. Huh MI, Lee KP, Kim J, Yi S, Park BU, Kim HK. Generation of femtosecond laser-cut decellularized corneal lenticule using hypotonic trypsin-EDTA solution for corneal tissue engineering. *J Ophthalmol.* 2018; 2018: 2590536. doi: 10.1155/2018/2590536
41. Kostenev SV, Borzenok SA, Lee VG, Nosirov PO. The use of lenticular tissue in corneal refractive surgery. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery.* 2021; (1): 68-72. (In Russ.). doi: 10.25276/0235-4160-2021-1-68-72
42. Borzenok SA, Kostenev SV, Doga AV, Shatskikh AV, Li VG, Ostrovskiy DS, et al. Comparative analysis of protocols for decellularization of corneal lenticular tissue. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2021; 23(2): 137-146. (In Russ.). doi: 10.15825/1995-1191-2021-2-137-146
43. Mohamed-Noriega K, Toh K-P, Poh R, Balehosur D, Riau A, Htoon HM, et al. Cornea lenticule viability and structural integrity after refractive lenticule extraction (ReLEX) and cryopreservation. *Mol Vis.* 2011; (17): 3437-3449.

Сведения об авторах

- Бойко Эрнест Витальевич** – доктор медицинских наук, профессор, директор, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; заведующий кафедрой офтальмологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России; член-корреспондент, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, e-mail: pochta@mntk.spb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7413-7478>
- Титов Алексей Валерьевич** – заведующий отделением рефракционной хирургии и патологии роговицы, руководитель Глазного Тканевого Банка, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: mr.titov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6847-4737>
- Масян Янек Иванович** – врач-офтальмолог отделения рефракционной хирургии и патологии роговицы, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: yanick.masian@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6262-1553>
- Мирсайтова Дилара Равилевна** – врач-офтальмолог отделения рефракционной хирургии и патологии роговицы, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: dilara_mirsaitova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8825-312X>

Information about the authors

- Ernest V. Boiko** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Saint Petersburg Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Head of the Ophthalmology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Correspondent Member, S.M. Kirov Military Medical Academy, e-mail: pochta@mntk.spb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7413-7478>
- Alekssei V. Titov** – Head of Refractive Surgery and Corneal Pathology Department, Director of the Eye Tissue Bank, Saint Petersburg Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: mr.titov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6847-4737>
- Janek I. Masian** – Ophthalmologist at the Refractive Surgery and Corneal Pathology Department, Saint Petersburg Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: yanick.masian@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6262-1553>
- Dilara R. Mirsaitova** – Ophthalmologist at the Refractive Surgery and Corneal Pathology Department, Saint Petersburg Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: dilara_mirsaitova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8825-312X>

Статья опубликована в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «VIII Байкальские офтальмологические чтения «Визуализация в офтальмологии. Настоящее и будущее».

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С ГЛАУКОМОЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДАХ ЛЕЧЕНИЯ

РЕЗЮМЕ

Курбанов С.А.¹,
Габдрахманова А.Ф.¹,
Хабибуллаев Ш.Ш.²

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (4500000, г. Уфа, ул. Ленина, 3, Россия)

² Глазная клиника «Dr. Murad Eye Clinic» (100100, г. Ташкент, ул. Мукими, 1/2, Республика Узбекистан)

Автор, ответственный за переписку:

Курбанов Садырбек
Абдувакасович,
e-mail: srbek@mail.ru

Обоснование. Исследование и поддержание приемлемого качества жизни считается главной целью лечения хронического неизлечимого заболевания, в том числе и глаукомы.

Цель работы. Комплексная оценка качества жизни больных с глаукомой на фоне различных видов хирургического и консервативного лечения в сроки до и через 1 месяц после лечения.

Материал и методы. Проведено рандомизированное контролируемое исследование, в котором участвовали 229 пациентов, распределённые на две группы. 1-я группа пациентов (133 человека), получавших различные виды хирургического вмешательства по поводу глаукомы, состояла из 6 подгрупп. Пациентам 1-й группы проведены следующие виды операций: синустрабекулэктомия с применением дренажа «Глаутекс»; классическая синустрабекулэктомия; синустрабекулэктомия с имплантацией дренажа из коллагеновой гемостатической губки; транссклеральная лазерная циклокоагуляция цилиарного тела; факоэмульсификация катаракты при коморбидной первичной открытоугольной глаукоме и при первичной закрытоугольной глаукоме. 2-ю группу (96 человек) составили пациенты, получившие консервативное лечение; она состояла из 4 подгрупп. Представители подгрупп 2-й группы получали различные виды консервативной терапии на фоне локальной гипотензивной терапии: комплексное лечение с применением ангиопротекторов, витаминов, ноотропов в условиях стационара; нейропротекторную терапию в виде внутримышечной инъекции препарата «Ретиналамин». Всем пациентам после получения информированного добровольного согласия на участие в исследовании проведена комплексная оценка качества жизни с применением универсальных, специфических и психологических опросников (SF-36, визуально-аналоговая шкала, EQ-5D, VFQ-25, GQL-15, VF-14 и HADS) до лечения и спустя 1 месяц после лечения.

Результаты. Проводимая терапия положительно влияет на качество жизни обеих групп пациентов, однако наиболее выраженная положительная динамика отмечается при консервативной терапии по сравнению с проведённым хирургическим лечением. Применение валидных, надёжных опросников позволяет полноценно оценить качество жизни при глаукоме.

Ключевые слова: глаукома, качество жизни, глаукомные дренажи, хирургическое лечение, консервативное лечение

Статья поступила: 09.09.2021

Статья принята: 18.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Курбанов С.А., Габдрахманова А.Ф., Хабибуллаев Ш.Ш. Комплексная оценка качества жизни пациентов с глаукомой при различных методах лечения. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 153-163. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.16

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE QUALITY OF LIFE OF PATIENTS WITH GLAUCOMA WHEN USING VARIOUS METHODS OF TREATMENT

ABSTRACT

Kurbanov S.A.¹,
Gabdrakhmanova A.F.¹,
Khabibullaev Sh.Sh.²

¹ Bashkir State Medical University
(Lenina str. 3, Ufa 450000,
Russian Federation)

² Eye Clinic "Dr. Murad Eye Clinic"
(Mukimi str. 1/2, Tashkent 100100,
Republic of Uzbekistan)

Corresponding author:
Sadyrbek A. Kurbanov,
e-mail: srbek@mail.ru

Background. Research and maintenance of an acceptable quality of life is considered to be the main aim of treating chronic incurable disease including glaucoma.

The aim. To perform a comprehensive assessment of the quality of life of patients with glaucoma when using various types of surgical and conservative treatment before treatment and 1 month after treatment.

Material and methods. We carried out a randomized controlled study which included 229 patients, divided into 2 groups. The first group of patients (133 people) received various types of surgical intervention for glaucoma, consisted of 6 subgroups. They had the following types of surgeries: sinus trabeculectomy with the use of "Glautech" drainage implant; classical sinus trabeculectomy; sinus trabeculectomy with implantation of drainage made of a collagen hemostatic foam; transscleral laser cyclocoagulation of the ciliary body; cataract phacoemulsification in comorbid primary open-angle glaucoma and in primary closed-angle glaucoma. The second group consisted of 96 patients who received conservative treatment; it consisted of 4 subgroups. Patients of subgroups of the 2nd group received various types of conservative therapy against the background of local antihypertensive therapy: complex treatment with the use of vasoprotectives, vitamins, nootropics in a hospital setting; neuroprotective therapy in the form of Retinalamin intramuscular injection. After receiving informed voluntary consent to participate in the study, all patients underwent a comprehensive assessment of the quality of life using universal, specific and psychological questionnaires (SF-36, visual analogue scale, EQ-5D, VFQ-25, GQL-15, VF-14 and HADS) before treatment and 1 month after treatment.

Results. The therapy had a positive effect on the quality of life in both groups of patients, however the most pronounced positive dynamics is registered in patients having conservative therapy as compared with those having surgical treatment. The use of valid, reliable questionnaires makes it possible to fully assess the quality of life in glaucoma.

Key words: glaucoma, quality of life, glaucoma drainage implants, surgical treatment, conservative treatment

Received: 09.09.2021

Accepted: 18.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Kurbanov S.A., Gabdrakhmanova A.F., Khabibullaev Sh.Sh. Comprehensive assessment of the quality of life of patients with glaucoma when using various methods of treatment. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 153-163. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.16

Глаукома является важной проблемой в структуре офтальмологических заболеваний. В России официально состоят на учете по поводу данного заболевания более 1 млн пациентов, а по инвалидности глаукома занимает первое место в структуре офтальмопатологий [1]. Хронический характер течения глаукомы определяется изменением физических и психических характеристик пациента [2]. Негативное влияние глаукомы на эмоциональную сферу отягощает течение, ухудшает прогноз болезни и качество жизни (КЖ) пациента [3]. Эффективность проводимой терапии имеет важное значение для оценки КЖ пациентов; целью лечения глаукомы является улучшение благополучия пациента путём сохранения КЖ и предупреждения заболевания [4]. L.G. Nyman и соавт. в своём исследовании не нашли зависимости КЖ от варианта проводимого лечения [5]. E. Rulli и соавт. описали зависимость КЖ от остроты зрения [6]. На сегодняшний день влияние различных видов хирургической и консервативной терапии глаукомы на КЖ изучено недостаточно; в ранее проведённых исследованиях данный вопрос детально не освещён [7–9].

Вышеизложенное обусловило актуальность проведения настоящего исследования.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Комплексная оценка качества жизни больных глаукомой на фоне различных видов хирургического и консервативного лечения в сроки до и через 1 месяц после лечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 229 пациентов с глаукомой. Участники исследования в зависимости от применяемых методов лечения были разделены на две группы. Распределение пациентов 1-й группы по подгруппам в зависимости от стадии глаукомы приведено в таблице 1.

В 1-ю группу исследования включены 133 человека (133 глаза), получившие хирургическое лечение. Дан-

ная группа в зависимости от вида выполненной операции была разделена на 6 подгрупп.

Подгруппа 1.1 состояла из 22 человек (13 мужчин, 9 женщин) с первичной открытоглазной глаукомой (ПОУГ); средний возраст – $64,5 \pm 7,7$ года. Пациентам проведена антиглаукоматозная операция синусотрабекулэктомии с применением дренажа «Глаутекс» (СТЭГ).

В подгруппу 1.2 включены 25 человек (15 мужчин, 10 женщин); средний возраст – $67,1 \pm 9,7$ года. В данной подгруппе пациентов проведена операция классической синусотрабекулэктомии (СТЭ).

Подгруппа 1.3 состояла из 21 человека (9 мужчин, 12 женщин); средний возраст – $63,9 \pm 5,4$ года. Пациентам данной подгруппы проведена синусотрабекулэктомия с применением дренажа «коллагеновая гемостатическая губка» (СТЭГГ) (Патент РФ № 2738309 от 11.12.2020).

Пациентам подгрупп 1.1–1.3 проводился контроль внутриглазного давления (ВГД) в течение 18 месяцев: в сроки 1, 3, 6, 12 и 18 мес.

В подгруппу 1.4 были включены 17 пациентов (10 мужчин, 7 женщин); средний возраст – $68,7 \pm 7,0$ лет. Им проведена операция транссклеральной лазерной циклокоагуляции (ТЛЦК).

Всем пациентам подгрупп 1.1–1.4 проведена оценка качества жизни до лечения и через 1 месяц после лечения.

Подгруппу 1.5 составили 32 пациента (8 мужчин, 24 женщины) с ПОУГ и с сопутствующей возрастной катарактой; средний возраст – $67,7 \pm 7,0$ лет.

Подгруппа 1.6 включала в себя 16 пациентов (6 мужчин, 10 женщин) с первичной закрытоглазной глаукомой (ПЗУГ) и с сопутствующей возрастной катарактой; средний возраст – $68,2 \pm 4,19$ года. Пациентам подгрупп 1.5–1.6 проведена оценка КЖ перед операцией ультразвуковой факоэмульсификации катаракты с имплантацией интраокулярной линзы (ФЭК ИОЛ).

Во 2-ю группу исследования включены 96 человек (192 глаза), получившие консервативное лечение. Данная группа состояла из 4 подгрупп; распределение пациентов 2-й группы по подгруппам в зависимости от стадии глаукомы приведено в таблице 2.

В подгруппу 2.1 включены 25 человек (10 мужчин, 15 женщин; средний возраст – $66,7 \pm 5,5$ года), которые

ТАБЛИЦА 1
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПЕРВОЙ ГРУППЫ
ПО СТАДИЯМ ГЛАУКОМЫ

TABLE 1
DISTRIBUTION OF PATIENTS OF THE FIRST GROUP
BY STAGES OF GLAUCOMA

| Подгруппы | I стадия | II стадия | III стадия | IV стадия | Всего (глаз) |
|-----------|----------|-----------|------------|-----------|--------------|
| 1.1 | – | 12 | 9 | 1 | 22 |
| 1.2 | 1 | 13 | 9 | 2 | 25 |
| 1.3 | – | 12 | 8 | 1 | 21 |
| 1.4 | – | – | 3 | 14 | 17 |
| 1.5 | 2 | 18 | 10 | 2 | 32 |
| 1.6 | 1 | 8 | 6 | 1 | 16 |

в условиях стационара получили консервативное лечение: местная гипотензивная терапия (простагландины, бета-блокаторы, ингибиторы карбоангидразы); метаболические средства (кардионат 5% – 5,0 мл, № 5); антиопротекторы и корректоры микроциркуляции (пентоксифиллин 2% – 5,0 мл на 0,9%-м физиологическом растворе – 10,0 мл, № 5); витамины (аскорбиновая кислота 5% – 2,0 мл, № 5; никотиновая кислота 1% – 1,0 мл, № 5; пиридоксин гидрохлорид 5% – 1,0 мл, № 5; тиамина гидрохлорид 5% – 1,0 мл, № 5); ноотропы (пирацетам 40% – 10,0 мл, № 5); антиоксидантное средство (мексидол 5% – 5,0 мл).

Подгруппа 2.2 состояла из 23 пациентов (3 мужчины, 20 женщин) с ПОУГ; средний возраст – $66,3 \pm 10,8$ года. Пациенты данной подгруппы на фоне локальных гипо-

тензивных капель получали нейроретинопротекторную терапию с применением препарата «Ретиналамин» 5 мг 1 раз в день, № 10.

Подгруппу 2.3 составили 25 пациентов (11 мужчин, 14 женщин; средний возраст – $61,6 \pm 8,4$ года), которые находились на учёте с диагнозом ПОУГ, получали только местное гипотензивное лечение (МГ).

Подгруппа 2.4 включала в себя 23 пациента (11 мужчин, 12 женщин; средний возраст – $64,1 \pm 7,6$ года) с ПОУГ и сопутствующей осложнённой катарактой, находящихся только на местном гипотензивном лечении.

Сопоставимость распределения пациентов в подгруппах проверена с помощью t-критерия Стьюдента: они были однородны по возрасту ($t = -1,76-1,67$; $p = 0,07-0,91$), зрительным функциям ($t = -1,20-1,25$;

ТАБЛИЦА 2
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ 2-Й ГРУППЫ
ПО СТАДИЯМ ГЛАУКОМЫ

| Подгруппы | I стадия | II стадия | III стадия | IV стадия | Всего (глаз) |
|-----------|------------|--------------|-------------|------------|--------------|
| 2.1 | 3 | 29 | 14 | 4 | 50 |
| 2.2 | – | 34 | 12 | – | 46 |
| 2.3 | 4 | 28 | 14 | 4 | 50 |
| 2.4 | 3 | 27 | 14 | 2 | 46 |
| Итого | 10 (5,2 %) | 118 (61,5 %) | 54 (28,1 %) | 10 (5,2 %) | 192 (100%) |

ТАБЛИЦА 3
СТРУКТУРА И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ
В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ПРИМЕНЁННОГО ВИДА ОПРОСНИКА (ЧЕЛ.)

| Параметры Группы ПГ | Средний возраст (лет) | Вид лечения | Виды опросников | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|-------------|------------------|-----|---------------|--------|--------|-----------------|------|----|
| | | | Общие | | Специфические | | | Психологические | | |
| | | | SF-36 | ВАШ | Euro Qol-5D | VFQ-25 | GQL-15 | VF-14 | HADS | |
| 1-я группа (n = 133) | 1.1 | 64,5 ± 7,7 | СТЭГ | 25 | 25 | – | 25 | 25 | – | 25 |
| | 1.2 | 67,1 ± 9,7 | СТЭ | 22 | 22 | – | 22 | 22 | – | 22 |
| | 1.3 | 63,9 ± 5,4 | СТЭГГ | 21 | 21 | – | 21 | 21 | – | 21 |
| | 1.4 | 68,7 ± 7,0 | ТЛЦК | 17 | 17 | – | 17 | 17 | – | 17 |
| | 1.5 | 67,7 ± 7,0 | ФЭК ИОЛ | 32 | 32 | – | 32 | 32 | – | 32 |
| | 1.6 | 68,2 ± 4,1 | ФЭК ИОЛ | 16 | 16 | – | 16 | 16 | – | 16 |
| 2-я группа (n = 96) | 2.1 | 66,7 ± 5,5 | Комплексное | 25 | 25 | – | 25 | 25 | – | 25 |
| | 2.2 | 66,3 ± 10,8 | Ретиналамин + МГ | – | 23 | – | 23 | – | – | 23 |
| | 2.3 | 61,6 ± 8,4 | МГ | – | 25 | 25 | – | – | 25 | 25 |
| | 2.4 | 64,1 ± 7,6 | МГ | – | 23 | 23 | – | – | 23 | 23 |
| Контроль (n = 25) | | – | 25 | 25 | – | 25 | 25 | – | – | 25 |

Примечание. ПГ – подгруппа.

ТАБЛИЦА 2
DISTRIBUTION OF PATIENTS OF THE SECOND GROUP
BY STAGES OF GLAUCOMA

ТАБЛИЦА 3
THE STRUCTURE AND DISTRIBUTION OF PATIENTS
IN THE STUDIED GROUPS BY THE TYPES OF USED
QUESTIONNAIRES (NUMBER OF PEOPLE)

$p=0,21-0,98$) и стадиям глаукомы ($t=-1,91-1,90; p=0,08-0,69$) за исключением подгруппы 1.4 (ТЛЦК), так как данная операция выполняется на более поздних (III-IV) стадиях глаукомы и при низких зрительных функциях.

Контрольную группу составили 25 здоровых лиц без офтальмопатологии; средний возраст $-62,1 \pm 4,8$ года.

Комплексная оценка показателей КЖ проведена с применением семи чувствительных, воспроизводимых, валидных и надёжных опросников. В исследовании применены три вида опросников: общие опросники (Medical Outcomes Study-Short Form 36 (MOS SF-36), Euro Qol-5D, визуально-аналоговая шкала (ВАШ)), специфические опросники (Visual Function Questionnaire 25 (VFQ-25), Glaucoma Quality of Life 15 (GQL-15), Visual Function Index 14 (VF-14)) и психологический опросник (Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)). Распределение пациентов исследуемых групп и подгрупп в зависимости от применённых опросников представлено в таблице 3.

Общие опросники предназначены для оценки компонентов КЖ, являющихся общими для больных с самыми разными заболеваниями. Специфические опросники включают вопросы, касающиеся влияния на больного симптомов основного заболевания, а также выполненной в связи с этим антиглаукоматозной операции.

Пациенты после получения письменного информированного добровольного согласия самостоятельно заполняли опросники в течение 20 минут. Анкетирование проводили в сроки до операции и спустя 1 месяц после лечения.

Всем пациентам проведено комплексное офтальмологическое обследование, включавшее визометрию, авторефактометрию, тонометрию по Маклакову, динамическую периметрию на сферопериметре по 8 мери-

дианам, компьютерную статическую периметрию, биомикроскопию, гониоскопию, прямую офтальмоскопию.

Для статистической обработки использован пакет программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США), рассчитаны средние значения и их среднеквадратическое отклонение. Рассчитан t -критерий для зависимых выборок; статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённое офтальмологическое обследование до лечения показало следующие результаты: максимально корригированная острота зрения (МКОЗ) в исследуемых подгруппах была сопоставимой, значения колебались от $0,43 \pm 0,48$ до $0,67 \pm 0,34$ (табл. 4).

Наиболее низкие показатели были в группе пациентов, которым проведена операция ТЛЦК (4 подгруппы 1-й группы): это объясняется тем, что данная операция проводится на поздних стадиях глаукомы. Уровень внутриглазного давления подгрупп 1.1-1.4 составлял более 35 мм рт. ст. и статистически значимо отличался от остальных подгрупп 1-й и 2-й групп ($p < 0,05$). Показатели офтальмологического обследования всех исследуемых групп были статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой.

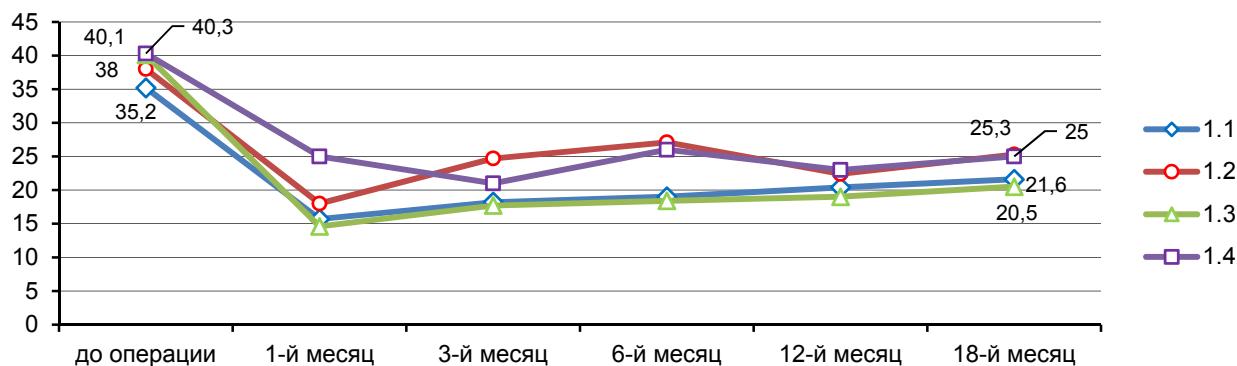
Анализ уровня ВГД у пациентов подгрупп 1.1-1.4 после антиглаукоматозной операции показал статистически значимое снижение ($p < 0,05$) данного показателя от исходного значения на 56 %, 52,8 %, 64 % и 37,9 % соответственно. В подгруппе 1.2 в сроки 3-6 месяцев после операции наблюдалось повышение ВГД до верхней границы нормы у большинства пациентов; 3 пациентам

ТАБЛИЦА 4
РЕЗУЛЬТАТЫ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ
ОБСЛЕДОВАНИЙ ПАЦИЕНТОВ ДО ЛЕЧЕНИЯ ($M \pm \sigma$)

TABLE 4
THE RESULTS OF OPHTHALMOLOGICAL EXAMINATIONS
OF PATIENTS BEFORE TREATMENT ($M \pm \sigma$)

| Показатели | | МКОЗ | ВГД | Поля зрения (градусы) | Статическая автоматическая периметрия (среднее отклонение, дБ) |
|---|-----|-----------------|-----------------|--------------------------|--|
| Группы | ПГ | | | | |
| 1-я группа (хирургическое лечение) | 1.1 | $0,56 \pm 0,39$ | $35,2 \pm 6,65$ | 314 ± 159 | $-9,46 \pm 3,6$ |
| | 1.2 | $0,46 \pm 0,36$ | $37,9 \pm 7,7$ | 298 ± 161 | $-9,84 \pm 3,1$ |
| | 1.3 | $0,60 \pm 0,47$ | $40,1 \pm 9,0$ | 278 ± 199 | $-10,8 \pm 3,8$ |
| | 1.4 | $0,43 \pm 0,48$ | $40,3 \pm 9,3$ | 192 ± 113 | $-13,8 \pm 3,7$ |
| | 1.5 | $0,57 \pm 0,34$ | $19,4 \pm 4,5$ | 382 ± 120 | $-9,7 \pm 3,1$ |
| | 1.6 | $0,46 \pm 0,25$ | $19,3 \pm 3,7$ | 313 ± 199 | $-8,6 \pm 4,0$ |
| 2-я группа (консервативное лечение) | 2.1 | $0,51 \pm 0,39$ | $17,3 \pm 2,3$ | 280 ± 211 | $-10,0 \pm 3,7$ |
| | 2.2 | $0,67 \pm 0,34$ | $19,5 \pm 2,52$ | $336 \pm 92,7$ | $-7,9 \pm 3,9$ |
| | 2.3 | $0,55 \pm 0,35$ | $22,2 \pm 6,56$ | 322 ± 106 | $-8,1 \pm 4,2$ |
| | 2.4 | $0,61 \pm 0,36$ | $21,4 \pm 4,8$ | $297 \pm 93,4$ | $-9,0 \pm 3,1$ |
| Контроль | | $0,96 \pm 0,06$ | $17,0 \pm 2,4$ | 498 ± 29 | $0,80 \pm 0,54$ |

Примечание. ПГ – подгруппа.

**РИС. 1.**

Величина внутриглазного давления у пациентов подгрупп 1.1–1.4 в динамике за 18 месяцев (по Маклакову, мм рт. ст.)

назначена дополнительная местная гипотензивная терапия в связи с повышением ВГД (рис. 1). К концу срока наблюдения (18 месяцев) гипотензивный эффект анализируемых подгрупп 1.1–1.4 составил 38,6 %, 33,4 %, 48,8 % и 37,9 % соответственно.

Проведённый анализ в зависимости от вида хирургического вмешательства показал, что наибольшая эффективность наблюдалась в подгруппах 1.3 (синустребекулэктомия с дренажом из коллагеновой гемостатической губки) и 1.1 (синустребекулэктомия с дренажом «Глаутекс»).

Комплексная оценка качества жизни пациентов с глаукомой в динамике

Анализ результатов опросника SF-36 проведён раздельно для физических (табл. 5) и психологических (табл. 6) компонентов; каждый из них включает в себя по 4 шкалы, где максимальный возможный суммарный балл составляет 400.

Респонденты с глаукомой при оценке общего состояния здоровья выбирали ответ «хорошее», согласно данным общих опросников SF-36 и ВАШ, однако в специфическом опроснике большинство исследуемых выбирали ответ «удовлетворительное». Представители контрольной группы по всем трём опросникам (SF-36, ВАШ, VFQ-25) выбирали ответ «хорошее», и эти показатели были статистически значимо лучше, чем у пациентов с глаукомой по всем шкалам опросников. Проведённое лечение глаукомы не оказывает статистически значимого влияния на их общее состояние здоровья, за исключением пациентов, получавших комплексное консервативное лечение в стационаре (подгруппа 2.1), у которых отмечено улучшение с $55,7 \pm 15,6$ до $71,4 \pm 7,7$ балла ($p < 0,05$) – по нашему мнению, за счёт эффекта применённых антиоксидантных, ноотропных и других препаратов.

Среди параметров, формирующих физический компонент здоровья, наиболее низкими были показатели шкал «Физическое функционирование» (до лечения – на 25–44 % ниже по сравнению с контрольной группой) и «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (до лечения – на 26,4–46,1 % ниже по сравнению с контрольной группой).

FIG. 1.

Intraocular pressure in patients of subgroups 1.1–1.4 in dynamics for 18 months (measured by Maklakov's method; mm Hg)

Среди шкал, формирующих психологический компонент здоровья, худшими были показатели шкал «Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием» (до лечения – на 34,1–51 % ниже по сравнению с контрольной группой) и «Социальное функционирование» (до лечения – на 34,4–45,8 % ниже по сравнению с контрольной группой).

По результатам опросника ВАШ получены статистически значимо более низкие показатели во всех подгруппах по сравнению с контрольной. В 1-й группе в динамике статистически значимые изменения не установлены, во 2-й группе отмечается статистически значимое улучшение показателей КЖ в подгруппах 2.1 и 2.2 (рис. 2).

Таким образом, при анализе результатов общих опросников SF-36 и ВАШ у пациентов с глаукомой получены низкие показатели КЖ по сравнению с контрольной группой; в динамике наблюдения положительные изменения в основном были характерны для пациентов 2-й группы, получивших консервативное лечение. Полученные результаты представляются закономерными и характеризуют глаукому как патологию, приводящую к снижению КЖ по данным как общих, так и специфических опросников.

При анализе опросника VFQ-25 нами рассчитан суммарный балл всех шкал для исследуемых групп. Максимально возможный суммарный балл равнялся 1000; в контрольной группе данный показатель составил 849,3 балла. В исследуемых группах значения до лечения варьировали от 506,4 до 626,2 балла; после лечения отмечалось улучшение, и значения колебались от 565,7 до 716,4 балла (рис. 3). Наиболее низкие значения зафиксированы у пациентов подгруппы 1.4, в которой проведена операция ТЛЦК. До лечения у пациентов 1-й группы (хирургическое лечение) суммарный балл был ниже, чем у пациентов 2-й группы (консервативное лечение). Возможно, это связано с психологической реакцией пациента на ожидание хирургического вмешательства, а также с влиянием повышенного уровня ВГД на зрительные функции в подгруппах 1.1–1.4 больных глаукомой ($p < 0,05$).

Анализ результатов специфического опросника показал, что причиной низких показателей были вопро-

ТАБЛИЦА 5
ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА
КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ОПРОСНИКА SF-36 У ПАЦИЕНТОВ
ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП В ДИНАМИКЕ, М ± σ

TABLE 5
INDICATORS OF THE PHYSICAL COMPONENT
OF THE QUALITY OF LIFE OF SF-36 QUESTIONNAIRE
IN PATIENTS OF THE STUDIED GROUPS IN DYNAMICS, M ± σ

| Группы | Подгруппы | Шкалы | | | | Сумма баллов | |
|------------|-----------|------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------|
| | | ОЗ | ФФ | РФ | ИБ | | |
| 1-я группа | 1.1 | до | 65,3 ± 10,1 | 60,5 ± 11,1 | 50,0 ± 7,7 | 63,1 ± 14,0 | 253,5 |
| | | после | 65,0 ± 12,2 | 66,6 ± 13,1 | 69,4 ± 7,0* | 70,4 ± 14,9 | 275,5 |
| | 1.2 | до | 53,0 ± 9,5 | 51,1 ± 11,8 | 52,8 ± 11,9 | 52,0 ± 15,3 | 208,9 |
| | | после | 50,1 ± 12,9 | 53,0 ± 12,0 | 76,3 ± 15,5* | 62,3 ± 11,5 | 241,7 |
| | 1.3 | до | 64,2 ± 9,0 | 62,5 ± 11,7 | 62,5 ± 14,5 | 63,8 ± 14,2 | 253 |
| | | после | 56,5 ± 9,9 | 69,2 ± 11,6 | 65,2 ± 14,1 | 76,8 ± 10,9 | 267,7 |
| | 1.4 | до | 65,2 ± 10,2 | 62,9 ± 12,9 | 63,6 ± 13,4 | 38,7 ± 14,3 | 230,4 |
| | | после | 62,1 ± 12,7 | 70,5 ± 11,5 | 68,6 ± 7,3 | 63,8 ± 12,6* | 265 |
| | 1.5 | до | 54,2 ± 12,3 | 60,4 ± 13,6 | 39,5 ± 13,2 | 72,5 ± 12,3 | 226,6 |
| | | после | 68,2 ± 9,9* | 75,1 ± 11,2* | 58,5 ± 15,0* | 74,1 ± 10,9 | 275,9 |
| | 1.6 | до | 58,0 ± 15,3 | 68,3 ± 8,8 | 68,3 ± 7,7 | 66,6 ± 7,7 | 261,2 |
| | | после | 66,0 ± 12,4 | 69,0 ± 9,0 | 71,1 ± 8,1 | 71,3 ± 7,2 | 277,4 |
| 2-я группа | 2.1 | до | 55,7 ± 15,6 | 61,6 ± 7,5 | 56,2 ± 9,2 | 69,4 ± 12,6 | 242,9 |
| | | после | 71,4 ± 7,7* | 70,0 ± 8,0 | 72,5 ± 15,5* | 77,8 ± 6,5 | 291,7 |
| Контроль | | 73,8 ± 4,8 | 91 ± 5,9 | 92,8 ± 4,1 | 96,1 ± 4,1 | 353,7 | |

Примечание. ОЗ – Общее состояние здоровья; ФФ – Физическое функционирование; РФ – Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием; ИБ – Интенсивность боли; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

ТАБЛИЦА 6
ПОКАЗАТЕЛИ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА
КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ОПРОСНИКА SF-36 У ПАЦИЕНТОВ
ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП В ДИНАМИКЕ, М ± σ

TABLE 6
INDICATORS OF THE PSYCHOLOGICAL COMPONENT
OF THE QUALITY OF LIFE OF SF-36 QUESTIONNAIRE
IN PATIENTS OF THE STUDIED GROUPS IN DYNAMICS, M ± σ

| Группы | Подгруппы | Шкалы | | | | Сумма баллов | |
|------------|-----------|------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------|
| | | РЭ | СФ | ЖА | ПЗ | | |
| 1-я группа | 1.1 | до | 59,7 ± 8,5 | 48,6 ± 7,9 | 65,8 ± 15,3 | 63,2 ± 12,8 | 237,3 |
| | | после | 63,6 ± 7,6 | 51,8 ± 10,1 | 62,8 ± 13,9 | 66,8 ± 11,7 | 245 |
| | 1.2 | до | 57,4 ± 7,0 | 48,1 ± 16,7 | 61,5 ± 7,4 | 59,3 ± 15,6 | 226,3 |
| | | после | 61,8 ± 7,3 | 52,6 ± 16,0 | 61,6 ± 6,3 | 65,6 ± 10,8 | 241,6 |
| | 1.3 | до | 60,6 ± 14,2 | 49,2 ± 15,2 | 61,3 ± 10,5 | 58,4 ± 6,6 | 229,5 |
| | | после | 64,3 ± 7,9 | 54,2 ± 15,8 | 63,5 ± 16,0 | 63,4 ± 13,5 | 245,4 |
| | 1.4 | до | 56,6 ± 11,9 | 47,6 ± 12,6 | 57,2 ± 11,4 | 54,2 ± 5,3 | 163,6 |
| | | после | 60,1 ± 12,0 | 53 ± 15,7 | 64,4 ± 14,0 | 59,3 ± 8,8 | 236,8 |
| | 1.5 | до | 44,5 ± 15,6 | 43,9 ± 13,5 | 59,1 ± 10,2 | 60,8 ± 7,1 | 210,1 |
| | | после | 60,1 ± 11,0* | 50,2 ± 8,9* | 70,0 ± 9,7* | 72,4 ± 9,0* | 252,7 |
| | 1.6 | до | 58,4 ± 7,2 | 42 ± 6,9 | 58,3 ± 7,8 | 55,5 ± 6,5 | 214,2 |
| | | после | 60,1 ± 8,2 | 54,7 ± 9,1* | 67,8 ± 6,9* | 71,0 ± 9,1 | 253,6 |
| 2-я группа | 2.1 | до | 58,3 ± 12,4 | 50,8 ± 16,9 | 65,5 ± 14,2 | 64,7 ± 17,9 | 212,3 |
| | | после | 68 ± 11,6* | 60,8 ± 11,0* | 77,8 ± 14,6 | 69,5 ± 7,7 | 293,3 |
| Контроль | | 92,0 ± 6,6 | 77,5 ± 10,3 | 87,2 ± 9,5 | 74,4 ± 4,3 | 331,1 | |

Примечание. РЭ – Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием; СФ – Социальное функционирование; ЖА – Жизненная активность; ПЗ – Психическое здоровье; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

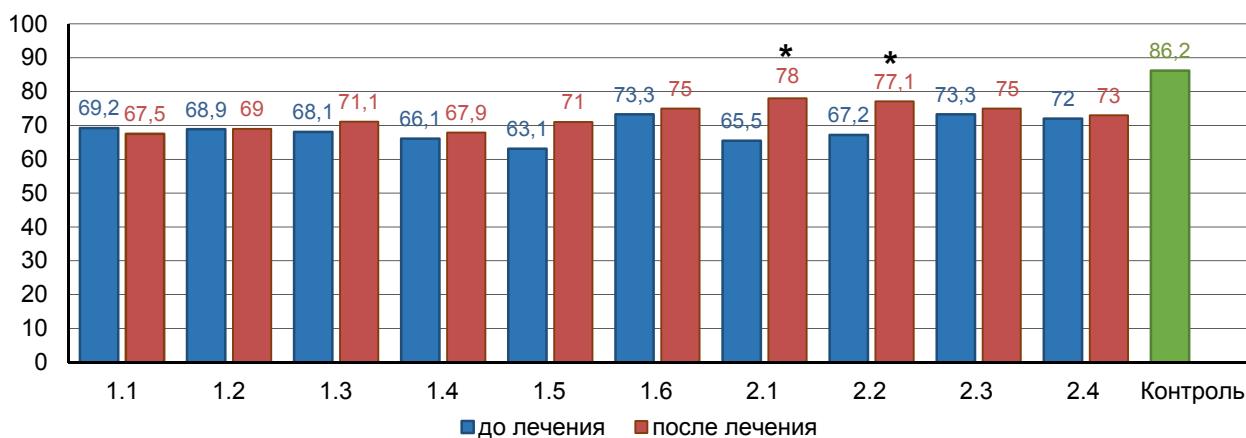


РИС. 2.

Динамика результатов оценки качества жизни по визуально-аналоговой шкале до и после лечения: * – различия между показателями до и после лечения статистически значимы при $p < 0,05$.

FIG. 2.

Dynamics of the results of quality of life assessment using visual analogue scale before and after treatment: * – differences between the values before and after treatment are statistically significant at $p < 0.05$

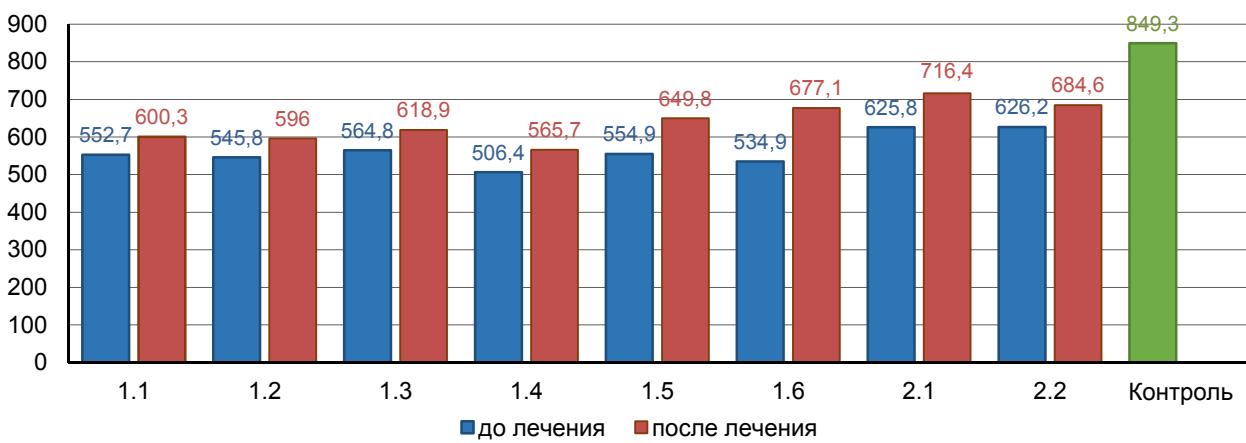


РИС. 3.

Суммарный балл по опроснику VFQ-25 у пациентов исследуемых групп в динамике

FIG. 3.

Total score of the VFQ-25 questionnaire in patients of the studied groups in dynamics

сы, касающиеся восприятия здоровья, симптомов заболевания и физической деятельности. Согласно данным специфического опросника VFQ-25, улучшение КЖ в динамике связано с повышением показателей шкал «Общая оценка зрения», «Периферическое зрение», «Социальное функционирование», «Психическое здоровье», «Ролевые ограничения».

В исследовании K. Hirooka и соавт. установлено улучшение показателей КЖ после хирургического лечения глаукомы [10], а в работе V.K. Gothwal и соавт. отмечено их снижение [11].

Таким образом, при анализе специфического опросника VFQ-25 установлены статистически значимо более низкие показатели в обеих группах по всем шкалам по сравнению с контрольной группой. Проведённые различные виды хирургического лечения (1-я группа) в исследуемых подгруппах сопровождались небольшим улучшением КЖ по сравнению с пациентами, получившими консервативное лечение (2-я группа), где отме-

чено заметное статистически значимое улучшение показателей КЖ.

При анализе GQL-15 имеется особенность: чем ниже баллы, тем лучше КЖ. Минимальное количество баллов по GQL-15 составляет 15 – это отражает наиболее высокий уровень КЖ пациента. Опросник охватывает 4 шкалы: «Центральное зрение», «Периферическое зрение», «Темновая адаптация и мобильность вне дома» и «Бинокулярное зрение». В отличие от опросника VFQ-25, в GQL-15 отмечается ухудшение параметров КЖ у оперированных пациентов, что объясняется присутствием дискомфорта вокруг глаз, ношением повязок, закапыванием капель в раннем послеоперационном периоде, а также с формой и состоянием фильтрационной подушки (рис. 4).

В подгруппе 1.1, где проведена операция СТЭ с дренажом «Глаутекс», были случаи обнажения дренажа из-под конъюнктивы, что служило причиной внеплановой явки пациентов на приём. В подгруппах 1.3 и 1.4 отмеча-

ется заметное улучшение КЖ, которое в подгруппе 1.3, по-видимому, связано с тем, что дренаж из коллагеновой гемостатической губки, оставшийся под лоскутом,

не причиняет излишних неудобств пациенту, а в подгруппе 1.4 улучшение связано с нормализацией ВГД, уменьшением болевых ощущений в глазу.

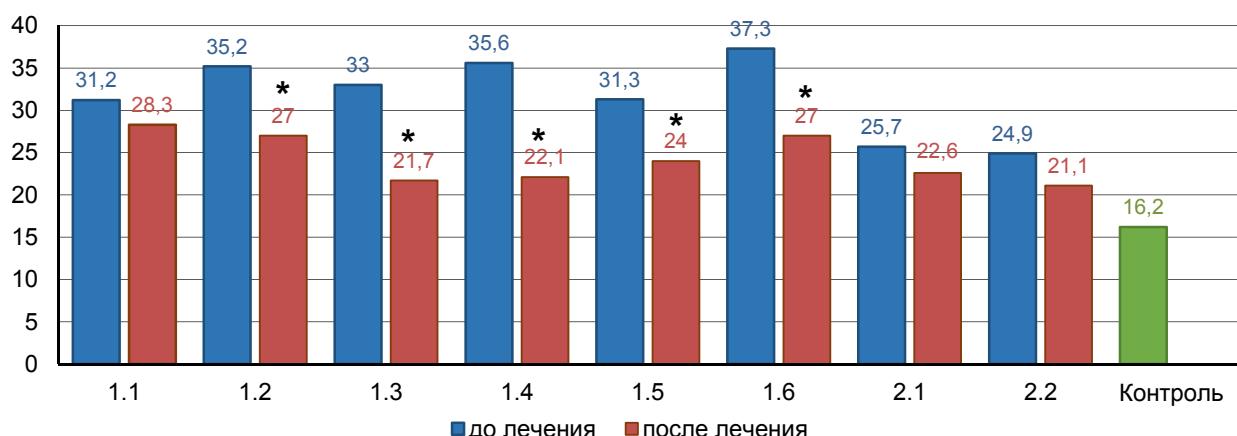


РИС. 4.

Суммарный балл по опроснику GQL-15 у пациентов исследуемых групп в динамике: * – различия между показателями до и после лечения статистически значимы при $p < 0,05$

ТАБЛИЦА 7

РЕЗУЛЬТАТЫ ПО ОПРОСНИКУ HADS У ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП В ДИНАМИКЕ, $M \pm \sigma$

FIG. 4.

Total score of the GQL-15 questionnaire in patients of the studied groups in dynamics: * – differences between the values before and after treatment are statistically significant at $p < 0.05$

TABLE 7

RESULTS OF THE HADS QUESTIONNAIRE IN PATIENTS OF THE STUDIED GROUPS IN DYNAMICS, $M \pm \sigma$

| Группы | Подгруппы | HADS | | | |
|------------|-----------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| | | до лечения | после лечения | до лечения | после лечения |
| 1-я группа | 1.1 | 10,6 \pm 5,4 | 9,8 \pm 5,7 | 7,2 \pm 4,6 | 6,6 \pm 4,4 |
| | 1.2 | 14,4 \pm 3,9 | 12,1 \pm 4,5 | 11,7 \pm 3,4 | 8,2 \pm 3,5 |
| | 1.3 | 9,0 \pm 6,4 | 8,1 \pm 5,7 | 8,6 \pm 5,3 | 7,6 \pm 5,5 |
| | 1.4 | 6,9 \pm 3,8 | 5,1 \pm 3,1 | 5,7 \pm 5,0 | 5,4 \pm 4,7 |
| | 1.5 | 10 \pm 3,5 | 6,2 \pm 2,0 | 8,5 \pm 3,7 | 7,9 \pm 3,1 |
| | 1.6 | 5,6 \pm 3,4 | 5,0 \pm 2,9 | 6,9 \pm 3,5 | 6,8 \pm 3,3 |
| 2-я группа | 2.1 | 8,9 \pm 3,4 | 6,3 \pm 3,0 | 8,6 \pm 2,0 | 6,8 \pm 1,4 |
| | 2.2 | 9,1 \pm 4,5 | 7,5 \pm 3,9 | 8,3 \pm 2,9 | 5,8 \pm 3,3 |
| | 2.3 | 7,9 \pm 4,4 | 6,8 \pm 3,9 | 7,1 \pm 1,8 | 7,0 \pm 2,1 |
| | 2.4 | 9,2 \pm 4,3 | 8,9 \pm 4,5 | 9,1 \pm 3,7 | 8,6 \pm 3,7 |
| Контроль | | 1,64 \pm 1,5 | | 2,0 \pm 1,0 | |

ТАБЛИЦА 8

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРОСНИКА EQ-5D У ПАЦИЕНТОВ ПОДГРУПП 2.3 И 2.4 В ДИНАМИКЕ, $M \pm \sigma$

TABLE 8

RESULTS OF THE EQ-5D QUESTIONNAIRE IN PATIENTS OF SUBGROUPS 2.3 AND 2.4 IN DYNAMICS, $M \pm \sigma$

| Подгруппы | Подвижность | Уход за собой | Повседневная деятельность | Боль/дискомфорт | Тревога/депрессия |
|-----------|-----------------|-----------------|---------------------------|-----------------|-------------------|
| 2.3 | 1,2 \pm 0,56 | 1,2 \pm 0,41 | 1,33 \pm 0,72 | 1,53 \pm 1,0 | 1,26 \pm 0,45 |
| 2.4 | 1,16 \pm 0,38 | 1,41 \pm 0,51 | 1 \pm 0,45 | 1,58 \pm 0,51 | 1,33 \pm 0,65 |

Анализ психоэмоционального состояния пациентов по опроснику HADS показал наличие субклинически (подгруппы 1.3, 2.1–2.4) и клинически (подгруппы 1.1, 1.2, 1.5) выраженных форм тревоги и депрессии. В 1-й группе в динамике в ходе лечения статистически значимых изменений не наблюдается, а во 2-й группе в подгруппах 2.1 и 2.2 на фоне консервативного лечения отмечается стабилизация показателей (табл. 7).

В результатах оценки КЖ по общему опроснику EQ-5D между показателями у пациентов подгрупп 2.3 и 2.4 статистически значимых различий не установлено (табл. 8).

При исследовании КЖ по опроснику VF-14 показатели пациентов с глаукомой подгруппы 2.3 составили $61 \pm 9,6$ балла, пациентов подгруппы 2.4 – $53 \pm 5,1$ балла, что демонстрирует более выраженное снижение показателей КЖ при сочетании глаукомы и катаракты (рис. 5).

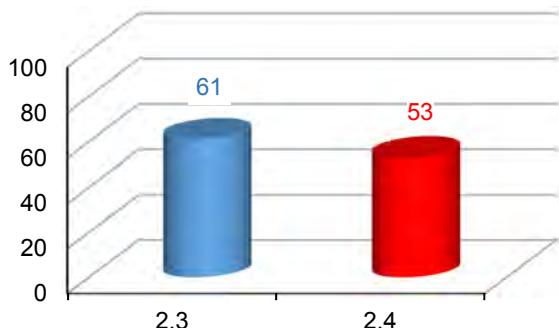


РИС. 5.

Результаты опросника VF-14 у пациентов подгрупп 2.3 и 2.4

FIG. 5.

Results of the VF-14 questionnaire in patients of subgroups 2.3 and 2.4

Таким образом, результаты комплексной оценки КЖ пациентов с ПОУГ в зависимости от разных методов лечения свидетельствуют об информативности применяемых опросников, демонстрирует эффективность методов лечения, раскрывают слабые звенья в ведении пациентов и позволяют совершенствовать стратегию лечебных мероприятий в динамике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Специфические опросники, адаптированные по определённым нозологиям, более удобны и информативны в применении по сравнению с общими опросниками. При их совместном применении они взаимно дополняют друг друга, что позволяет медицинскому персоналу более широко оценить и понять субъективное ощущение пациента. Рекомендуется систематическая оценка КЖ пациентов с ПОУГ, получающих не только консервативное, но и хирургическое лечение. Синустрабекулэктомия с имплантацией дренажа из коллагеновой гемо-

статической губки считается эффективным антиглаукоматозным вмешательством за счёт снижения ВГД и улучшения КЖ. С целью улучшения КЖ необходимо своевременное хирургическое лечение катаракты у пациентов с глаукомой на фоне компенсированного офтальмотонуса. Целесообразно применение опросников GQL-15 для оценки результатов хирургического лечения глаукомы и VFQ-25 – для оценки консервативной терапии. Анализ показателей КЖ позволяет сделать объективный вывод о более быстром возвращении пациентов, перенёсших антиглаукоматозную хирургию, к привычной социальной жизни за счёт улучшения показателей КЖ.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Егоров Е.А., Еричев В.П. (ред.). *Национальное руководство по глаукоме*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019.
- Габдрахманова А.Ф., Курбанов С.А., Кунафина Е.Р. Некоторые аспекты комплексного лечения открытогоугольной глаукомы. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2014; 2: 42-45.
- Габдрахманова А.Ф., Курбанов С.А. Первые результаты оценки качества жизни пациентов с глаукомой в Республике Башкортостан. *Российский офтальмологический журнал*. 2013; 6(2): 16-19.
- Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Щуко А.Г. (ред.). *Национальное руководство по глаукоме для практикующих врачей*; 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
- Hyman LG, Komaroff E, Heijl A, Bengtsson B, Leske MC; Early Manifest Glaucoma Trial Group. Treatment and vision-related quality of life in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology*. 2005; 112(9): 1505-1513. doi: 10.1016/j.ophtha.2005.03.028
- Rulli E, Quaranta L, Riva I, Poli D, Hollander L, Galli F, et al. Visual field loss and vision-related quality of life in the Italian Primary Open Angle Glaucoma Study. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 619. doi: 10.1038/s41598-017-19113-z
- Егоров Е.А. (ред.). *Глаукома. Национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
- Малишевская Т.Н., Долгова И.Г., Шатских С.В. Персонифицированный подход к ведению пациентов с глаукомой продвинутых стадий. Выбор стратегических направлений антиглаукомной работы в Тюменской области. *Национальный журнал глаукомы*. 2016; 15(4): 42-53.
- Khanna CL, Leske DA, Holmes JM. Factors associated with health-related quality of life in medically and surgically treated patients with glaucoma. *JAMA Ophthalmol*. 2018; 136(4): 348-355. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.0012
- Hirooka K, Nitta E, Ukegawa K, Tsujikawa A. Vision-related quality of life following glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmol*. 2017; 17(1): 66. doi: 10.1186/s12886-017-0466-7
- Gothwal VK, Seelam B, Mandal AK. Quality of life following surgery for congenital glaucoma: findings of the LVPEI congenital glaucoma registry. *Eye (Lond)*. 2019; 33(4): 659-667. doi: 10.1038/s41433-018-0293-y

REFERENCES

1. Egorov EA, Erichev VP (ed.). *National guidelines for glaucoma*. Moscow: GEOTAR-Media; 2019. (In Russ.).
2. Gabdrakhmanova AF, Kurbanov SA, Kunafina ER. Some aspects of complex treatment of open-angle glaucoma. *Bashkortostan Medical Journal*. 2014; 2: 42-45. (In Russ.).
3. Gabdrakhmanova AF, Kurbanov SA. First results of quality of life assessment for patients with glaucoma in the Republic of Bashkortostan. *Russian Ophthalmological Journal*. 2013; 6(2): 16-19. (In Russ.).
4. Egorov EA, Astakhov YuS, Shchuko AG (eds). *National guidelines for glaucoma practitioners*; 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (In Russ.).
5. Hyman LG, Komaroff E, Heijl A, Bengtsson B, Leske MC; Early Manifest Glaucoma Trial Group. Treatment and vision-related quality of life in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology*. 2005; 112(9): 1505-1513. doi: 10.1016/j.ophtha.2005.03.028
6. Rulli E, Quaranta L, Riva I, Poli D, Hollander L, Galli F, et al. Visual field loss and vision-related quality of life in the Italian Primary Open Angle Glaucoma Study. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 619. doi: 10.1038/s41598-017-19113-z
7. Egorov EA (ed.). *Glaucoma. National guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (In Russ.).
8. Malishevskaya TN, Dolgova IG, Shatskikh SV. Personalized approach to the management of patients with advanced stages of glaucoma. Strategic directions of improving medical care quality for glaucoma patients of the Tyumen region. *National Journal Glaucoma*. 2016; 15(4): 42-53. (In Russ.).
9. Khanna CL, Leske DA, Holmes JM. Factors associated with health-related quality of life in medically and surgically treated patients with glaucoma. *JAMA Ophthalmol*. 2018; 136(4): 348-355. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.0012
10. Hirooka K, Nitta E, Ukegawa K, Tsujikawa A. Vision-related quality of life following glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmol*. 2017; 17(1): 66. doi: 10.1186/s12886-017-0466-7
11. Gothwal VK, Seelam B, Mandal AK. Quality of life following surgery for congenital glaucoma: findings of the LVPEI congenital glaucoma registry. *Eye (Lond)*. 2019; 33(4): 659-667. doi: 10.1038/s41433-018-0293-y

Сведения об авторах

Курбанов Садырбек Абдувакасович – кандидат медицинских наук, доцент Высшей школы регенеративной, глазной и пластической хирургии, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: srbek@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3724-9411>

Габдрахманова Ания Фавзиевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор Высшей школы регенеративной, глазной и пластической хирургии, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: aniya2005@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1374-5250>

Хабибуллаев Шерзод Шамситдин угли – врач-офтальмолог, Глазная клиника «Dr. Murad Eye Clinic», <https://orcid.org/0000-0002-7494-2346>

Information about the authors

Sadyrbek A. Kurbanov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Advance School of Regenerative, Eye and Plastic Surgery, Bashkir State Medical University, e-mail: srbek@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3724-9411>

Aniya F. Gabdrakhmanova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Advance School of Regenerative, Eye and Plastic Surgery, Bashkir State Medical University, e-mail: aniya2005@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1374-5250>

Sherzod Sh. Khabibullaev – Ophthalmologist, Eye Clinic “Dr. Murad Eye Clinic”, <https://orcid.org/0000-0002-7494-2346>

Статья опубликована в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «VIII Байкальские офтальмологические чтения «Визуализация в офтальмологии. Настоящее и будущее».

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ OCCUPATIONAL DISEASES

НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

РЕЗЮМЕ

Шевченко О.И.,
Лахман О.Л.

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (665827, г. Ангарск, 12А микрорайон, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Шевченко Оксана Ивановна,
e-mail: oich68@list.ru

Цель исследования. Выявить нейропсихологические признаки снижения высших психических функций у пациентов с профессиональными заболеваниями, связанными с воздействием физических факторов.

Материалы и методы. Проведено нейропсихологическое обследование 40 пациентов с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием локальной вибрации (I группа), 50 пациентов с вибрационной болезнью, обусловленной сочетанным воздействием локальной и общей вибрации (II группа), 71 пилота гражданской авиации с установленным диагнозом профессиональной нейросенсорной тугоухости (III группа), 38 здоровых мужчин (IV группа, контрольная).

Результаты. В I–III группах состояние функционирования когнитивной сферы представлено преимущественно легко выраженными нейродинамическими и регуляторными нарушениями. Результаты тестов MMSE и FAB у пациентов I–II групп при сопоставлении с IV группой определяют снижение функциональной активности лобных долей и подкорковых структур (25 (24–27), 25 (22–26), 15 (14–16) и 15 (13–16) баллов соответственно). Наиболее информативным признаком, сопряжённым с фактом профессионального воздействия локальной вибрации, является показатель долговременной памяти ($F = 9,41; p = 0,003$); сочетанного воздействия локальной и общей вибрации – кратковременной памяти ($F = 11,0; p = 0,001$); авиационного шума – предметного гнозиса ($F = 8,48; p = 0,001$). Выявленные признаки позволяют с высокой степенью точности отслеживать развитие снижения познавательных функций у данного контингента (86,1 %, 84,8 % и 72,1 % соответственно). **Заключение.** Нейропсихологическими признаками, характерными для вибрационной болезни, являются снижение праксиса, импресивной речи, для профессиональной нейросенсорной тугоухости – дефицитарность аналитико-синтетического и понятийного мышления, предметного и пальцевого гнозиса, характеризующие неполноценность функционирования лобной и теменной областей левого полушария.

Ключевые слова: вибрационная болезнь, профессиональная нейросенсорная тугоухость, когнитивная сфера, нейропсихологические критерии диагностики

Статья получена: 06.04.2022
Статья принята: 12.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Шевченко О.И., Лахман О.Л. Нейропсихологические критерии диагностики когнитивных нарушений у пациентов с профессиональными заболеваниями от воздействия физических факторов. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 164–172. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.17

NEUROPSYCHOLOGICAL CRITERIA FOR DIAGNOSING COGNITIVE IMPAIRMENT IN PATIENTS WITH OCCUPATIONAL DISEASES CAUSED BY PHYSICAL FACTORS

ABSTRACT

Shevchenko O.I.,
Lakhman O.L.

East-Siberian Institute of
Medical and Ecological Research
(12A Microdistrict 3, Angarsk 665827,
Russian Federation)

Corresponding author:
Oksana I. Shevchenko,
e-mail: oich68@list.ru

The aim. To identify neuropsychological signs of a decrease in higher mental functions associated with professional exposure to physical factors.

Materials and methods. The study involved 40 patients with vibration disease caused by local vibration (Group 1), 50 patients with vibration disease caused by combined exposure to local and general vibration (Group 2), 71 civil aviation pilots with an established diagnosis of occupational sensorineural hearing loss (Group 3), and 38 healthy men (Group 4, control group). Methods of neuropsychological testing were used.

Results. In Groups 1–3 the state of functioning of the cognitive sphere is represented by a mildly pronounced nature of impairments. The results of MMSE and FAB tests in patients of Groups 1–2, when compared with Group 4, determine a decrease in the functional activity of the frontal lobes and subcortical structures (25 (24–27), 25 (22–26), 15 (14–16) and 15 (13–16) points respectively). The most informative feature associated with the fact of occupational exposure to local vibration is the indicator of long-term memory ($F = 9.41$; $p = 0.003$); with combined impact of local and general vibration – short-term memory ($F = 11.0$; $p = 0.001$); with aircraft noise – objective gnosis ($F = 8.48$; $p = 0.001$). The obtained features make it possible to track with a high degree of accuracy the development of a decrease in cognitive functions in this contingent (86.1 %, 84.8 % and 72.1 % respectively).

Conclusion. Common signs of changes in the cognitive sphere and lesions of the brain structures in patients with vibration disease are a decrease in praxis, impressive speech, for occupational sensorineural hearing loss – the lack of analytical-synthetic and conceptual thinking, object and finger gnosis, characterizing the inferiority of the functioning of the frontal and parietal regions of the left hemisphere.

Key words: vibration disease, occupational sensorineural hearing loss, cognitive sphere, neuropsychological diagnostic criteria

Received: 06.04.2022
Accepted: 12.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Shevchenko O.I., Lakhman O.L. Neuropsychological criteria for diagnosing cognitive impairment in patients with occupational diseases caused by physical factors. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 164-172. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.17

ВВЕДЕНИЕ

За последние пять лет в Российской Федерации почти на треть снизился уровень профессиональной заболеваемости. Этому в большей мере способствовало проведение предварительных и периодических медицинских осмотров, переориентирование на выявление профессиональных заболеваний на ранних стадиях. Несмотря на это, доля профессиональных заболеваний, установленных сразу в хронической форме, остаётся стабильной. На Сибирский федеральный округ приходится около трети лиц с впервые установленным в 2020 г. диагнозом профессионального заболевания. Наибольшую долю профессиональных заболеваний по-прежнему дают добывающие и обрабатывающие производства [1]. Поскольку остаются очевидными проблемы в горнорудной, авиационной промышленности, гражданской авиации, где организм работников всё ещё подвергается негативному воздействию вибрации и шума, вибрационная болезнь и нейросенсорная тугоухость являются ведущими нозологическими формами в структуре заболеваний, связанных с воздействием физических производственных факторов.

Известно, что общим звеном в патогенезе вышеперечисленных заболеваний является активация нейрогуморальной регуляции, способствующая возникновению спастического состояния кровеносных сосудов, создавая благоприятные условия для формирования хронической ишемии головного мозга – самой распространённой причины нарушений высших психических функций [2–5]. Неблагоприятное воздействие физических производственных факторов способствует возникновению минимальной мозговой дефицитарности, обусловливая снижение познавательных функций. Поскольку хроническое воздействие физических факторов на производстве приводит к развитию хронической недостаточности мозгового кровообращения [6–9], в эпоху оцифрованной, компьютеризованной индустрии, основанной на трансфере информации, очевидна актуальность изучения состояния когнитивной сферы, являющейся важнейшим фактором, определяющим повседневную, социальную и профессиональную адаптацию, качество жизни пациентов [10–13].

Результаты многочисленных исследований посвящены изучению формирования нарушений познавательных функций при контакте с химическими веществами [14–18]. Исследования же состояния когнитивной сферы у лиц с профессиональной патологией от воздействия вибрации и шума представлены весьма ограниченным числом работ. В обзорах, посвящённых изучению когнитивных функций с помощью нейропсихологического тестирования у лиц с профессиональными заболеваниями от воздействия физического фактора, представлены сведения, указывающие на снижение познавательных функций [4, 19–20]. Установлена сопряжённость степени выраженности когнитивно-мнестического дефицита и патологического процесса вибрационной болезни [21]. Однако эти исследования чаще всего не ориентированы на диагностику связи мозговых структур с нарушениями

высших психических функций, особенно на ранних этапах их возникновения. Кроме того, изучение нейросенсорного дефицита, в том числе у лиц с профессиональным воздействием физических факторов, посредством нейропсихологического тестирования необходимо, поскольку способствует своевременной когнитивной реабилитации, направленной на восстановление деятельности целенаправленного произвольного поведения, опосредованно влияющей на процесс морффункциональной перестройки повреждённых церебральных систем [22–25].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить нейропсихологические признаки снижения высших психических функций у пациентов с профессиональными заболеваниями, связанными с воздействием физических факторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В клинических условиях обследовано 40 пациентов (по профессии – сборщики-клепальщики, слесари-сборщики, слесари механосборочных работ авиастроительного завода) с вибрационной болезнью (ВБ), связанной с воздействием локальной вибрации (средний возраст – $49,61 \pm 1,44$ года), которые составили I группу; во II группу вошли 50 пациентов (по профессии – водители большегрузного и гусеничного автотранспорта, машинисты буровых станков, занятые при добыче угля открытым способом) с ВБ, связанной с сочетанным воздействием локальной и общей вибрации (ВБ_{соч.}, средний возраст – $48,7 \pm 3,1$ года). Третья группа включала 71 пилота гражданской авиации с установленным диагнозом профессиональная нейросенсорная тугоухость (ПНСТ, средний возраст – $52,0 \pm 1,4$ года). Контрольную группу (IV группа) представляли 38 практически здоровых мужчин в возрасте $50,35 \pm 1,69$ года с изучаемых производств без признаков ВБ и ПНСТ.

Нейропсихологическое исследование включало комплекс тестов из схемы А.Р. Лурия, позволяющих выявить не только очаговые нарушения, но и структурно-функциональные изменения головного мозга [26]. Оценивалось состояние интеллекта, памяти (тесты «Четвёртый лишний», «Разбитое окно», «Выполнение тройного счета», «Выполнение простых счётыных операций», «Подбор противоположностей», «Десять слов», «Запоминание групп картинок при трёхкратном воспроизведении»), праксиса (пробы «Кулак – ребро – ладонь», Хэда, Озерецкого), гнозиса (узнавание перечёркнутых, наложенных изображений, узнавание неречевых шумов и знакомых мелодий, показ заданного пальца по образцу и по названию) и речи (тесты на понимание логико-грамматических конструкций, порядковый счёт от 1 до 10, перечисление дней недели, месяцев, завершение хорошо известных пословиц, на повторение звуков, серии звуков, слов и фраз) [27]. Успешность выполнения каждого

задания условно ранжирована по 4-балльной системе: 0 баллов – справляется с заданием теста (нет ошибок); 1 балл – слабовыраженные нарушения (1 ошибка при выполнении задания); 2 балла – нарушения средней степени (2 ошибки при выполнении задания); 3 балла – грубые нарушения (3 и более ошибки при выполнении задания). Для диагностики умеренно выраженных когнитивных расстройств, с преимущественным поражением лобных долей и/или подкорковых церебральных структур, применялись методики «Краткое исследование психического статуса» (MMSE, Mini-Mental State Examination) и «Батарея лобной дисфункции» (Frontal Assessment Battery, FAB) [28, 29, 30].

Проверку нормальности распределения количественных показателей выполняли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Результаты исследований по тексту представлены в виде значений: медианы (Me), верхнего (Q25) и нижнего (Q75) квартилей. Статистическую значимость различий оценивали по непараметрическому U-критерию Вилкоксона, Манна – Уитни. Для выявления статистически значимых отличительных признаков использовали дискриминантный анализ. Информативность анализируемых показателей оценивалась шаговыми процедурами, граничным значением F включения выбрана величина $F \geq 3,5$; критерием классификации служила мера D2 Махаланобиса. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез $p < 0,05$. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью пакета прикладных программ Excel пакета Office 2003 (Microsoft Corp., США), Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Работа соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России № 266 от 19.06.2003. От каждого человека было получено информированное согласие на участие в исследовании, одобренное в установленном порядке локальным этическим комитетом.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Субъективные характеристики познавательных функций у пациентов с профессиональными заболеваниями от воздействия физических факторов были представлены жалобами на ухудшение памяти, рассеянность внимания, утомляемость, снижение работоспособности, возникшими без видимых причин, по сравнению с прошлым.

По данным нейропсихологического тестирования у пациентов с ВБ, связанной с воздействием локальной вибрации, регистрируются повышенные значения показателей тестов «Разбитое окно», «Выполнение тройного счета», «Четвёртый лишний», «Десять слов», «Кулак – ребро – ладонь», «проба Озерецкого», «Объяснение ло-

гико-грамматических конструкций», «Порядковый счёт от 1 до 10», «Перечисление дней недели, месяцев в обратном порядке», «Повторение звуков, слогов», «Повторение скороговорок», характеризующих состояние аналитико-синтетического и категориального мышления, слухоречевой (кратковременной), долговременной (при воспроизведении 10 слов через 60 минут) памяти, динамического праксиса и реципрокной координации, импресивной и экспрессивной речи (рис. 1). Результаты тестов MMSE и FAB указывают на снижение функциональной активности лобных долей и подкорковых структур при сопоставлении с контрольной группой (25 (24–27) и 15 (13–16) баллов соответственно).

Мозговая дефицитарность у пациентов с ВБ_{соч.} проявляется легко выраженными нарушениями высших психических функций (ВПФ), структура которых представлена на рисунке 1. Значения по шкалам MMSE и FAB у пациентов II группы при сопоставлении с контрольной группой также свидетельствуют о снижении когнитивных способностей (25 (22–26) и 15 (14–16) баллов соответственно).

Выявленные изменения показателей, отражающих затруднения в выполнении заданий и характеризующих слухоречевую кратковременную и долговременную память (тест «Десять слов»), зрительную образную (тест «Запоминание групп картинок»), аналитико-синтетическое (тесты «Разбитое окно», «Решение арифметических задач») и понятийное мышление (тест «Подбор противоположностей»), динамический праксис (проба «Кулак – ребро – ладонь»), реципрокную координацию (проба Озерецкого), импресивную речь (тест «Объяснение логико-грамматических конструкций») при ВБ_{соч.} могут указывать на неполноценность функционирования лобной, премоторной, нижней височной, затылочной областей левого полушария головного мозга, гиппокампа. Сниженная способность к выполнению пробы Озерецкого свидетельствует о нарушении межполушарных двигательных координаций, обеспечивающих реагирование многогранных эндо- и экзогенных энергоинформационных коммуникаций человека, и, соответственно, о плохой проводимости мозолистого тела и других межполушарных проводящих путей.

Количественная оценка выявленных изменений у пациентов с ПНСТ позволяет охарактеризовать степень нарушения в когнитивной сфере как легко выраженную. Данные свидетельствуют о наличии кинетической и пальцевой апраксии, нарушениях межполушарных двигательных координаций и понимания логико-грамматических конструкций, что, очевидно, отражает ослабление функций динамического и конструктивного праксиса, пальцевого гносиза, импресивной речи (рис. 1). Мозговая дефицитарность при ПНСТ, согласно нейропсихологическому тестированию, может быть обусловлена неполноценностью функционирования премоторной области левого полушария, теменно-височно-затылочной зоны (ТВЗ), мозолистого тела.

В результате проведения дискриминантного анализа в I группе пациентов и контрольной группе было выявлено восемь отличительных нейропсихологических

признаков: значения показателей тестов «Десять слов» (долговременная память), пробы Хэда, тестов «Объяснение логико-грамматических конструкций», «Подбор противоположностей в пассивном плане», «Исключение четвёртого лишнего в специальных рисуночных тестах», «Показ заданного пальца по образцу», «Повторение серии звуков и скороговорок», «Арифметический счёт» (табл. 1). Наиболее информативным признаком было значение показателя долговременной памяти ($F = 9,41$).

При дискриминантном анализе во II и IV группах было выявлено три достоверных показателя: тестов «Десять

слов» (слухоречевой кратковременной памяти), «Объяснение логико-грамматических конструкций», «Кулак – ребро – ладонь» (табл. 2). Наиболее информативным признаком являлся показатель слухоречевой (кратковременной) памяти ($F = 11,01$).

При дискриминантном анализе в III и IV группах было выявлено четыре достоверных показателя: тестов «Узнавание наложенных изображений», «Показ заданного пальца по образцу и по названию», «Арифметический счёт», «Подбор противоположностей в активном плане» (табл. 3). Наиболее информативным признаком являлся

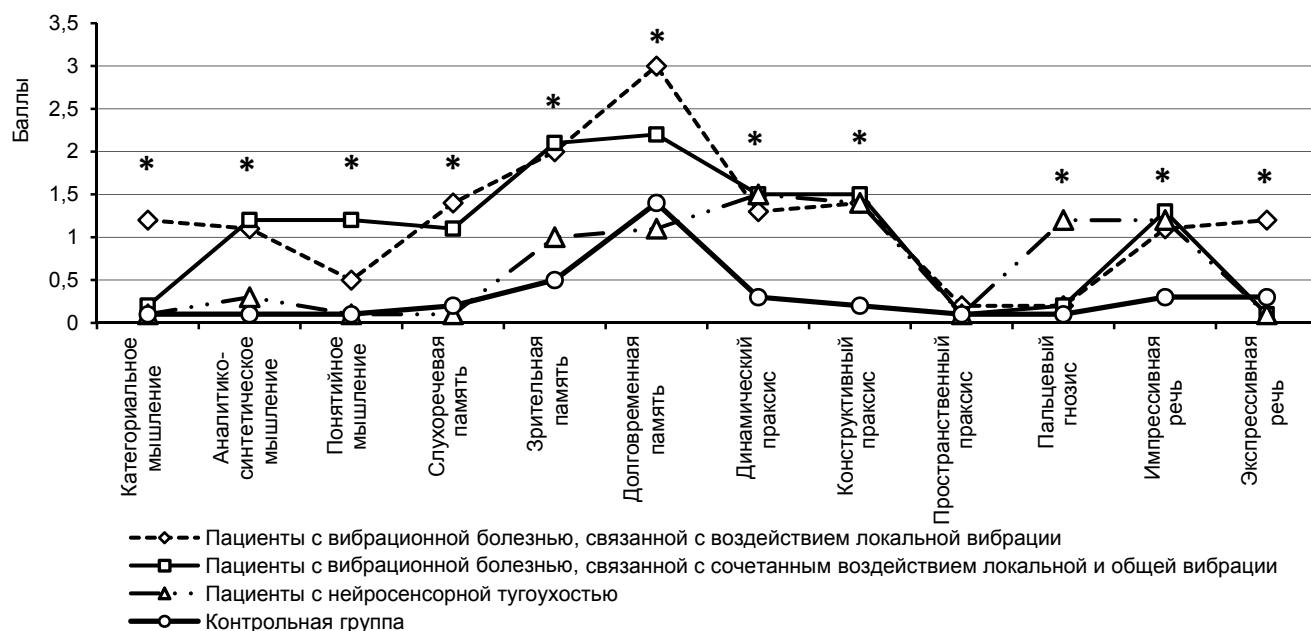


РИС. 1.

Когнитивный профиль обследованных лиц: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

ТАБЛИЦА 1

ИНФОРМАТИВНОСТЬ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНЬЮ, СВЯЗАННОЙ С ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛОКАЛЬНОЙ ВИБРАЦИИ

FIG. 1.

Cognitive profile of the examined persons: * – statistically significant differences at $p < 0.05$ compared with the control group

TABLE 1

INFORMATIVENESS OF NEUROPSYCHOLOGICAL INDICATORS IN PATIENTS WITH VIBRATION DISEASE ASSOCIATED WITH EXPOSURE TO LOCAL VIBRATION

| № | Показатели (баллы) | F включения | p |
|----------------|--|-------------|-------|
| a ₁ | Показатель теста «Десять слов» (долговременная память) | 9,41 | 0,003 |
| a ₂ | Показатель пробы Хэда | 9,32 | 0,003 |
| a ₃ | Показатель теста «Объяснение логико-грамматических конструкций» | 9,32 | 0,003 |
| a ₄ | Показатель теста «Подбор противоположностей в пассивном плане» | 8,29 | 0,005 |
| a ₅ | Показатель теста «Исключение четвёртого лишнего в специальных рисуночных тестах» | 5,78 | 0,018 |
| a ₆ | Показатель пальцевого гноэзиса (проба «Показ заданного пальца по образцу») | 7,43 | 0,008 |
| a ₇ | Показатель теста «Повторение серии звуков и скороговорок» | 6,15 | 0,015 |
| a ₈ | Показатель теста на арифметический счёт | 5,36 | 0,023 |

ТАБЛИЦА 2

ИНФОРМАТИВНОСТЬ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНЬЮ, СВЯЗАННОЙ С СОЧЕТАННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛОКАЛЬНОЙ И ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ

TABLE 2

INFORMATIVENESS OF NEUROPSYCHOLOGICAL INDICATORS IN PATIENTS WITH VIBRATION DISEASE ASSOCIATED WITH THE COMBINED EFFECTS OF LOCAL AND GENERAL VIBRATION

| № | Показатели (баллы) | F включения | p |
|----------------|--|-------------|-------|
| a ₁ | Показатель теста «Десять слов» (слухоречевая кратковременная память) | 11,01 | 0,001 |
| a ₂ | Показатель теста «Объяснение логико-грамматических конструкций» | 7,71 | 0,006 |
| a ₃ | Показатель пробы «Кулак – ребро – ладонь» | 4,11 | 0,04 |

ТАБЛИЦА 3

ИНФОРМАТИВНОСТЬ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С УСТАНОВЛЕННЫМ ДИАГНОЗОМ НЕЙРОСЕНСОРНАЯ ТУГОУХОСТЬ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ГЕНЕЗА

TABLE 3

INFORMATIVENESS OF NEUROPSYCHOLOGICAL INDICATORS IN PATIENTS DIAGNOSED WITH SENSORINEURAL HEARING LOSS OF PROFESSIONAL ORIGIN

| № | Показатели (баллы) | F включения | p |
|----------------|--|-------------|-------|
| a ₁ | Показатель теста «Узнавание наложенных изображений» | 8,48 | 0,001 |
| a ₂ | Показатель теста «Показ заданного пальца по образцу и по названию» | 7,97 | 0,01 |
| a ₃ | Показатель теста на арифметический счёт | 6,11 | 0,01 |
| a ₄ | Показатель теста «Подбор противоположностей в активном плане» | 4,43 | 0,04 |

показатель предметного гносиза (узнавание перечёркнутых и наложенных изображений) ($F = 8,48$).

Полученные признаки отражают основные изменения в когнитивной сфере при профессиональных заболеваниях, связанных с хроническим воздействием физических факторов (ВБ, обусловленной влиянием локальной вибрации, сочетанным воздействием локальной и общей вибрации, ПНСТ) с высокой степенью точности (86,1 %, 84,8 % и 72,1 % соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ

При обсуждении значимости полученных результатов необходимо акцентировать внимание на факте выявленных нарушений познавательных функций у пациентов I–III групп в виде изменения нейропсихологических показателей, которые позволяют предполагать формирование дисфункции срединных структур, вовлечение в патологический процесс лобных и теменных долей мозга. Диагностированные легко выраженные нарушения ВПФ в виде изменения нейропсихологических показателей, отражающих состояние памяти, гносиза, праксиса, мышления, предполагают развитие, преимущественно, нейродинамических и регуляторных расстройств при профессиональных заболеваниях, вызванных воздействием производственной вибрации и шума. Выявленные нейропсихологические критерии могут быть обусловлены дисфункцией одного или нескольких фронтостриарных кругов, объединяющих в единую функциональную систему базальные ганглии с таламу-

сом, лимбическими структурами, лобным и нижнетеменным отделами коры головного мозга [31, 32].

Изменение активности второго структурно-функционального блока мозга по А.Р. Лурия у пациентов с профессиональными заболеваниями от воздействия вибрации «проявляется» операциональными нарушениями ВПФ в виде снижения процессов обобщения и логических умозаключений, что позволяет предположить риск формирования смешанных преддиментных расстройств, несущих черты как корковой, так и подкорковой дисфункции при прогрессировании ВБ [31, 33]. Необходимо отметить, что у пациентов с ПНСТ не установлено операционных нарушений. Данный факт определяет более позитивный прогноз восстановления пластиности головного мозга по сравнению с пациентами с ВБ в плане сохранения адекватного когнитивного функционирования при проведении нейрореабилитации.

Следует отметить, что полученные результаты не только согласуются с данными литературы, но и дополняют их новыми знаниями о понимании механизмов развития ВБ и ПНСТ.

Применение нейропсихологического тестирования позволило установить легко выраженный характер нарушений познавательных функций у пациентов с ВБ, связанный с воздействием локальной вибрации, с ВБ_{соч.} и с ПНСТ. С помощью дискриминантного анализа получены информативные нейропсихологические признаки, которые позволяют говорить о формировании у пациентов ВБ и ПНСТ нейросенсорного когнитивного дефицита, вследствие снижения функциональной активности прецентральной, теменной областей, третичных

полей коры левого полушария, мозолистого тела. Предметом наших будущих исследований станет анализ природы выявленных особенностей при изучении центральных механизмов высших психических функций с нейрофизиологическими и церебральными гемодинамическими нарушениями при неблагоприятном воздействии физических производственных факторов. Таким образом, полученные отличительные диагностические признаки изменений ВПФ у пациентов с ВБ и ПНСТ могут использоваться для оценки эффективности лечения мозговой дефицитарности, а также при отборе работающих в группу риска развития когнитивного расстройства для дальнейшего наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследований показано лёгкое снижение познавательных функций у пациентов с профессиональными заболеваниями от воздействия физических факторов. Установлено, что общими нейропсихологическими признаками изменений в когнитивной сфере и поражения структур головного мозга у пациентов с ВБ, независимо от вида воздействия вибрации, преимущественно является легко выраженное нарушение показателей, отражающих состояние праксиса и импресивной речи, характеризующих неполноценность функционирования лобной области левого полушария головного мозга. Выявлены нейропсихологические признаки для ПНСТ, свидетельствующие о снижении функционирования лобной и теменной областей левого полушария, проявляющиеся изменением показателей, характеризующих аналитико-синтетическое и понятийное мышление, предметный и пальцевый гнонис.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках средств, выделяемых для реализации государственного задания ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований».

ЛИТЕРАТУРА

1. Результаты мониторинга условий и охраны труда в Российской Федерации в 2020 году. М.; 2021. URL: https://vcot.info/uploads/researches_file/619cbdc415951343985474.pdf [дата доступа: 24.03.2022].
2. Азовская Т.А., Лаврентьева Н.Е., Вакурова Н.В. Актуальные вопросы диагностики ангиодистонических нарушений вибрационного генеза. РМЖ. Медицинское обозрение. 2015; 23(2): 109-112.
3. Бабанов С.А., Азовская Т.А., Бараева Р.А. Влияние производственной вибрации на организм работников всех отраслей.
4. Ожогина О.А., Закревская А.А., Сериков В.В. Легкие когнитивные нарушения у работников локомотивных бригад железнодорожного транспорта (обзор литературы). Медицина труда и промышленная экология. 2016; 4: 27-30.
5. Книга В.В., Левин О.С., Бирюкбаева Г.Н., Калинина М.Б. Алкогольный судорожный синдром у авиационных специалистов гражданской авиации. Терапевт. 2015; 9: 63-72.
6. Бабанов С.А. Психопатологические расстройства при воздействии производственных факторов физической и химической природы. Нормирование и оплата труда в сельском хозяйстве. 2020; 10: 30-38.
7. Вагапова Д.М. Нарушения когнитивных функций у работников агропромышленного комплекса республики Башкортостан. Медицина труда и экология человека. 2019; 3(19): 40-44. doi: 10.24411/2411-3794-2019-10035
8. Шешегов П.М., Зинкин В.Н., Сливина Л.П. Авиационный шум как ведущий фактор, влияющий на заболеваемость и профессиональные риски у инженерно-авиационного состава. Авиакосмическая и экологическая медицина. 2018; 52(3): 62-68. doi: 10.21687/0233-528X-2018-52-3-62-68
9. Peters JL, Zevitas CD, Redline S, Hastings A, Sizov N, Hart JE, et al. Aviation noise and cardiovascular health in the United States: A review of the evidence and recommendations for research direction. Curr Epidemiol Rep. 2018; 5(2): 140-152. doi: 10.1007/s40471-018-0151-2
10. Дьякович М.П., Семенихин В.А., Раудина С.Н. Качество жизни, связанное со здоровьем, у пациентов с сенсоневральной тугоухостью профессионального генеза. Медицина в Кузбассе. 2017; 16(4): 80-85.
11. Дамулина А.И., Кадыков А.С. Когнитивные нарушения при хронической ишемии головного мозга. Фарматека. 2014; 10: 63-69.
12. Борзунова Ю.М. Физиобальнеотерапия вибрационной болезни, ассоциированной с дисциркуляторной энцефалопатией: результаты клинических, нейропсихологических методов исследования и качества жизни. Уральский медицинский журнал. 2014; 05(119): 105-109.
13. Meng H, Wang S, Guo J, Zhao Y. Cognitive impairment of workers in a large-scale aluminium factory in China: A cross-sectional study. BMJ Open. 2019; 9(6): e027154. doi: 10.1136/bmjopen-2018-027154
14. Roth JA, Garrick MD. Iron interactions and other biological reactions mediating the physiological and toxic actions of manganese. Biochem Pharmacol. 2003; 66(1): 1-13. doi: 10.1016/s0006-2952(03)00145-x
15. Mahdi O, Baharuldin MT, Nor NH, Chiroma SM, Jagadeesan S, Moklas MA. Chemicals used for the induction of Alzheimer's disease-like cognitive dysfunctions in rodents. Biomed Res Ther. 2019; 6(11): 3460-3484. doi: 10.15419/bmrat.v6i11.575
16. Шевченко О.И., Катаманова Е.В., Ещина И.М., Лахман О.Л. Способ диагностики начальных признаков когнитивного дефицита при хроническом воздействии винилхлорида: Патент № 2583732 Рос. Федерация; МПК A61B 5/00 (2006.01), A61B 5/16 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований». № 2015115442/14; заявл. 23.04.2015; опубл. 10.05.2016. Бюл. № 13.

17. Катаманова Е.В., Рукавишников В.С., Лахман О.Л., Шевченко О.И., Денисова И.А. Когнитивные нарушения при токсическом поражении мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015; 115(2): 11-15. doi: 10.17116/jneuro20151152111-15
18. Шевченко О.И., Катаманова Е.В., Ешина И.М. Особенности изменений в психической сфере у пациентов с начальными проявлениями нейроинтоксикации в зависимости от экспозиционной нагрузки винилхлоридом. *Медицина труда и промышленная экология*. 2017; 9: 215-216.
19. Федоров А.А., Самохвалова Г.Н., Чудинова О.А., Борзунова Ю.М., Гуляев В.Ю. *Нарушение когнитивных функций у горнорабочих виброопасных профессий и методы их коррекции: информационно-методическое письмо*. Екатеринбург, 2017.
20. Шевченко О.И., Русанова Д.В., Лахман О.Л. Нейрофизиологические и нейропсихологические особенности пациентов с профессиональной нейросенсорной тугоухостью. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(10): 1068-1073. doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-10-1068-1073
21. Ганович Е.А., Семенихин В.А. Дисфункция когнитивно-мнемической сферы при вибрационной болезни у горнорабочих Кузбасса. *Медицина труда и промышленная экология*. 2011; 12: 43-48.
22. Екушева Е.В. Когнитивные нарушения – актуальная междисциплинарная проблема. *РМЖ*. 2018; 12(12-1): 32-37.
23. Kwok CY, Ma CWr, Leung SY. Chronic disease self-management and cognitive training program to improve diabetic control in older outpatients with memory complaints: A randomized trial. *Hong Kong Med J*. 2018; 24(1): 16-20.
24. Krug RR, Silva AQAD, Schneider IJC. Cognitive cooperation groups mediated by computers and internet present significant improvement of cognitive status in older adults with memory complaints: A controlled prospective study. *Arq Neuropsiquiatr*. 2017; 75(4): 228-233. doi: 10.1590/0004-282X20170021
25. Вагапова Д.М., Шайхлисламова Э.Р., Волгарева А.Д., Чурмантаева С.Х., Чурмантаева Г.Х. Нарушения когнитивных функций у работников тепловых электростанций. *Здоровье и окружающая среда: Сборник материалов международной научно-практической конференции*. 2019: 176-177.
26. Ахутина Т.В., Меликян З.А. Нейропсихологическое тестирование: обзор современных тенденций. К 110-летию со дня рождения А.Р. Лурия. *Клиническая и специальная психология*. 2012; 1(2): 1-18.
27. Хомская Е.Д. *Нейропсихология*; 4-е издание. Санкт-Петербург: Питер; 2007.
28. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: A frontal assessment battery at bedside. *Neurology*. 2000; 55(11): 1621-1626. doi: 10.1212/wnl.55.11.1621
29. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: a practical guide for grading the mental state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975; 12(3): 189-198. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6
30. Белова А.Н. *Шкалы, тесты и опросники в неврологии и нейрохирургии. Руководство для врачей и научных работников*. М.: Самарский Дом печати; 2004.
31. Левин О.С., Аникина М.А., Васенина Е.Е. Когнитивные и нейропсихиатрические расстройства при экстрапирамидных заболеваниях. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2012; 4(25): 22-30. doi: 10.14412/2074-2711-2012-2505
32. Лурия А.Р. *Основы нейропсихологии*. Учебное пособие для студентов высших учебных заведений. М.: Издательский центр «Академия»; 2003.
33. Onofri M, Bonanni L, Manzoli L, Thomas A. Cohort study on somatoform disorders in Parkinson disease and dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2010; 74(20): 1598-1606. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181df09dd

REFERENCES

1. *Results of monitoring conditions and labor protection in the Russian Federation in 2020*. Moscow, 2021. URL: https://vcot.info/uploads/researches_file/619cbdc415951343985474.pdf [date of access: 24.03.2022]. (In Russ.).
2. Azovskova TA, Lavrentieva NE, Vakurova NV. Topical issues in the diagnosis of angiodynastic disorders of vibrational genesis. *RMJ. Medical Review*. 2015; 23(2): 109-112. (In Russ.).
3. Babanov SA, Azovskova TA, Baraeva RA. The impact of industrial vibration on the body of workers in all industries. *Okhrana truda i tekhnika bezopasnosti v sel'skom khozyaystve*. 2020; 2(192): 35-44. (In Russ.).
4. Ozhogina OA, Zakrevskaya AA, Serikov VV. Mild cognitive impairment in employees of locomotive crews of railway transport (literature review). *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2016; 4: 27-30. (In Russ.).
5. Kmiga VV, Levin OS, Biryukbaeva GN, Kalinina MB. Alcoholic convulsive syndrome in aviation specialists of civil aviation. *Terapevt*. 2015; 9: 63-72. (In Russ.).
6. Babanov SA. Psychopathological disorders under the influence of production factors of physical and chemical nature. *Normirovanie i oplata truda v sel'skom khozyaystve*. 2020; 10: 30-38. (In Russ.).
7. Vagapova DM. Impairments of cognitive functions in workers of the agro-industrial complex of the Republic of Bashkortostan. *Occupational Medicine and Human Ecology*. 2019; 3(19): 40-44. (In Russ.). doi: 10.24411/2411-3794-2019-10035
8. Sheshegov PM, Zinkin VN, Slivina LP. Aircraft noise as a leading factor influencing morbidity and occupational risks among aviation engineers. *Aerospace and Environmental Medicine*. 2018; 52(3): 62-68. (In Russ.). doi: 10.21687/0233-528X-2018-52-3-62-68
9. Peters JL, Zevitas CD, Redline S, Hastings A, Sizov N, Hart JE, et al. Aviation noise and cardiovascular health in the United States: A review of the evidence and recommendations for research direction. *Curr Epidemiol Rep*. 2018; 5(2): 140-152. doi: 10.1007/s40471-018-0151-2
10. D'yakovich MP, Semenikhin VA, Raudina SN. Health-related quality of life in patients with occupational sensorineural hearing loss. *Medicine in Kuzbass*. 2017; 16(4): 80-85. (In Russ.).
11. Damulina AI, Kadykov AS. Cognitive impairment in chronic cerebral ischemia. *Farmateka*. 2014; 10: 63-69. (In Russ.).
12. Borzunova YuM. Physiobalneotherapy of vibration disease associated with dyscirculatory encephalopathy: Results of clinical, neuropsychological research methods and quality of life. *Ural Medical Journal*. 2014; 05(119): 105-109. (In Russ.).
13. Meng H, Wang S, Guo J, Zhao Y. Cognitive impairment of workers in a large-scale aluminium factory in China: A cross-sectional study. *BMJ Open*. 2019; 9(6): e027154. doi: 10.1136/bmjopen-2018-027154

14. Roth JA, Garrick MD. Iron interactions and other biological reactions mediating the physiological and toxic actions of manganese. *Biochem Pharmacol*. 2003; 66(1): 1-13. doi: 10.1016/s0006-2952(03)00145-x
15. Mahdi O, Baharuldin MT, Nor NH, Chiroma SM, Jagadeesan S, Moklas MA. Chemicals used for the induction of Alzheimer's disease-like cognitive dysfunctions in rodents. *Biomed Res Ther*. 2019; 6(11): 3460-3484. doi: 10.15419/bmrat.v6i11.575
16. Shevchenko Ol, Katamanova EV, Eshchina IM, Lakhman OL. *A method for diagnosing the initial signs of cognitive deficit in chronic exposure to vinyl chloride*: Patent No. 2583732 of the Russian Federation. 2016; (13). (In Russ.).
17. Katamanova EV, Rukavishnikov VS, Lakhman OL, Shevchenko Ol, Denisova IA. Cognitive impairment in toxic brain damage. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2015; 115(2): 11-15. (In Russ.). doi: 10.17116/jnevro20151152111-15
18. Shevchenko Ol, Katamanova EV, Eshchina IM. Features of changes in the mental sphere in patients with initial manifestations of neurointoxication depending on exposure to vinyl chloride. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2017; 9: 215-216. (In Russ.).
19. Fedorov AA, Samokhvalova GN, Chudinova OA, Borzunova YuM, Gulyaev VYu. *Impairment of cognitive functions in miners with vibration-hazardous professions and methods for their correction: Information and methodological letter*. Yekaterinburg; 2017. (In Russ.).
20. Shevchenko Ol, Rusanova DV, Lakhman OL. Neurophysiological and neuropsychological features of patients with occupational sensorineural hearing loss. *Hygiene and Sanitation*. 2019; 98(10): 1068-1073. (In Russ.). doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-10-1068-1073
21. Ganovich EA, Semenikhin VA. Dysfunction of the cognitive-mnestic sphere in case of vibration disease in miners of Kuzbass. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2011; 12: 43-48. (In Russ.).
22. Ekusheva EV. Cognitive impairment is an actual interdisciplinary problem. *RMJ*. 2018; 12(12-1): 32-37. (In Russ.).
23. Kwok CY, Ma CW, Leung SY. Chronic disease self-management and cognitive training program to improve diabetic control in older outpatients with memory complaints: A randomized trial. *Hong Kong Med J*. 2018; 24(1): 16-20.
24. Krug RR, Silva AQAD, Schneider IJC. Cognitive cooperation groups mediated by computers and internet present significant improvement of cognitive status in older adults with memory complaints: A controlled prospective study. *Arq Neuropsiquiatr*. 2017; 75(4): 228-233. doi: 10.1590/0004-282X20170021
25. Vagapova DM, Shaikhislamova ER, Volgareva AD, Churmantayeva SKh, Churmantayeva GKh. Impaired cognitive functions in employees of thermal power plants. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda: Sbornik materialov mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. 2019: 176-177. (In Russ.).
26. Akhutina TV, Melikyan ZA. Neuropsychological testing: A review of current trends. To the 110th anniversary of the birth of A.R. Luria. *Clinical Psychology and Special Education*. 2012; 1(2): 1-18. (In Russ.).
27. Chomskaya ED. *Neuropsychology; 4th edition*. St. Petersburg: Peter; 2007. (In Russ.).
28. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: A frontal assessment battery at bedside. *Neurology*. 2000; 55(11): 1621-1626. doi: 10.1212/wnl.55.11.1621
29. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: a practical guide for grading the mental state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975; 12(3): 189-198. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6
30. Belova AN. *Scales, tests and questionnaires in neurology and neurosurgery. A guide for physicians and researchers*. Moscow: Samara Printing House; 2004. (In Russ.).
31. Levin OS, Anikina MA, Vasenina EE. Cognitive and neuropsychiatric disorders in extrapyramidal diseases. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2012; 4(2S): 22-30. (In Russ.). doi: 10.14412/2074-2711-2012-2505
32. Luria AR. *Fundamentals of neuropsychology. Textbook for students of higher educational institutions*. Moscow: Academy; 2003. (In Russ.).
33. Onofri M, Bonanni L, Manzoli L, Thomas A. Cohort study on somatoform disorders in Parkinson disease and dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2010; 74(20): 1598-1606. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181df09dd

Сведения об авторах

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>

Лахман Олег Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, директор, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», <https://orcid.org/0000-0002-0013-8013>

Information about the authors

Oxana I. Shevchenko – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of the Professional and Ecologically Caused 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 RAS, Director, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, <https://orcid.org/0000-0002-0013-8013>

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА PREVENTIVE MEDICINE

РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОСНОВНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ЖИТЕЛЕЙ СЕВЕРА В ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОМ АСПЕКТЕ

РЕЗЮМЕ

Аверьянова И.В.,
Лоскутова А.Н.,
Карандашева В.О.

ФГБУН Научно-исследовательский центр
«Арктика» Дальневосточного отделения
Российской академии наук
(685000, г. Магадан, пр. Карла Маркса, 24,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Аверьянова Инесса Владиславовна,
e-mail: Inessa1382@mail.ru

Показатели физического развития, ввиду своей «экосензитивности», рассматриваются как основные характеристики уровня здоровья населения. Целью данной работы явилось проведение анализа оценки траектории основных показателей физического развития в онтогенетическом аспекте (с 8 до 77 лет) у популяции уроженцев Севера мужского пола.

Материал и методы исследования. Для поставленной цели были обследованы 3794 лица мужского пола из числа европеоидов 17 возрастных групп, у которых определяли основные показатели физического развития.

Результаты исследования показали, что региональные особенности в формировании соматометрического статуса жителей-северян мужской популяции из числа европеоидов проявляются наибольшими величинами показателя длины тела в сравнении с обследуемыми из других регионов Российской Федерации, а также относительно жителей других стран на фоне статистически значимо более низких величин индекса массы тела и показателя массы тела с 17-летнего периода. К региональным особенностям формирования соматотипа современных жителей Севера необходимо также отнести окончание ростовых процессов к началу юношеского периода онтогенеза. Траектория погодовых приростов длины и массы тела свидетельствует о выраженной динамике данных показателей в возрастной период с 11 до 16 лет, что наблюдается на фоне снижения длины тела к 60–77 годам и значительного возрастания массы тела и индекса массы тела к 31–36 годам.

Заключение. Полученные результаты указывают на необходимость проведения мониторинговых исследований основных характеристик физического развития с оценкой траекторий погодовых приростов у жителей Севера как показателей уровня здоровья населения с целью выявления групп риска относительно развития неинфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний в связи с увеличением ИМТ в старших возрастных группах.

Ключевые слова: физическое развитие, длина тела, масса тела, индекс массы тела, жители Севера, региональные особенности

Статья получена: 25.03.2022
Статья принята: 27.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Аверьянова И.В., Лоскутова А.Н., Карандашева В.О. Региональные особенности основных характеристик физического развития жителей Севера в онтогенетическом аспекте. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 173-181. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.18

REGION-RELATED PATTERNS OF THE MAIN PHYSICAL DEVELOPMENT INDICATORS OBSERVED IN NORTHERNERS IN THE ONTOGENETIC ASPECT

ABSTRACT

**Averyanova I.V.,
Loskutova A.N.,
Karandasheva V.O.**

Scientific Research Center "Arktika",
Far Eastern Branch of the Russian
Academy of Sciences (Karla Markska ave. 24,
Magadan 685000, Russian Federation)

Corresponding author:
Inessa V. Averyanova,
e-mail: Inessa1382@mail.ru

Indicators of physical development appear to be environmentally sensitive and thus we can consider them the main characteristics of the population health. The aim. To assess the line of physical development main variables in the ontogenetic aspect (data from the North born male subjects aged from 8 to 77).

Material and methods. Three thousand seven hundred and ninety-four male Caucasians from 17 age groups were examined to analyse their physical development. **Results.** The study showed longer body length variables as the region-related somatometric picture which is characteristic of male Caucasian northerners in comparison with those from other regions of the Russian Federation, as well as from other countries. Besides, they exhibited significantly lower body mass index and reported to have had lower body weight since the age of 17. We can see the modern northerners' somatotype being influenced by regional extremes. That also includes the end of the body growth processes by the start of ontogenesis in the youth. The line pattern of annual growth observed in the body length and weight variables indicates a combined pronounced dynamics in the 11 to 16 age period. By the age of 60–77 years subjects tend to decrease in the body length with a significant increase in the body weight and body mass index by the age of 31–36.

Conclusion. The study suggests that identifying risks for the development of non-infectious and cardiovascular diseases caused by accelerated BMI in older populations requires monitoring of the North inhabitants' main physical development indicators as well as the body annual growth variables.

Key words: physical development, body length, body weight, body mass index, residents of the North, region-related patterns

Received: 25.03.2022

Accepted: 27.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Averyanova I.V., Loskutova A.N., Karandasheva V.O. Region-related patterns of the main physical development indicators observed in northerners in the ontogenetic aspect. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 173-181. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.18

ВВЕДЕНИЕ

Показатели физического развития, ввиду своей «экосензитивности», рассматриваются как основные характеристики уровня здоровья населения и качества среды как «зеркальное отражение происходящих в обществе процессов» [1]. Ростовой процесс является результатом взаимодействия биологических факторов, присущих человеку как биологическому виду, с конкретными условиями окружающей среды. При всём сходстве основных характеристик физического развития вариабельность показателей роста и развития является отражением пластичности процесса онтогенеза [2].

Длина тела является особой биологической характеристикой человека, она является основным антропометрическим фенотипическим признаком человека, носит кумулятивный характер [3] и, как известно, изменяется с возрастом [4]. Рост населения долгое время рассматривался как показатель состояния здоровья и питания [5], в то же время уровень образования и доход являются двумя важными детерминантами роста детей [6]. Интенсивное увеличение роста тела происходит в течение первых двух десятилетий жизни человека, особенно в критические периоды, когда скорость роста возрастает и, следовательно, влияет на длину тела взрослого человека. Лишь незначительный рост наблюдается в третьем десятилетии жизни при стабилизации роста тела, а затем может наблюдаться незначительное снижение данной характеристики [7–10].

Что касается массы тела, то изменения данного показателя, как правило, происходят пропорционально увеличению длины тела. Однако за последние три десятилетия эта тенденция ускорилась и способствовала нынешней высокой распространённости избыточной массы тела и ожирения в целом [11]. Многочисленные факторы питания и образа жизни способствуют данным изменениям антропометрических параметров, в том числе модификации рациона питания с увеличением доступности нездоровых и более дешёвых продуктов питания, снижением физической активности, а также общественные факторы, такие как модернизация и условия жизни [12].

Популяционным индексом для контроля массы тела обычно является индекс массы тела (ИМТ). Национальные многоцентровые исследования показали, что ожирение, измеряемое ИМТ, значительно возросло в последние десятилетия во многих странах [13–15], также утверждают, что увеличение ИМТ является современной пандемией [16, 17].

Кроме того, широко понимаемая среда обитания каждого человека, как впренатальный период, так и в течение примерно первых двух десятилетий жизни, изменяет экспрессию генов, обеспечивая при этом фенотипическую реакцию в виде определённого роста тела [18–20]. При этом интенсивность ростовых процессов контролируется как внутренними (гормоны, местные тканеспецифические факторы саморегуляции ростовых процессов), так и внешними факторами, к которым, несомненно, относятся климатические особенности окружающей среды [2]. Учитывая вышесказанное и тот факт,

что Магаданская область относится к субарктической области и полностью соответствует современным научным представлениям о циркумполярных регионах [21, 22] (средняя температура января находится в пределах -26°C , а средняя температура июля составляет $+13,4^{\circ}\text{C}$), целесообразным явилось провести анализ оценки траектории основных показателей физического развития в онтогенетическом аспекте (с 8 до 77 лет) у популяции уроженцев Севера мужского пола.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Проведение анализа оценки траектории основных показателей физического развития в онтогенетическом аспекте (с 8 до 77 лет) у популяции уроженцев Севера мужского пола.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проведено комплексное сплошное поперечное исследование представителей мужского пола в возрасте от 8 до 77 лет, уроженцев Магаданской области из числа европеоидов. Критерии включения в исследование были следующими: возраст, информированное согласие родителей (для детей до 15 лет) или самих обследуемых на обследование и обработку персональных данных, 1–2-я группы здоровья; критерии исключения в исследование – наличие в анамнезе хронических заболеваний.

У обследуемых определяли основные показатели физического развития: длину тела (ДТ, см) оценивали с точностью до 0,5 см с помощью настенного ростометра, массу тела (МТ, кг) измеряли с точностью до 0,1 кг с использованием медицинских весов. Также измеряли окружность грудной клетки (ОГК, см) с точностью до 0,1 см с использованием измерительной сантиметровой ленты. Из полученных антропометрических характеристик рассчитывали индекс массы тела (ИМТ, кг/м²).

Скорость роста и возрастание массы тела в каждом возрастном периоде рассчитывали по следующей формуле:

$$\begin{aligned} \text{Скорость роста (см/год)} = \\ = (\text{рост 2} - \text{рост 1}) / \text{хронологический возраст 2} - \\ - \text{хронологический возраст 1} [23]. \end{aligned}$$

В выборку вошли 3794 обследуемых, которые были разделены на 17 групп в зависимости от их возраста: 8 лет (n = 135); 9 лет (n = 110); 10 лет (n = 161); 11 лет (n = 250); 12 лет (n = 239); 13 лет (n = 264); 14 лет (n = 271); 15 лет (n = 277); 16 лет (n = 265); 17 лет (n = 564); 18 лет (n = 394); 19 лет (n = 237); 20–21 год (n = 271); 25–30 лет (n = 139); 31–36 лет (n = 110); 36–46 лет (n = 55); 60–77 лет (n = 39).

Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ред. 2013 г.). Протокол исследования был одобрен комиссией по биоэтике ФГБУН Института биологических проблем Севера ДВО РАН (№ 001/019 от 29.03.2019). У всех обследуемых было получено пись-

менное информированное согласие до включения в исследование.

Полученные результаты подвергнуты статистической обработке с применением пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Проверка на нормальность распределения измеренных переменных осуществлялась на основе теста Шапиро – Уилка. Ввиду нормального распределения выборок результаты параметрических методов обработки представлены в виде среднего значения (M) и ошибки средней арифметической ($\pm m$). Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическая значимость различий определялась с помощью t -критерия Стьюдента. Критический уровень статистической значимости (p) в работе принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлены основные антропометрические характеристики и соматометрические индексы у жителей-северян в возрастной период с 8 до 77 лет. Из представленных данных видно, что отмечается вы-

раженная значимая динамика по основным анализируемым характеристикам физического развития. На рисунке 1 представлены значения скорости длины тела (см/год) и массы тела (кг/год) в каждом возрастном периоде.

Динамика роста мальчиков 8–16 лет характеризуется неравномерностью среднегодовых приростов показателей. Интенсивное увеличение длины и массы тела происходит в подростковый период развития с 12 до 15 лет (на 27 см и 21 кг соответственно). В этот же период наблюдаются максимальные годовые приросты (пубертатный «скакок») по данным показателям: по длине тела – в 13–14 лет (на 7,5 см/год), по массе тела – в 12–13 лет (6,6 кг/год). Следует отметить окончание значимых приростов относительно показателя длины тела, начиная с юношеского периода онтогенеза со снижением соответствующего показателя в возрастной группе 66–77 лет.

Средние значения ИМТ у детей и подростков, а также представителей юношеского периода онтогенеза соответствуют нормативным значениям (ИМТ < 24,9 кг/м²) с превышением данного нормативного диапазона с 31–36 лет и в более старших возрастных группах.

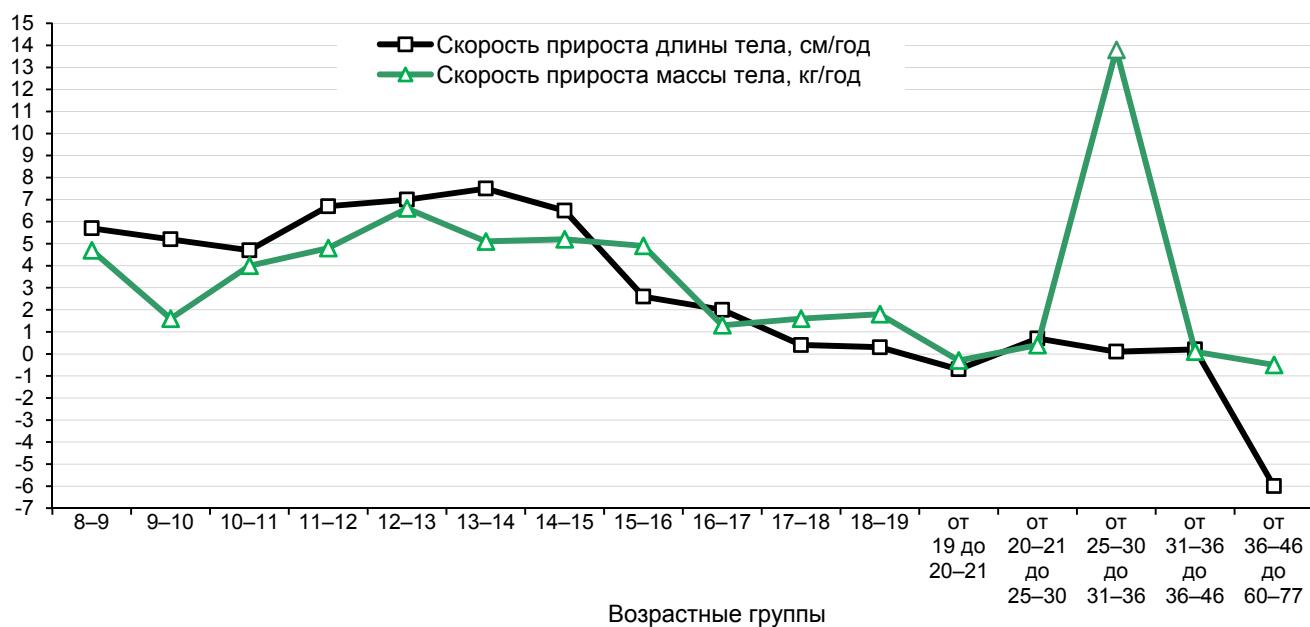
Темпы прироста ОГК у мальчиков соотносятся с увеличением ДТ в 12–15 лет. Максимальный годовой при-

ТАБЛИЦА 1
ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
ЖИТЕЛЕЙ-СЕВЕРЯН В ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОМ АСПЕКТЕ
($M \pm m$)

TABLE 1
THE MAIN INDICATORS OF PHYSICAL DEVELOPMENT
OF NORTHERNERS IN THE ONTOGENETIC ASPECT
($M \pm m$)

| Возраст, лет | Длина тела, см | Масса тела, кг | Окружность грудной клетки, см | Индекс массы тела, кг/м ² |
|---------------------|-------------------|------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| 8 ($n = 135$) | $130,4 \pm 0,5$ | $28,8 \pm 0,5$ | – | $16,8 \pm 0,2$ |
| 9 ($n = 110$) | $136,1 \pm 0,6^*$ | $33,5 \pm 0,7^*$ | – | $17,9 \pm 0,3^*$ |
| 10 ($n = 161$) | $141,3 \pm 0,5^*$ | $35,1 \pm 0,6$ | $69,7 \pm 0,6$ | $17,4 \pm 0,2$ |
| 11 ($n = 250$) | $146,0 \pm 0,5^*$ | $39,1 \pm 0,6^*$ | $71,6 \pm 0,4^*$ | $18,2 \pm 0,2$ |
| 12 ($n = 239$) | $152,7 \pm 0,5^*$ | $43,9 \pm 0,7^*$ | $72,9 \pm 0,5^*$ | $18,7 \pm 0,2$ |
| 13 ($n = 264$) | $159,7 \pm 0,7^*$ | $50,5 \pm 0,8^*$ | $76,8 \pm 0,5^*$ | $19,3 \pm 0,2^*$ |
| 14 ($n = 271$) | $167,2 \pm 0,5^*$ | $55,6 \pm 0,7^*$ | $81,1 \pm 0,5^*$ | $19,7 \pm 0,2$ |
| 15 ($n = 277$) | $173,7 \pm 0,5^*$ | $60,8 \pm 0,7^*$ | $84,5 \pm 0,4^*$ | $20,1 \pm 0,2$ |
| 16 ($n = 265$) | $176,3 \pm 0,5^*$ | $65,7 \pm 0,8^*$ | $88,2 \pm 0,5^*$ | $21,1 \pm 0,2^*$ |
| 17 ($n = 564$) | $178,3 \pm 0,3^*$ | $67,0 \pm 0,4$ | $90,0 \pm 0,3^*$ | $21,1 \pm 0,3$ |
| 18 ($n = 394$) | $178,7 \pm 0,4$ | $68,6 \pm 0,5^*$ | $91,1 \pm 0,3^*$ | $21,5 \pm 0,2$ |
| 19 ($n = 237$) | $179,0 \pm 0,5$ | $70,4 \pm 0,7^*$ | $92,4 \pm 0,4^*$ | $21,7 \pm 0,4$ |
| 20–21 ($n = 271$) | $178,3 \pm 0,4$ | $70,1 \pm 0,7$ | $93,3 \pm 0,4$ | $21,5 \pm 0,2$ |
| 25–30 ($n = 139$) | $179,0 \pm 0,4$ | $70,5 \pm 0,5$ | $93,0 \pm 0,3$ | $22,1 \pm 0,2^*$ |
| 31–36 ($n = 123$) | $179,1 \pm 0,6$ | $84,3 \pm 0,9^*$ | $101,9 \pm 0,6^*$ | $26,2 \pm 0,3^*$ |
| 36–46 ($n = 55$) | $179,3 \pm 1,1$ | $84,4 \pm 1,4$ | $102,5 \pm 0,9$ | $26,1 \pm 0,2$ |
| 60–77 ($n = 39$) | $173,3 \pm 1,2^*$ | $83,9 \pm 1,8$ | $105,7 \pm 1,1^*$ | $27,9 \pm 0,6^*$ |

Примечание. * – статистически значимые различия относительно предыдущей возрастной группы ($p < 0,05$).

**РИС. 1.**

Траектория погодовых приростов длины и массы у жителей Севера с 8 до 77 лет

рост ОГК происходит в тот же период, что и «скакок» ДТ – в 13–14 лет, с ежегодными значимыми приростами до 19 лет. Также следует отметить увеличение ОГК в возрастных группах 31–36 лет и 60–77 лет. Ежегодные приросты соматометрических показателей у подростков позволили выявить региональные особенности наиболее выраженных ростовых периодов, которые отличаются от сверстников центрального региона России [24].

Погодовые приросты длины тела свидетельствуют об интенсивной положительной динамике в возрастной период с 11 до 16 лет и со снижением к 60–77 годам. Погодовые приросты показателей массы тела соответствуют траектории прироста длины тела с 11 до 16 лет, с выраженным увеличением в возрастной период 31–36 лет.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в нашем исследовании данные указывают на то, что показатель длины тела не имеет статистически значимых различий, начиная с 17-летнего периода до возрастной группы 36–46 лет. Представленные результаты отличаются от данных, полученных рядом исследователей, которые в своих работах указывают на продолжающиеся ростовые процессы в возрастной группе юношей [7] до 20–25-летнего периода [25], что является отражением формирования региональных особенностей морфологического статуса современных жителей-северян, проявляющихся в окончании ростовых процессов к началу юношеского периода онтогенеза.

Сравнительный анализ соматометрических показателей с аналогичными исследованиями в субъектах РФ показал, что магаданские мальчики статистически значи-

FIG. 1.

The trajectory of the weather increases in length and mass in the inhabitants of the North from 8 to 77 years

мо превосходят своих сверстников из г. Ростова-на-Дону ($47^{\circ} 14'$ с. ш.) по ДТ в 8, 9 и 15 лет и по МТ в 9, 11, 14 и 16 лет, г. Курска ($51^{\circ} 43'$ с. ш.) по ДТ и МТ в 8–16 лет, г. Санкт-Петербурга ($59^{\circ} 57'$ с. ш.) и г. Архангельска ($64^{\circ} 33'$ с. ш.) по данным показателям в большинстве случаев в период пубертата 12–16 лет [26]. Магаданские подростки имеют более выраженные поперечные размеры тела (ОГК), чем их сверстники из г. Ростова-на-Дону в 10, 13, 16 лет, г. Курска – в 10–11 и 15–16 лет, г. Архангельска – в 10–16 лет [26]. Дети и подростки Турции уступают магаданским сверстникам по ДТ, однако опережают по МТ в 12, 13 и 15 лет и ИМТ в 8, 10 и 12–14 лет [27].

Анализ длины тела в юношеском периоде онтогенеза показал, что обследуемые характеризовались статистически значимо более высокими величинами относительно сверстников, поживающих в г. Ростов-на-Дону ($176,6 \pm 0,75$; $p < 0,05$), в г. Курске ($169,2 \pm 0,67$; $p < 0,001$), г. Санкт-Петербурге ($164,4 \pm 0,14$; $p < 0,001$), г. Архангельске ($174,4 \pm 0,64$; $p < 0,01$) [26]. Эти выводы подтверждаются и результатами, полученными при анализе ростовых характеристик в сравнении со сверстниками из других стран, где средняя длина тела 17–18-летних юношей Китая (г. Пекин) составила 175,3 см [28], длина тела американских юношей равнялась 176,3 см [29], а длина тела молодых людей Японии не превышала 170,5 см [28]. Следует отметить, что такие перестройки показателей соматотипа наблюдались на фоне более низких показателей массы тела и ИМТ в сравнении со сверстниками из Польши (МТ = $75,6 \pm 0,9$ кг; $p < 0,001$ и ИМТ = $23,1 \pm 0,6$ кг/м²; $p < 0,001$) [14], США (ИМТ = $22,18 \pm 0,4$ кг/м²; $p < 0,05$) [30], а также относительно молодых людей из г. Самары (ИМТ = $22,33 \pm 0,38$ кг/м²; $p < 0,01$ и МТ = $74,2 \pm 2,72$ кг; $p < 0,01$) [31] и г. Красноярска (ИМТ = $23,28 \pm 0,23$ кг/м²; $p < 0,001$) [32].

К выявленным особенностям основных показателей физического развития в группе мужчин среднего возраста следует отнести то, что величины показателя длины тела в выборке мужчин 31–36 лет и 36–46 лет были на статистически значимую величину выше, чем у обследуемых в г. Тюмени ($175,6 \pm 0,9$ см; $p < 0,05$) [33], г. Красноярске ($173,2 \pm 1,1$ см; $p < 0,001$) [34], г. Перми ($174,9 \pm 7,8$ см; $p < 0,001$) [35], а также представителей ряда стран – Франции ($176,20$ см) [36], Греции ($177,29$ см) [37], Португалии ($172,30$ см) [37], но ниже, чем у представителей Дании ($181,40$ см) [37] и Швеции ($180,40$ см) [37]. При этом необходимо указать, что полученные в нашем исследовании показатели ИМТ для возрастных групп 25–30, 36–46 и 60–77 лет были на статистически значимую величину ниже, чем у жителей Воронежской, Тюменской и Кемеровской, Волгоградской, Ивановской и Самарской областей [38].

Таким образом, полученные нами данные достаточно наглядно демонстрируют тот факт, что для обследуемых лиц мужского пола, уроженцев-европеоидов г. Магадана свойственны достаточно высокие показатели длины тела, отличающие их от лиц, проживающих в различных субъектах России и в других странах.

Как показывают наши результаты исследования, в возрастном периоде 60–77 лет показатель длины тела был на статистически значимую величину ниже относительно обследуемых юношеской группы ($p < 0,001$) и лиц среднего возраста ($p < 0,001$). Полученные результаты в полной мере согласуются с данными, представленными P. Sikora [25], в которых показано, что длина тела снижается в старших возрастных группах в возрасте 65–70 лет, достигая 4 % разницы в сравнении с лицами юношеского периода онтогенеза. Установлено, что совокупная потеря роста в возрасте от 30 до 70 лет составляла в среднем около 3 см, а к 80 годам она увеличилась до 5 см для мужчин [25].

Обращает на себя внимание линейный рост увеличения показателей МТ с возрастом (рис. 1) с отсутствием статистически значимого погодового прироста данного показателя в возрастных группах 9–10 лет, 16–17 лет, 19–20–21 год и 20–21–30 лет. При этом наибольшая степень возрастания МТ наблюдается между группами 25–30 и 31–36 лет, где увеличение данной характеристики составило 13,8 кг, и это привело к статистически значимому увеличению ИМТ с $22,1 \pm 0,3$ до $26,2 \pm 0,3$ кг/м² ($p < 0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ основных характеристик физического развития в онтогенетическом аспекте (от 8 до 77 лет) позволил установить региональные особенности в формировании соматометрического статуса жителей-северян, проявляющиеся наибольшими величинами показателя длины тела в сравнении с обследуемыми как из других регионов Российской Федерации, а также относительно жителей других стран на фоне статистически значимо более низких величин индекса массы тела и показателя массы тела.

У магаданских детей и подростков оценка траектории возрастных приростов длины тела и ОГК наблюдалась в 13–14 лет, а массы тела на год раньше – в 12–13 лет.

Анализ полученных нами результатов, а также литературных данных свидетельствует о формировании региональных особенностей соматотипа мужской популяции современных жителей Севера, проявляющихся с одной стороны увеличением габаритных размеров тела (длины тела), а с другой – более низкими величинами МТ и ИМТ, начиная с 17-летнего периода, что наблюдается на фоне окончания ростовых процессов к началу юношеского периода онтогенеза со снижением длины тела возрастном периоде 60–77 лет.

Необходимо подчеркнуть, что наиболее неблагоприятным возрастным периодом относительно выраженного увеличения массы тела и возрастания ИМТ, средние величины которого характеризуют наличие избыточной массы тела, является возрастной период 31–36 лет. Исходя из полученных результатов необходимо проводить целенаправленные профилактические мероприятия в данном периоде онтогенеза с целью снижения риска развития неинфекционных заболеваний и развития сердечно-сосудистых заболеваний в данном возрастном периоде. При этом необходимо указать на необходимость проведения мониторинговых исследований основных характеристик физического развития с оценкой траекторий погодовых приростов у жителей Севера, как показателя уровня здоровья населения с целью выявления групп риска ввиду влияния экстремальных факторов окружающей среды.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена за счёт бюджетного финансирования НИЦ «Арктика» ДВО РАН в рамках выполнения темы «Изучение межсистемных и внутрисистемных механизмов реакций в формировании функциональных адаптивных резервов организма человека «Северного типа» на разных этапах онтогенеза лиц, проживающих в дискомфортных и экстремальных условиях с определением интегральных информативных индексов здоровья» (регистрационный номер АААА-А21-121010690002-2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Tanner JM. Growth as a mirror of the condition of society: Secular trends and class distinctions. *Human Growth. A Multidisciplinary review*. London; Philadelphia: Taylor & Francis; 1986: 3-34.
2. Степанова А.В., Година Е.З., Хомякова И.А., Задорожная Л.В. Мониторинг ростовых процессов у детей и подростков с высокорослостью. *Вестник Московского университета. Серия 23. Антропология*. 2012; 4/2012: 84-97.
3. Marouli E, Graff M, Medina-Gomez C, Sin K, Wood AR, Kjaer TR, et al. Rare and low-frequency coding variants alter human adult height. *Nature*. 2017; 542(7640): 186-190. doi: 10.1038/nature21039

4. Sorkin JD, Muller DC, Andres R. Longitudinal change in height of men and women: Implications for interpretation of the body mass index: The Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am J Epidemiol.* 1999; 150(9): 969-977. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010106
5. Meyer HE, Selmer R. Income, educational level and body height. *Ann Hum Biol.* 1999; 26(3): 219-227. doi: 10.1080/030144699282723
6. Kuh DL, Power C, Rodgers B. Secular trends in social class and sex differences in adult height. *Int J Epidemiol.* 1991; 20(4): 1001-1009. doi: 10.1093/ije/20.4.1001
7. Lopuszanska-Dawid M, Kołodziej H, Lipowicz A, Szklarska A, Bielicki T. Social class-specific secular trends in height among 19-year old Polish men: 6th national surveys from 1965 till 2010. *Econ Hum Biol.* 2020; 37: 100832. doi: 10.1016/j.ehb.2019.100832
8. Klingberg S, Mehli K, Dangol R, Björkelund C, Heitmann BL, Lissner L. Loss of height predicts total and cardiovascular mortality: A cohort study of northern European women. *BMJ Open.* 2021; 11(8): e049122. doi: 10.1136/bmjopen-2021-049122
9. Kalka E, Pastuszak A, Buško K. Secular trends in body height, body weight, BMI and fat percentage in Polish university students in a period of 50 years. *PLoS One.* 2019; 14(8): e0220514. doi: 10.1371/journal.pone.0220514
10. Evans A, Tolonen H, Hense HW, Ferrario M, Sans S, Kuulasmaa K. Trends in coronary risk factors in the WHO MONICA project. *Int J Epidemiol.* 2001; 30(suppl 1): S35-S40. doi: 10.1093/ije/30.suppl_1.s35
11. Harper KN, Armelagos GJ. The changing disease-scape in the third epidemiological transition. *Int J Environ Res Public Health.* 2010; 7(2): 675-697. doi: 10.3390/ijerph7020675
12. Fudvoye J, Parent AS. Secular trends in growth. *Ann Endocrinol.* 2017; 78(2): 88-91. doi: 10.1016/j.ando.2017.04.003
13. Ogden CL, Fryar CD, Carroll MD, Flegal KM. Mean body weight, height, and body mass index, United States 1960–2002. *Adv Data.* 2004; 347: 1-17.
14. Monteiro CA, Conde WL, Popkin BM. Income-specific trends in obesity in Brazil: 1975–2003. *Am J Public Health.* 2007; 97(10): 1808-1812. doi: 10.2105/ajph.2006.099630
15. Nguyen MD, Beresford SA, Drewnowski A. Trends in overweight by socio-economic status in Vietnam: 1992 to 2002. *Public Health Nutr.* 2007; 10(2): 115-121. doi: 10.1017/S1368980007224085
16. Roth J, Qiang X, Marban SL, Redelt H, Lowell BC. The obesity pandemic: Where have we been and where are we going? *Obes Res.* 2004; 12(Suppl 2): 88S-101S. doi: 10.1038/oby.2004.273
17. Prentice AM. The emerging epidemic of obesity in developing countries. *Int J Epidemiol.* 2006; 35(1): 93-99. doi: 10.1093/ije/dyi272
18. Muthuirulan P, Capellini TD. Complex phenotypes: Mechanisms underlying variation in human stature. *Curr Osteoporos Rep.* 2019; 17(5): 301-323. doi: 10.1007/s11914-019-00527-9
19. Simeone P, Alberti S. Epigenetic heredity of human height. *Physiol Rep.* 2014; 2(6): e12046. doi: 10.14814/phy2.12047
20. Henneberg M. Secular trends in body height – indicator of general improvement in living conditions or of a change in specific factors? *Perspectives in human growth, development and maturation.* Berlin. Heidelberg, Germany: Springer Science and Business Media LLC; 2001: 159-167. doi: 10.1007/978-94-015-9801-9_14
21. Snodgrass JJ. Health of indigenous circumpolar populations. *Ann Rev Anthropol.* 2013; 42(1): 69-87. doi: 10.1146/annurev-anthro-092412-155517
22. Herpin N. Love, careers, and heights in France, 2001. *Econ Hum Biol.* 2005; 3(3): 420-449. doi: 10.1016/j.ehb.2005.04.004
23. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической низкорослости у детей и подростков. М.; 2013.
24. Грицинская В.Л., Никитина И.Л. Соматические показатели физического развития школьников г. Санкт-Петербург. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2018; 63(1): 66-70. doi: 10.21508/1027-4065-2018-63-1-66-70
25. Sikora P. Zmiany biomorfotyczne a trend sekularny u człowieka. *Przegl Antropol.* 1976; 42: 47-55.
26. Баранов А.А., Кучма В.Р. (ред.). *Физическое развитие детей и подростков Российской Федерации. Сборник материалов (Выпуск VI).* М.: Педиатръ; 2013.
27. Topcu S, Şimşek Orhon F, Ulukol B, Başkan S. Secular trends in height, weight and body mass index of primary school children in Turkey between 1993 and 2016. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2017; 30(11): 1177-1186. doi: 10.1515/jpem-2017-0189
28. Fan W, Qian Y. Long-term health and socioeconomic consequences of early-life exposure to the 1959–1961 Chinese Famine. *Soc Sci Res.* 2015; 49: 53-69. doi: 10.1016/j.ssresearch.2014.07.007
29. McDowell MA, Fryar CD, Ogden CL. Anthropometric reference data for children and adults: United States, 1988–1994. *Vital Health Stat.* 2009; 249: 1-68.
30. Sun SS, Deng X, Sabo R, Carrico R, Schubert CM, Wan W, et al. Secular trends in body composition for children and young adults: The Fels Longitudinal Study. *Am J Hum Biol.* 2012; 24(4): 506-514. doi: 10.1002/ajhb.22256
31. Блинков С.Н., Башмак А.Ф., Мезенцева В.А., Бородачева С.Е., Бочкарева О.П. Сравнительный анализ показателей физического развития, физической подготовленности и хронической заболеваемости обучающихся 18 лет аграрного ВУЗа в гендерном аспекте. *Учёные записки университета имени П.Ф. Лесгафта.* 2019; 10(176): 31-36.
32. Осипов А.Ю., Приходов Д.С., Воронцов С.В., Шнаркин С.М., Сбродов И.Г. Оценка показателей физической активности студентов, практикующих различные программы физического воспитания. *Учёные записки университета имени П.Ф. Лесгафта.* 2020; 4(182): 329-333. doi: 10.34835/issn.2308-1961.2020.4.p329-333
33. Литовченко О.Г., Иванова Н.Л., Нищетенко Е.Ю. Морфофункциональные показатели молодых работников нефтяной отрасли Ханты-Мансийского автономного округа – Югры. *Human. Sport. Medicine.* 2021; 21(1): 80-85. doi: 10.14529/hsm210110
34. Деревянных Е.В., Яскевич Р.А., Балашова Н.А. Антропометрические особенности и компонентный состав массы тела у мужчин медицинских работников с артериальной гипертонией. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2016; 6-2: 252-256.
35. Шутова Т.Н., Рыбакова Е.О. Изучение состава тела женщин и мужчин разных возрастных периодов в управлении состоянием здоровья. *Учёные записки университета имени П.Ф. Лесгафта.* 2018; 12(166): 299-303.
36. Herpin N. La taille des hommes: Son incidence sur la vie en couple et la carrière professionnelle. *Economie et Statistique.* 2003; 361: 71-90.
37. Garcia J, Quintana-Domeque C. The evolution of adult height in Europe: A brief note. *Econ Hum Biol.* 2007; 5(2): 340-349. doi: 10.1016/j.ehb.2007.02.002

38. Баланова Ю.А., Шальнова С.А., Деев А.Д., Имаева А.Э., Концевая А.В., Муромцева Г.А., и др. Ожирение в российской популяции – распространённость и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний. Российский кардиологический журнал. 2018; 6: 123-130. doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-123-130

REFERENCES

1. Tanner JM. Growth as a mirror of the condition of society: Secular trends and class distinctions. *Human Growth. A Multidisciplinary review*. London; Philadelphia: Taylor & Francis; 1986: 3-34.
2. Stepanova AV, Godina EZ, Khomyakova IA, Zadorozhnyaya LV. Monitoring of growth processes in children and adolescents with tall stature. *Moscow University Anthropology Bulletin*. 2012; 4/2012: 84-97. (In Russ.).
3. Marouli E, Graff M, Medina-Gomez C, Sin K, Wood AR, Kjaer TR, et al. Rare and low-frequency coding variants alter human adult height. *Nature*. 2017; 542(7640): 186-190. doi: 10.1038/nature21039
4. Sorkin JD, Muller DC, Andres R. Longitudinal change in height of men and women: Implications for interpretation of the body mass index: The Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am J Epidemiol*. 1999; 150(9): 969-977. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010106
5. Meyer HE, Selmer R. Income, educational level and body height. *Ann Hum Biol*. 1999; 26(3): 219-227. doi: 10.1080/030144699282723
6. Kuh DL, Power C, Rodgers B. Secular trends in social class and sex differences in adult height. *Int J Epidemiol*. 1991; 20(4): 1001-1009. doi: 10.1093/ije/20.4.1001
7. Lopuszanska-Dawid M, Kołodziej H, Lipowicz A, Szklarska A, Bielicki T. Social class-specific secular trends in height among 19-year old Polish men: 6th national surveys from 1965 till 2010. *Econ Hum Biol*. 2020; 37: 100832. doi: 10.1016/j.ehb.2019.100832
8. Klingberg S, Mehli K, Dangol R, Björkelund C, Heitmann BL, Lissner L. Loss of height predicts total and cardiovascular mortality: A cohort study of northern European women. *BMJ Open*. 2021; 11(8): e049122. doi: 10.1136/bmjopen-2021-049122
9. Kalka E, Pastuszak A, Buśko K. Secular trends in body height, body weight, BMI and fat percentage in Polish university students in a period of 50 years. *PLoS One*. 2019; 14(8): e0220514. doi: 10.1371/journal.pone.0220514
10. Evans A, Tolonen H, Hense HW, Ferrario M, Sans S, Kuulasmaa K. Trends in coronary risk factors in the WHO MONICA project. *Int J Epidemiol*. 2001; 30(suppl 1): S35-S40. doi: 10.1093/ije/30.suppl_1.s35
11. Harper KN, Armelagos GJ. The changing disease-scape in the third epidemiological transition. *Int J Environ Res Public Health*. 2010; 7(2): 675-697. doi: 10.3390/ijerph7020675
12. Fudvoye J, Parent AS. Secular trends in growth. *Ann Endocrinol*. 2017; 78(2): 88-91. doi: 10.1016/j.ando.2017.04.003
13. Ogden CL, Fryar CD, Carroll MD, Flegal KM. Mean body weight, height, and body mass index, United States 1960–2002. *Adv Data*. 2004; 347: 1-17.
14. Monteiro CA, Conde WL, Popkin BM. Income-specific trends in obesity in Brazil: 1975–2003. *Am J Public Health*. 2007; 97(10): 1808-1812. doi: 10.2105/ajph.2006.099630
15. Nguyen MD, Beresford SA, Drewnowski A. Trends in overweight by socio-economic status in Vietnam: 1992 to 2002. *Public Health Nutr*. 2007; 10(2): 115-121. doi: 10.1017/S1368980007224085
16. Roth J, Qiang X, Marban SL, Redelt H, Lowell BC. The obesity pandemic: Where have we been and where are we going? *Obes Res*. 2004; 12(Suppl 2): 88S-101S. doi: 10.1038/oby.2004.273
17. Prentice AM. The emerging epidemic of obesity in developing countries. *Int J Epidemiol*. 2006; 35(1): 93-99. doi: 10.1093/ije/dyi272
18. Muthuirulan P, Capellini TD. Complex phenotypes: Mechanisms underlying variation in human stature. *Curr Osteoporos Rep*. 2019; 17(5): 301-323. doi: 10.1007/s11914-019-00527-9
19. Simeone P, Alberti S. Epigenetic heredity of human height. *Physiol Rep*. 2014; 2(6): e12046. doi: 10.14814/phy2.12047
20. Henneberg M. Secular trends in body height – indicator of general improvement in living conditions or of a change in specific factors? *Perspectives in human growth, development and maturation*. Berlin. Heidelberg, Germany: Springer Science and Business Media LLC; 2001: 159-167. doi: 10.1007/978-94-015-9801-9_14
21. Snodgrass JJ. Health of indigenous circumpolar populations. *Ann Rev Anthropol*. 2013; 42(1): 69-87. doi: 10.1146/annurev-anthro-092412-155517
22. Herpin N. Love, careers, and heights in France, 2001. *Econ Hum Biol*. 2005; 3(3): 420-449. doi: 10.1016/j.ehb.2005.04.004
23. *Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic short stature in children and adolescents*. Moscow; 2013. (In Russ.).
24. Gritsinskaya VL, Nikitina IL. Somatic indicators of the physical development of schoolchildren in St. Petersburg. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2018; 63(1): 66-70. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2018-63-1-66-70
25. Sikora P. Zmiany biomorfotyczne a trend sekularny u człowieka. *Przegl Antropol*. 1976; 42: 47-55.
26. Baranova AA, Kuchma VR (eds). *Physical development of children and adolescents of the Russian Federation. Collection of materials (Issue VI)*. Moscow; 2013. (In Russ.).
27. Topcu S, Şimşek Orhon F, Ulukol B, Başkan S. Secular trends in height, weight and body mass index of primary school children in Turkey between 1993 and 2016. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017; 30(11): 1177-1186. doi: 10.1515/jpem-2017-0189
28. Fan W, Qian Y. Long-term health and socioeconomic consequences of early-life exposure to the 1959–1961 Chinese Famine. *Soc Sci Res*. 2015; 49: 53-69. doi: 10.1016/j.sssresearch.2014.07.007
29. McDowell MA, Fryar CD, Ogden CL. Anthropometric reference data for children and adults: United States, 1988–1994. *Vital Health Stat*. 2009; 249: 1-68.
30. Sun SS, Deng X, Sabo R, Carrico R, Schubert CM, Wan W, et al. Secular trends in body composition for children and young adults: The Fels Longitudinal Study. *Am J Hum Biol*. 2012; 24(4): 506-514. doi: 10.1002/ajhb.22256
31. Blinkov SN, Bashmak AF, Mezentseva VA, Borodacheva SE, Bochkareva OP. Comparative analysis of indicators of physical development, physical fitness and chronic morbidity of 18-year-old students of an agricultural university in the gender aspect. *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta*. 2019; 10(176): 31-36. (In Russ.).
32. Osipov AYu, Prikhodov DS, Vorontsov SV, Shnarkin SM, Sbrodov IG. Evaluation of indicators of physical activity of students practicing various programs of physical education. *Uchenye zapiski*

- universiteta imeni P.F. Lesgafta.* 2020; 4(182): 329-333. (In Russ.). doi: 10.34835/issn.2308-1961.2020.4.p329-333
33. Litovchenko OG, Ivanova NL, Nishchetenko EYu. Morphological and functional parameters of young workers in the oil industry of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Ugra. *Human. Sport. Medicine.* 2021; 21(1): 80-85. (In Russ.). doi: 10.14529/hsm210110
34. Derevyannykh EV, Yaskevich RA, Balashova NA. Anthropometric features and component composition of body weight in male medical workers with arterial hypertension. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2016; 6-2: 252-256. (In Russ.).
35. Shutova TN, Rybakova EO. The study of the body composition of women and men of different age periods in the management of health status. *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta.* 2018; 12(166): 299-303. (In Russ.).
36. Herpin N. La taille des hommes: Son incidence sur la vie en couple et la carrière professionnelle. *Economie et Statistique.* 2003; 361: 71-90.
37. Garcia J, Quintana-Domeque C. The evolution of adult height in Europe: A brief note. *Econ Hum Biol.* 2007; 5(2): 340-349. doi: 10.1016/j.ehb.2007.02.002
38. Balanova YuA, Shalnova SA, Deev AD, Imaeva AE, Kontsevaya AV, Muromtseva GA, et al. Obesity in the Russian population – prevalence and associations with risk factors for chronic noncommunicable diseases. *Russian Journal of Cardiology.* 2018; 23(6): 123-130. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-123-130

Сведения об авторах

Аверьянова Инесса Владиславовна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии экстремальных состояний, ФГБУН Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук, e-mail: Inessa1382@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4511-6782>

Лоскутова Алекса Николаевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии экстремальных состояний, ФГБУН Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук, e-mail: lesa82@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5350-8893>

Карандашева Виктория Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории физиологии экстремальных состояний, ФГБУН Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук, e-mail: Karandasheva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5367-6600>

Information about the authors

Inessa V. Averyanova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory, Leading Research Officer at the Laboratory for Physiology of Extreme States, Scientific Research Center “Arktika”, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: Inessa1382@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4511-6782>

Alesya N. Loskutova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory for Physiology of Extreme States, Scientific Research Center “Arktika”, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: lesa82@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5350-8893>

Victoria O. Karandasheva – Junior Research Officer at the Laboratory for Physiology of Extreme States, Scientific Research Center “Arktika”, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: Karandasheva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5367-6600>

СТОМАТОЛОГИЯ DENTISTRY

МОДИФИЦИРУЕМЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА

РЕЗЮМЕ

Сабирова А.И.

ГОУ ВПО Кыргызско-Российский
Славянский университет
имени первого Президента
Российской Федерации Б.Н. Ельцина
(720065, г. Бишкек, ул. Киевская, 44,
Кыргызская Республика)

Автор, ответственный за переписку:
Сабирова Азиза Ибрагимовна,
e-mail: sabirov_is@mail.ru

В данном обзоре был проведён анализ модифицируемых факторов риска развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта. В обзоре освещены данные взаимосвязи пародонтогенной инфекции, табакокурения, сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, лекарственно-индуцированного повреждения тканей пародонта, стресса и ожирения с риском развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта. Довольно подробно проведён анализ механизмов патогенного влияния микрофлоры полости рта, в том числе и в поддесневом налёте. Описаны механизмы патологического влияния табакокурения на состояние тканей пародонта. Представлены данные влияния пародонтологического лечения на гликемический контроль у пациентов с сахарным диабетом. В статье подчёркивается важность наличия заболеваний пародонта как фактора риска сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний, описываются механизмы взаимного влияния кардиоваскулярной патологии и воспалительного процесса в пародонте. Кроме того, в статье представлены возможности ятрогенного влияния лекарственных препаратов системного действия на состояние тканей пародонта. Представлены данные влияния стрессовых нагрузок на развитие стоматологических заболеваний. В обзорной статье подробно описаны механизмы влияния избыточной массы тела и ожирения на риски развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта. По результатам представленных в статье данных публикаций научных исследований можно констатировать необходимость в работе не только врача-стоматолога, но и врачей других специальностей по изменению модифицируемых факторов риска развития и прогрессирования заболеваний пародонта.

Ключевые слова: заболевания тканей пародонта, модифицируемые факторы риска заболеваний тканей пародонта, пародонтогенные микроорганизмы, табакокурение, сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания, лекарственно-индуцированное повреждение тканей пародонта, стресс, ожирение

Статья получена: 16.03.2022

Статья принята: 16.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Сабирова А.И. Модифицируемые факторы риска развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 182-192. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.19

MODIFIABLE RISK FACTORS FOR THE DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF PERIODONTAL TISSUE DISEASES

ABSTRACT

Sabirova A.I.

Kyrgyz-Russian Slavic University
named after the first President
of the Russian Federation B.N. Yeltsin
(Kievskaya str. 44, Bishkek 720065,
Kyrgyz Republic)

Corresponding author:
Aziza I. Sabirova,
e-mail: sabirov_is@mail.ru

In this review, an analysis of modifiable risk factors for the development and progression of periodontal tissue diseases was carried out. The review highlights the data on the relationship of periodontal infection, tobacco smoking, diabetes mellitus, cardiovascular disease, drug-induced periodontal tissue damage, stress, and obesity with the risk of developing and progression of periodontal tissue diseases. A rather detailed analysis of the mechanisms of pathogenic influence of the microflora of the oral cavity, including in the subgingival plaque, was carried out. The mechanisms of the pathological effect of smoking on the state of periodontal tissues are described. Data on the effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with diabetes mellitus are presented. The article emphasizes the importance of the presence of periodontal diseases as a risk factor for cardiovascular and cerebrovascular diseases, describes the mechanisms of the mutual influence of cardiovascular pathology and the inflammatory process in the periodontium. In addition, the article presents the possibilities of the iatrogenic effect of systemic drugs on the state of periodontal tissues. The data on the influence of stress loads on the development of dental diseases are presented. The review article describes in detail the mechanisms of influence of overweight and obesity on the risks of development and progression of periodontal tissue diseases. Based on the results of the scientific research publications presented in the article, it can be stated that not only the dentist, but also doctors of other specialties need to work to change the modifiable risk factors for the development and progression of periodontal diseases.

Key words: periodontal tissue diseases, modifiable risk factors for periodontal disease, periodontal microorganisms, tobacco smoking, diabetes mellitus, cardiovascular disease, drug-induced periodontal tissue damage, stress, obesity

Received: 16.03.2022

Accepted: 16.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Sabirova A.I. Modifiable risk factors for the development and progression of periodontal tissue diseases. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 182-192. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.19

ВВЕДЕНИЕ

Факторы риска, по определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), представляют собой «какое-либо свойство или особенность человека, или какое-нибудь воздействие на него, повышающие вероятность развития болезни или травмы». С точки зрения разработки мер первичной и вторичной профилактики определённых заболеваний, в том числе и таких социально-значимых, как сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет, формирующиеся годами и трудно диагностируемые в дебюте, именно выявление факторов риска развития и прогрессирования является важнейшей задачей современной медицины. Факторы риска, являясь этиологическим фактором заболевания, подразделяются на модифицируемые (корректируемые), воздействие на которые требует проведения первичной и вторичной профилактики, и немодифицируемые (некорректируемые), воздействие на которые невозможно. Еще в 2008 г. Американская академия пародонтологии сформулировала оценку риска развития заболеваний тканей пародонта как процесс качественного или количественного анализа неблагоприятных факторов, способствующих формированию данной патологии [1]. M. Timmerman и G. van der Weijden отмечают биологическую связь факторов риска с возникновением болезни, а также тот факт, что если пациент обладает фактором риска, может развиться заболевание тканей пародонта [2]. Однако, по мнению К. Гуревич и Е. Фабрикант, заболевания пародонта могут развиваться даже при отсутствии факторов риска [3]. Прямая и значимая связь между факторами риска и развитием пародонтальной патологии представлена и в других научных исследованиях [4–7]. В представленной обзорной статье обсуждаются роль и механизмы воздействия корректируемых факторов риска развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта (ЗТП).

ЗТП с кариесом являются самыми серьёзными угрозами стоматологическому здоровью и основными этиологическими факторами потери зубов. ЗТП традиционно определяется как воспалительное заболевание, поражающее как мягкие, так и твёрдые структуры пародонта [8], которое также характеризуется потерей пародонтальной связки и разрушением окружающей альвеолярной кости [9]. ЗТП представляют собой воспалительные заболевания полости рта, которые могут лимитироваться только десной, как при гингивите, или выходить за десневую ткань, приводя к потере мягких и твёрдых структур, что влияет на устойчивость прикрепления зубов к альвеолярной кости, как это происходит при пародонтите [10]. Гингивит является наиболее распространённой формой пародонтита и встречается во всём мире. По данным J. Albandar и T. Rams, его распространённость и тяжесть менее выражены в промышленно развитых, развитых странах по сравнению с менее развитыми регионами [11]. J. Stamm отмечает, что в возрастном аспекте гингивит реже встречается у детей, чаще встречается у подростков и молодых людей и имеет тенденцию выравниваться во взрослом возрасте [12]. Наличие наддес-

невой биоплёнки тесно связано с наличием гингивита. Существуют несколько модификаторов выраженности гингивита: лекарства, связанные с избыточным ростом, такие как циклоспорин, нифедипин или дилантин; медицинские состояния, такие как диабет и ВИЧ-инфекция; поведенческие факторы, такие как курение, и такие состояния как беременность или менопауза. До недавнего времени преобладающая модель патогенеза заболеваний пародонта указывала на то, что не всегда гингивит перерастает в пародонтит [13]. Однако, по мнению M. Schatzle и соавт., имеются признаки того, что длительное присутствие гингивита связано с повышенной потерей прикрепления [14]. D. Kinane и R. Attstrom считают, что фактически гингивит и пародонтит являются звеньями континуума одного и того же заболевания [15]. Ранняя фаза воспалительного процесса в тканях пародонта, условно определяемая как гингивит, характеризуется умеренным и самокупирующимся воспалением. Если локальное воспаление прогрессирует, заболевание развивается в сторону пародонтита, который ещё в 1999 г. был определён, как микробно-ассоциированное и опосредованное хозяином воспаление, приводящее к потере пародонтального прикрепления [16]. На последующем Всемирном семинаре 2017 г. по классификации пародонтальных и перимплантационных заболеваний и состояний было указано, что диагноз пародонтита должен основываться на клинической потере прикрепления путём периферической констатации с использованием стандартизованных пародонтальных зондов прорезавшегося зубного ряда с эталоном к цементно-эмалевому соединению [17]. M. Tonetti и соавт. подчёркивают, что, если заболевания пародонта прогрессивно развиваются и если их не лечить, формируются местные осложнения, такие как развитие глубоких поражений пародонта, периодонтальная потеря кости и зубов, вплоть до констатации жевательной недостаточности [17]. Недавно была выдвинута гипотеза, что некоторые бактерии, вызывающие пародонтит, могут активно попадать в кровоток из тканей пародонта, дислоцироваться во многих органах и тканях, повышая тем самым риск развития патологий, характеризующихся воспалительно-инфекционным компонентом [18]. К ним обычно относятся различные типы злокачественных новообразований (особенно рак пищеварительного тракта, поджелудочной железы, предстательной железы, молочной железы, матки, лёгких, пищевода и ротовоглотки, а также лимфомы) [19], сердечно-сосудистые заболевания [20], венозная тромбоэмболия [21], сахарный диабет [22], ревматические заболевания [23], болезнь Альцгеймера [24–26], а также деменция [27], которые в совокупности представляют собой наиболее распространённые во всём мире патологии [28]. В представленной обзорной статье представлены современные представления о корректируемых факторах риска заболеваний тканей пародонта, что представляет интерес не только с точки зрения врача-стоматолога, но и общемедицинский. Поиск источников для обзорной статьи осуществлялся в базах данных MEDLINE, PubMed с использованием медицинских тематических заголовков, а также следующих

терминов в различных сочетаниях: «заболевания тканей пародонта», «модифицируемые факторы риска заболеваний тканей пародонта», «пародонтогенные микрорганизмы», «табакокурение», «сахарный диабет», «сердечно-сосудистые заболевания», «лекарственно-индуцированное повреждение тканей пародонта». Источники для обзорной статьи были дополнены ручным поиском в рецензируемых журналах и перекрёстными ссылками на статьи, к которым был получен доступ.

МОДИФИЦИРУЕМЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА

1. Микроорганизмы, вызывающие заболевания тканей пародонта. Данные исследований G. Blandino и соавт. подчёркивают, что смешанные микробные патогенные инфекции, в рамках которых существуют определённые группы бактерий, являются этиологическими факторами развития заболевания пародонта [29]. Бактериальный пазл в полости рта включает более семисот различных филотипов, из которых около четырёхсот видов обнаружены при анализе поддесневого налёта [30]. По данным A. Haffajee и соавт., при пародоните сотни видов бактерий содержатся в поддесневой микрофлоре, причём важным является тот факт, что лишь небольшое их число связано с прогрессированием патологического состояния пародонта. Из углублённых пародонтальных карманов поддесневого налёта авторы преимущественно выделяли грамотрицательные анаэробные палочки и спирохеты [31]. В патогенезе пародонтита взрослых важнейшую роль играют *Porphyromonas gingivalis* [32] и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [33]. В то время как при прогрессировании заболеваний тканей пародонта особое значение придаётся *Bacteroides forsythus* [34], *Prevotella intermedia* [33], *Peptostreptococcus micros* [35] и *Fusobacterium nucleatum* [36].

2. Табакокурение. Важнейшим фактором развития заболеваний тканей пародонта является табакокурение. В настоящее время накоплено большое количество данных о более высоком уровне заболеваний пародонта среди курильщиков [37]. A. Zini и соавт. при проведении перекрёстного исследования двухсот пятидесяти четырёх взрослых в возрасте 35–44 лет в Иерусалиме (ограниченных еврейским населением) с использованием стратифицированной выборки, а также с изучением индекса пародонта сообщества, индекса бляшек и самоуправляемого опросника, обнаружили, что более низкий уровень образования был связан с тяжёлым хроническим периодонтитом ($p = 0,012$), а также с курением ($p = 0,030$) и более высоким уровнем зубного налёта ($p < 0,001$). Курение было связано с более высоким уровнем бляшек ($p < 0,001$), что, в свою очередь, было связано с наличием тяжёлого хронического периодонтита ($p = 0,020$), т. е. табакокурение оказывало существенное деструктивное действие на ткани пародонта и увеличивало скорость прогрессирования заболеваний пародонта [38]. Факторы риска, включая курение табака, модифицируют реакцию хозяина на воздействие бактерий в микробном зубном налёте [39]. Однако, по данным

J. Bergstrom, у лиц с табакокурением и заболеваниями тканей пародонта было обнаружено меньше признаков пародонтита и кровоточивости дёсен по сравнению с некурящими больными [40]. Этот факт, по мнению J. Jensen и соавт., можно объяснить тем, что никотин оказывает местное сосудосуживающее действие, уменьшающее кровоток и отёк, а также другие клинические признаки воспаления [41]. Кроме того, Q. Wang и соавт. было обнаружено, что никотин-ацетилхолиновый receptor имеет важнейшее значение в формировании пародонтита, связанного с никотином [42].

3. Сахарный диабет. К важнейшим корригируемым факторам риска развития и прогрессирования ЗТП относятся нарушения углеводного обмена, в том числе и сахарный диабет. Пациенты с недиагностированным или плохо контролируемым сахарным диабетом 1-го или 2-го типа подвержены более высокому риску ЗТП. Связь между сахарным диабетом и повышенной восприимчивостью к инфекциям полости рта, включая заболевания пародонта продемонстрирована в множестве исследований [43]. M. Seppala и соавт. отмечают, что пародонтит также прогрессирует быстрее у плохо контролируемых диабетиков [43], в том числе и при инсулинозависимом сахарном диабете [44], а H. Torstensson и A. Hugoson подчёркивают, что ранний возраст начала заболевания рассматривается как фактор риска более тяжёлых заболеваний пародонта [45]. И наоборот, по мнению J. Pucher и J. Stewart, большинство пациентов с хорошо контролируемым сахарным диабетом могут поддерживать здоровье пародонта и положительно реагируют на пародонтальную терапию [46]. S. Grossi и R. Genco считают, что несмотря на разногласия по этому вопросу в научной литературе, бесспорным фактом является, что эффект гликемического контроля тесно связан с режимом пародонтальной терапии [47]. Этот факт подтверждается многочисленными исследованиями по изучению влияния пародонтологического лечения на гликемический контроль при сахарном диабете [48]. По мнению C. Negrato и соавт., необходимы дальнейшие проспективные строгие контролируемые исследования с большим числом пациентов в этнически различных популяциях для установления этих взаимосвязей и того, что лечение заболеваний тканей пародонта может положительно влиять на гликемический контроль и, возможно, снизить бремя осложнений, связанных с сахарным диабетом [49].

4. Сердечно-сосудистые заболевания. К корригируемым факторам риска развития и прогрессирования ЗТП относятся также и заболевания сердечно-сосудистой системы. Было предложено несколько биологических механизмов для объяснения взаимосвязи между заболеваниями пародонта и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Было высказано предположение, что заболевания тканей пародонта играют этиологическую или регулирующую роль при сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях, а поражения полости рта являются индикаторами прогрессирования кардиоваскулярной патологии, а полость рта может быть окном, определяющим состояние органов и систем орга-

низма, а также общего здоровья. Заболевания пародонта способны предрасполагать к сосудистой патологии под действием поддесневой микрофлоры и ответной реакции макроорганизма. Следует отметить, что сосудистые заболевания и ЗТП имеют много общих факторов риска, а также схожие механизмы патогенеза [50]. Эпидемиологические и микробиологические исследования J. Stein и соавт. подтвердили концепцию о том, что наличие ЗТП можно считать отдельным фактором риска кардиоваскулярной и цереброваскулярной патологии [51], а также развития преждевременных родов детей с низкой массой тела при рождении [52]. По мнению T. Wu и соавт., ЗТП является независимым фактором риска цереброваскулярных заболеваний, особенно ишемического инсульта [53]. Однако, по данным R. Garcia, а также M. Trevisan и J. Dorn, связь между пародонтом и сердечно-сосудистой патологией не была обнаружена [54–55].

Одним из механизмов, объясняющих роль ЗТП в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, является способность воспалительного феномена пародонта оказывать влияние на системное распространение локально продуцируемых медиаторов, таких как С-реактивные белки (CRP), интерлейкин-1 β (1L-1 β) и интерлейкин-6 (1L-6) и TNF- α [56]. Другой косвенный эффект пародонтальной инфекции, который может объяснить связь между ЗТП и сердечно-сосудистыми заболеваниями, заключается в том, что пародонтальные организмы содержат белки, которые перекрёстно реагируют с сердцем. Так, белок теплового шока-60 (англ. HSP, heat shock protein), который продуцируется *Tannerella forsythia* и *Porphyromonas gingivalis*, имеет примерно 60 % гомологии с HSP млекопитающих. Известно, что антитела к белку теплового шока обнаруживаются у пациентов с пародонтозом. Эти антитела к HSP пародонтальных бактерий обладают перекрёстной реакцией с HSP, которые обнаруживаются в повреждённом эндотелии или атероматозной бляшке. Это может привести в движение аутоиммунные явления и способствовать формированию атеромы. Также могут существовать общие генетические механизмы, которые обеспечивают связь между заболеваниями пародонта и сердечно-сосудистыми заболеваниями [57].

По мнению S. Chaudhry и соавт., сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания являются наиболее часто упоминаемым заболеванием при направлении пациентов стоматологами общей практики в отделения больницы, что отражает широко распространённую озабоченность по поводу потенциальных проблем во время лечения [58]. Такие пациенты требуют особого внимания в отношении того, когда и какое стоматологическое лечение целесообразно, а также какие меры предосторожности необходимы при ведении этого контингента пациентов. Стоматологи могут быть первой линией защиты при обнаружении и направлении пациента с подозрением на сердечно-сосудистое заболевание, не контролируемое заболевание или побочные реакции на пероральные препараты, а также играть ключевую роль в профилактике и лечении заболеваний полости

рта и системных заболеваний в сотрудничестве с пациентом и его врачом.

5. Заболевания тканей пародонта, вызванные лекарственными препаратами. Важнейшим фактором риска развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта являются лекарственные средства. Некоторые лекарственные препараты обладают свойством значительно уменьшать слюноотделение. К таким лекарственным препаратам относятся гипотензивные средства, наркотические анальгетики, некоторые транквилизаторы и седативные средства, антигистаминные препараты и антиметаболиты. Другие препараты, особенно в жидкой или жевательной форме, содержащие добавленный сахар, изменяют pH и состав зубного налёта, делая его более способным прилипать к поверхности зубов [59]. Вызывать разрастание дёсен могут противосудорожные препараты, антагонисты кальция и иммунодепрессивный полипептид – циклоспорин [60]. Поэтому, по мнению T. Rees и R. Levine, если пациенты принимают много системных препаратов необходимо помнить о потенциальном влиянии лекарственных средств на состояние их пародонта, а сами стоматологи должны быть в состоянии диагностировать и лечить эти проблемы и, при необходимости, обсуждать возможные альтернативные медикаментозные методы лечения с коллегами-врачами [60].

6. Стесс. Одним из факторов, влияющих на рост числа инфекционных заболеваний, в том числе и заболеваний пародонта, является высокий уровень психоэмоциональной напряжённости. Стессорные состояния оказывают иммунодепрессивный эффект, что в свою очередь отрицательно отражается на антимикробной защите полости рта и пародонтологическом статусе. Пациенты с наличием неадекватного стресса подвергаются большему риску развития тяжёлых заболеваний пародонта [61]. Стесс связан с плохой гигиеной полости рта, повышенной секрецией глюкокортикоидов, которая может подавлять иммунную функцию, повышать инсулинорезистентность и потенциально повышать риск развития и прогрессирования ЗТП [62]. По данным исследования A. Merchant и соавт. было выявлено, что мужчины, испытывающие гнев каждый день, имели на 43 % более высокий риск развития ЗТП по сравнению с редко гневающимися лицами [62]. По данным исследования W. Marcenes и A. Sheiham было показано, что потеря зубов и кровоточивость дёсен имеют прямую связь со стрессом на работе [63]. По данным исследования M. Moss и соавт., патология тканей пародонта связана также и с финансовыми трудностями [64]. Однако исследований по изучению роли стрессового фактора в развитии ЗТП недостаточно, что требует дальнейших научных изысканий в этой области.

7. Ожирение. По данным D. Nguyen и H. El-Serag, эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что четверть жителей планеты страдают избыточной массой тела или ожирением [65]. Причём эпидемический характер увеличения количества лиц с ожирением отмечается как среди взрослых, так и детей. К 2025 г. D. Nguyen и H. El-Serag прогнозируют, что 40 % мужчин

и 50 % женщин будут иметь ожирение [65]. В исследовательских работах J. Suvan и соавт. была обнаружена ассоциация между избыточной массой тела или ожирением с наличием ЗТП у взрослых [66]. В метаанализе, проведённом B.W. Chaffee и S.J. Weston, была обнаружена корреляция между хронической периодонтальной патологией и ожирением как важнейшим фактором риска развития и прогрессирования ЗТП [67]. В дальнейшем R. Neiva и соавт. предложили ряд объяснений наличия прямой связи между ожирением и ЗТП с учётом возраста обследуемых [68]. Так, во-первых, у лиц молодого возраста, в отличие от обследуемых более старшего возраста, определялся несколько иной режим питания. У подростков в возрасте от 11 до 18 лет выявилось значительное снижение потребления сырых фруктов и овощей, которые являются источниками витамина С. Авторы отмечают, что подростки уменьшили потребление продуктов богатых кальцием, однако выявляется увеличение использования в рационе безалкогольных напитков и нецитрусовых соков. Этот факт низкого потребления с пищей кальция и витамина С имеет важнейшее значение для состояния здоровья тканей пародонта [69]. Так как жировая ткань является источником секреции провоспалительных цитокинов, по мнению D. Toprak и соавт., наличие ожирения следует рассматривать как состояние субклинического воспаления низкой интенсивности [70]. При исследовании индийской популяции P. Jeemon и соавт. обнаружили тесную взаимосвязь между ожирением и воспалительной реакцией при увеличении концентрации в плазме крови острофазового маркера системного воспаления – CRP [71]. Схожие результаты при обследовании лиц с тяжёлой степенью ожирения были обнаружены G. Faucher и соавт. [72]. После исключения сопутствующих факторов, влияющих на продукцию CRP, D. Weatherall и соавт. обнаружили взаимосвязь между индексом массы тела и окружностью талии, и уровнем CRP, особенно у женщин [73]. В дальнейшем T. Saito и соавт. подтвердили эти данные; кроме того, исследователи констатировали факт более значимой корреляции между накоплением висцерального жира и концентрацией CRP, чем накоплением в подкожно-жировой клетчатке [74].

При изучении лептина в тканях десны и содержания лептиновых рецепторов Z. Ay и соавт. констатировали тот факт, что важнейшим фактором при системном воспалении является адипокиновый пептидный гормон – лептин, регулирующий энергетический обмен [75]. T. Saito и соавт. при изучении японских мужчин с потерей альвеолярной кости определили, что лептин, помимо воздействия на регулирование массы тела, метаболизм и функцию воспроизведения, может влиять на развитие воспалительных заболеваний, воздействуя на врождённый и приобретённый иммунный ответ [74]. R. Johnson и F. Serio, изучая здоровые и воспалённые десны, обнаружили, что количество лептина уменьшалось в зависимости от степени воспаления и глубины распространения воспалительного процесса, что позволяет сделать вывод, что ткани пародонта могут быть дополнительно с адипоцитами источником этого пептида [76]. В другом

исследовании B. Karthikeyan и A. Pradeep был выявлен факт прямой зависимости между увеличением воспалительного разрушения тканей пародонта и содержанием лептина в десневой жидкости зубодесневой борозды, причём концентрация этого воспалительного пептида имеет прямую корреляцию со степенью тяжести ЗТП [77].

Весьма интересными являются результаты исследования Л.А. Ермоловой и соавт., когда были исследованы 102 больных с ожирением. Авторы изучали пародонтологический статус и состояние микроциркуляции тканей пародонта и костной ткани челюстных костей. В исследовании использовались современные методы определения кровотока в тканях пародонта и плотности челюстных костей. Авторы выявили обратную корреляционную связь между показателями индекса массы тела и линейной sistолической скоростью кровотока ($r = -0,6754$; $p < 0,001$). Кроме того, была обнаружена обратная корреляционная связь между показателями индекса массы тела и плотностью костной ткани ($r = -0,61$; $p < 0,001$) [78].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзорной статье литературные данные свидетельствуют о том, что ЗТП имеет несколько поддающихся изменению факторов риска, общих с некоторыми неинфекционными хроническими заболеваниями, и, следовательно, для предотвращения заболевания пародонта можно использовать подход, основанный на общих факторах риска. Только целостный и системный подход к выявлению пациентов с высоким риском и рекомендации не только врача-стоматолога, но и врачей других специальностей по изменению модифицируемых факторов риска развития и прогрессирования заболеваний пародонта позволят достичь общую цель профилактики и лечения заболеваний тканей пародонта.

Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. American Academy of Periodontology. American Academy of Periodontology statement on risk assessment. *J Periodontol.* 2008; 79(2): 202. doi: 10.1902/jop.2008.082001
2. Timmerman MF, van der Weijden GA. Risk factors for periodontitis. *Int J Dent Hyg.* 2006; 4(1): 2-7. doi: 10.1111/j.1601-5037.2006.00168.x
3. Гуревич К.Г., Фабрикант Е.Г. Укрепление здоровья. М.: Профессионал; 2010.
4. Колесникова Л.Р. Артериальная гипертензия и стоматологическое здоровье у детей и подростков (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica.* 2015; (3): 94-99.
5. Al-Taweel FB, Abdulkareem AA, Abdulbaqi HR. Association of modifiable and non-modifiable risk factors with periodontal

- disease in Iraqi individuals: A retrospective study. *J Stoma*. 2019; 72(4): 222-227. doi: 10.5114/jos.2019.93298
6. Kim YT, Choi JK, Kim DH, Jeong SN, Lee JH. Association between health status and tooth loss in Korean adults: Longitudinal results from the National Health Insurance Service-Health Examinee Cohort 2002-2015. *J Periodontal Implant Sci*. 2019; 49(3): 158-170. doi: 10.5051/jpis.2019.49.3.158
 7. Wellapuli N, Ekanayake L. Risk factors for chronic periodontitis in Sri Lankan adults: A population based case-control study. *BMC Res Notes*. 2017; 10(1): 460. doi: 10.1186/s13104-017-2778-3
 8. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Domisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018; 89(1): 74-84. doi: 10.1002/JPER.17-0719
 9. Cui X, Monacelli E, Killeen AC, Samson K, Reinhardt RA. Impact of modifiable risk factors on bone loss during periodontal maintenance. *Oper Dent*. 2019; 44(3): 254-261. doi: 10.2341/18-041-C
 10. CDC. *Periodontal disease*. 2015. URL: https://www.cdc.gov/oralhealth/periodontal_disease [date of access: 26.01.2022].
 11. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: An overview. *Periodontol 2000*. 2002; 29: 7-10. doi: 10.1034/j.1600-0757.2002.290101.x
 12. Stamm JW. Epidemiology of gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1986; 13(5): 360-366. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01473.x
 13. Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, Haffajee A, Socransky SS. Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol*. 1989; 16(10): 662-670. doi: 10.1111/j.1600-051x.1989.tb01037.x
 14. Schätzle M, Löe H, Bürgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(10): 887-901. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.00414.x
 15. Kinane DF, Attström R. European Workshop in Periodontology group B. Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(6): 130-131. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00823.x
 16. 1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30 – November 2, 1999. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): i, 1-112. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.i
 17. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018; 89(1): S159-S172. doi: 10.1002/JPER.18-0006
 18. Nocini R, Lippi G, Mattiuzzi C. Periodontal disease: The portrait of an epidemic. *J Public Health Emerg*. 2020; 4: 10. doi: 10.21037/jphe.2020.03.01
 19. Corbella S, Veronesi P, Galimberti V, Weinstein R, Del Fabbro M, Francetti L. Is periodontitis a risk indicator for cancer? A meta-analysis. *PLoS One*. 2018; 13(4): e0195683. doi: 10.1371/journal.pone.0195683
 20. Carrizales-Sepúlveda EF, Ordaz-Farías A, Vera-Pineda R, Flores-Ramírez R. Periodontal disease, systemic inflammation and the risk of cardiovascular disease. *Heart Lung Circ*. 2018; 27(11): 1327-1334. doi: 10.1016/j.hlc.2018.05.102
 21. Cowan LT, Lakshminarayan K, Lutsey PL, Folsom AR, Beck J, Offenbacher S, et al. Periodontal disease and incident venous thromboembolism: The atherosclerosis risk in communities study. *J Clin Periodontol*. 2019; 46(1): 12-19. doi: 10.1111/jcpe.13029
 22. Badiger AB, Gowda TM, Chandra K, Mehta DS. Bilateral interrelationship of diabetes and periodontium. *Curr Diabetes Rev*. 2019; 15(5): 357-362. doi: 10.2174/1573399815666190115144534
 23. Bingham CO 3rd, Moni M. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: The evidence accumulates for complex pathobiologic interactions. *Curr Opin Rheumatol*. 2013; 25(3): 345-353. doi: 10.1097/BOR.0b013e32835fb8ec
 24. Maurer K, Rahming S, Prvulovic D. Dental health in advanced age and Alzheimer's disease: A possible link with bacterial toxins entering the brain? *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2018; 282: 132-133. doi: 10.1016/j.pscychresns.2018.06.009
 25. Kim DH, Jeong SN, Lee JH. Severe periodontitis with tooth loss as a modifiable risk factor for the development of Alzheimer, vascular, and mixed dementia: National Health Insurance Service-National Health Screening Retrospective Cohort 2002-2015. *J Periodontal Implant Sci*. 2020; 50(5): 303-312. doi: 10.5051/jpis.2000600030
 26. Choi S, Kim K, Chang J, Kim SM, Kim SJ, Cho HJ, et al. Association of chronic periodontitis on Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Am Geriatr Soc*. 2019; 67(6): 1234-1239. doi: 10.1111/jgs.15828
 27. Dioguardi M, Gioia GD, Caloro GA, Capocasale G, Zhurakivska K, Troiano G, et al. The association between tooth loss and Alzheimer's disease: a systematic review with meta-analysis of case control studies. *Dent J (Basel)*. 2019; 7(2): 49. doi: 10.3390/dj7020049
 28. Mattiuzzi C, Lippi G. Worldwide disease epidemiology in the older persons. *Eur Geriatr Med*. 2020; 11(1): 147-153. doi: 10.1007/s41999-019-00265-2
 29. Blandino G, Milazzo I, Fazio D, Puglisi S, Pisano M, Speciale A, et al. Antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production of anaerobic and aerobic bacteria isolated from pus specimens from orofacial infections. *J Chemother*. 2007; 19(5): 495-499. doi: 10.1179/joc.2007.19.5.495
 30. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000*. 2006; 42: 80-87. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00174.x
 31. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1994; 5: 78-111. doi: 10.1111/j.1600-0757.1994.tb00020.x
 32. Kou Y, Inaba H, Kato T, Tagashira M, Honma D, Kanda T, et al. Inflammatory responses of gingival epithelial cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis* vesicles are inhibited by hop-associated polyphenols. *J Periodontol*. 2008; 79(1): 174-180. doi: 10.1902/jop.2008.070364
 33. Lovegrove JM. Dental plaque revisited: Bacteria associated with periodontal disease. *J NZ Soc Periodontol*. 2004; (87): 7-21.
 34. Huang DM, Ling JQ, Fu CH, Luo HX, Zhou XD. Colonization relationship between *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in the infected root canals with chronic apical periodontitis. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2005; 14(5): 531-535. (in Chinese).
 35. Tanabe S, Bodet C, Grenier D. *Peptostreptococcus micros* cell wall elicits a pro-inflammatory response in human macrophages. *J Endotoxin Res*. 2007; 13(4): 219-226. doi: 10.1177/0968051907081869

36. Saito Y, Fujii R, Nakagawa KI, Kuramitsu HK, Okuda K, Ishihara K. Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23(1): 1-6. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00380.x
37. Kubota M, Tanno-Nakanishi M, Yamada S, Okuda K, Ishihara K. Effect of smoking on subgingival microflora of patients with periodontitis in Japan. *BMC Oral Health*. 2011; 11: 1. doi: 10.1186/1472-6831-11-1
38. Zini A, Sgan-Cohen HD, Marques W. Socio-economic position, smoking, and plaque: A pathway to severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(3): 229-235. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01689.x
39. Shchipkova AY, Nagaraja HN, Kumar PS. Subgingival microbial profiles of smokers with periodontitis. *J Dent Res*. 2010; 89(11): 1247-1253. doi: 10.1177/0022034510377203
40. Bergström J. Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers. *Scand J Dent Res*. 1990; 98(6): 497-503. doi: 10.1111/j.1600-0722.1990.tb01004.x
41. Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg*. 1991; 126(9): 1131-1134. doi: 10.1001/archsurg.1991.01410330093013
42. Wang QY, Cai C, Duan YZ, Wang XJ. Nicotinic acetylcholine receptor but not acetylcholinesterase plays an important role in nicotine-related periodontitis. *Med Hypotheses*. 2010; 74(5): 954-955. doi: 10.1016/j.mehy.2009.12.013
43. Stegeman CA. Oral manifestations of diabetes. *Home Healthc Nurse*. 2005; 23(4): 233-240. doi: 10.1097/00004045-200504000-00009
44. Seppälä B, Seppälä M, Ainamo J. A longitudinal study on insulin-dependent diabetes mellitus and periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1993; 20(3): 161-165. doi: 10.1111/j.1600-051X.1993.tb00338.x
45. Thorstensson H, Hugoson A. Periodontal disease experience in adult long-duration insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol*. 1993; 20(5): 352-358. doi: 10.1111/j.1600-051X.1993.tb00372.x
46. Pucher J, Stewart J. Periodontal disease and diabetes mellitus. *Curr Diab Rep*. 2004; 4(1): 46-50. doi: 10.1007/s11892-004-0011-y
47. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998; 3(1): 51-61. doi: 10.1902/annals.1998.3.1.51
48. Perrino MA. Diabetes and periodontal disease: An example of an oral/systemic relationship. *N Y State Dent J*. 2007; 73(5): 38-41.
49. Negrato CA, Tarzia O, Jovanović L, Chinellato LE. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci*. 2013; 21(1): 1-12. doi: 10.1590/1678-7757201302106
50. Kinane DF, Lowe GD. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. *Periodontol 2000*. 2000; 23: 121-126. doi: 10.1034/j.1600-0757.2000.2230112.x
51. Stein JM, Smeets R, Reichert S, Chrobot J, Fickl S, Stanzel S, et al. The role of the composite interleukin-1 genotype in the association between periodontitis and acute myocardial infarction. *J Periodontol*. 2009; 80(7): 1095-1102. doi: 10.1902/jop.2009.080639
52. Geiss LS, Herman WH, Goldschmid MG, DeStefano F, Eberhardt MS, Ford ES, et al. Surveillance for diabetes mellitus – United States, 1980–1989. *MMWR CDC Surveill Summ*. 1993; 42(2): 1-20.
53. Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Dorn JP, Falkner KL, Sempore CT. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: The first national health and nutrition examination survey and its follow-up study. *Arch Intern Med*. 2000; 160(18): 2749-2755. doi: 10.1001/archinte.160.18.2749
54. Garcia RI. No association between ischemic heart disease and periodontitis in women. *Evid Based Dent*. 2010; 11(1): 20-21. doi: 10.1038/sj.ebd.6400706
55. Trevisan M, Dorn J. The relationship between periodontal disease (pd) and cardiovascular disease (cvd). *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2010; 2(3): e2010030. doi: 10.4084/MJHID.2010.030
56. Saini R, Saini S, Saini SR. Periodontal diseases: A risk factor to cardiovascular disease. *Ann Card Anaesth*. 2010; 13(2): 159-161. doi: 10.4103/0971-9784.62936
57. Rose LF, Genco RJ, Cohen DW, Mealey BL. *Periodontal Medicine*. Hamilton: B.C. Decker Inc; 2000.
58. Chaudhry S, Jaiswal R, Sachdeva S. Dental considerations in cardiovascular patients: A practical perspective. *Indian Heart J*. 2016; 68(4): 572-575. doi: 10.1016/j.ihj.2015.11.034
59. Cohen DW. Periodontal medicine in the next millennium. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000; 20(1): 6-7.
60. Rees TD, Levine RA. Systematic drugs as a risk factor for periodontal disease initiation and progression. *Compendium*. 1995; 16(1): 20-26.
61. Dolic M, Bailer J, Staehle HJ, Eickholz P. Psychosocial factors as risk indicators of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(11): 1134-1140. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00838.x
62. Merchant AT, Pitiphat W, Ahmed B, Kawachi I, Joshipura K. A prospective study of social support, anger expression and risk of periodontitis in men. *J Am Dent Assoc*. 2003; 134(12): 1591-1596. doi: 10.14219/jada.archive.2003.0104
63. Marques WS, Sheiham A. The relationship between work stress and oral health status. *Soc Sci Med*. 1992; 35(12): 1511-1520. doi: 10.1016/0277-9536(92)90054-t
64. Moss ME, Beck JD, Kaplan BH, Offenbacher S, Weintraub JA, Koch GG, et al. Exploratory case-control analysis of psychosocial factors and adult periodontitis. *J Periodontol*. 1996; 67(10): 1060-1069. doi: 10.1902/jop.1996.67.10s.1060
65. Nguyen DM, El-Serag HB. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am*. 2010; 39(1): 1-7. doi: 10.1016/j.gtc.2009.12.014
66. Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev*. 2011; 12(5): e381-e404. doi: 10.1111/j.1467-789X.2010.00808.x
67. Chaffee BW, Weston SJ. Association between chronic periodontal disease and obesity: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2010; 81(12): 1708-1724. doi: 10.1902/jop.2010.100321
68. Dalla Vecchia CF, Susin C, Rösing CK, Oppermann RV, Albandar JM. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *J Periodontol*. 2005; 76(10): 1721-1728. doi: 10.1902/jop.2005.76.10.1721
69. Neiva RF, Steigenga J, Al-Shammary KF, Wang HL. Effects of specific nutrients on periodontal disease onset, progression and treatment. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(7): 579-589. doi: 10.1034/j.1600-051X.2003.00354.x
70. Toprak D, Toprak A, Chen W, Xu JH, Srinivasan S, Berenson GS. Adiposity in childhood is related to C-reactive protein and adiponectin in young adulthood: From the Bogalusa Heart Study. *Obesity (Silver Spring)*. 2011; 19(1): 185-190. doi: 10.1038/oby.2010.75

71. Jeemon P, Prabhakaran D, Ramakrishnan L, Gupta R, Ahmed F, Thankappan K, et al. Association of high sensitive C-reactive protein (hsCRP) with established cardiovascular risk factors in the Indian population. *Nutr Metab (Lond)*. 2011; 8(1): 19. doi: 10.1186/1743-7075-8-19
72. Faucher G, Guénard F, Bouchard L, Garneau V, Turcot V, Houde A, et al. Genetic contribution to C-reactive protein levels in severe obesity. *Mol Genet Metab*. 2012; 105(3): 494-501. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.11.198
73. Weatherall DJ, Ledingham JG, Warrell DA. The acute phase response and C-reactive protein. In: *Oxford textbook of Medicine*. 3rd edition. New York, Oxford; 1996: 1527-1533.
74. Saito T, Murakami M, Shimazaki Y, Oobayashi K, Matsumoto S, Koga T. Association between alveolar bone loss and elevated serum C-reactive protein in Japanese men. *J Periodontol*. 2003; 74(12): 1741-1746. doi: 10.1902/jop.2003.74.12.1741
75. Ay ZY, Kırzioğlu FY, Tonguç MO, Sütçü R, Kapucuoğlu N. The gingiva contains leptin and leptin receptor in health and disease. *Odontology*. 2012; 100(2): 222-231. doi: 10.1007/s10266-011-0043-0
76. Johnson RB, Serio FG. Leptin within healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol*. 2001; 72(9): 1254-1257. doi: 10.1902/jop.2000.72.9.1254
77. Karthikeyan BV, Pradeep AR. Leptin levels in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Periodontal Res*. 2007; 42(4): 300-304. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00948.x
78. Ермолова Л.А., Севбитов А.В., Пеньковой Е.А., Шишкун А.Н., Шевелева Н.А., Шевелева М.А. и др. Этиопатогенетические механизмы развития воспалительных заболеваний пародонта у больных с ожирением. *Вестник СПбГУ. Медицина*. 2017; 12(4): 385-395. doi: 10.21638/11701/spbu11.2017.407

REFERENCES

1. American Academy of Periodontology. American Academy of Periodontology statement on risk assessment. *J Periodontol*. 2008; 79(2): 202. doi: 10.1902/jop.2008.082001
2. Timmerman MF, van der Weijden GA. Risk factors for periodontitis. *Int J Dent Hyg*. 2006; 4(1): 2-7. doi: 10.1111/j.1601-5037.2006.00168.x
3. Gurevich KG, Fabrikant EG. *Health promotion*. Moscow: Professional, 2010. (In Russ.).
4. Kolesnikova LR. Arterial hypertension and dental health in children and adolescents (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2015; (3): 94-99. (In Russ.).
5. Al-Taweel FB, Abdulkareem AA, Abdulbaqi HR. Association of modifiable and non-modifiable risk factors with periodontal disease in Iraqi individuals: A retrospective study. *J Stoma*. 2019; 72(4): 222-227. doi: 10.5114/jos.2019.93298
6. Kim YT, Choi JK, Kim DH, Jeong SN, Lee JH. Association between health status and tooth loss in Korean adults: Longitudinal results from the National Health Insurance Service-Health Examinee Cohort 2002-2015. *J Periodontal Implant Sci*. 2019; 49(3): 158-170. doi: 10.5051/jpis.2019.49.3.158
7. Wellapuli N, Ekanayake L. Risk factors for chronic periodontitis in Sri Lankan adults: A population based case-control study. *BMC Res Notes*. 2017; 10(1): 460. doi: 10.1186/s13104-017-2778-3
8. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Domisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018; 89(1): 74-84. doi: 10.1002/JPER.17-0719
9. Cui X, Monacelli E, Killeen AC, Samson K, Reinhardt RA. Impact of modifiable risk factors on bone loss during periodontal maintenance. *Oper Dent*. 2019; 44(3): 254-261. doi: 10.2341/18-041-C
10. CDC. *Periodontal Disease*. 2015; URL: https://www.cdc.gov/oralhealth/periodontal_disease/ [date of access: 26.01.2022].
11. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: An overview. *Periodontol 2000*. 2002; 29: 7-10. doi: 10.1034/j.1600-0757.2002.290101.x
12. Stamm JW. Epidemiology of gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1986; 13(5): 360-366. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01473.x
13. Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, Haffajee A, Socransky SS. Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol*. 1989; 16(10): 662-670. doi: 10.1111/j.1600-051x.1989.tb01037.x
14. Schätzle M, Löe H, Bürgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(10): 887-901. doi: 10.1034/j.1600-051x.2003.00414.x
15. Kinane DF, Attström R. European Workshop in Periodontology group B. Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(6): 130-131. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00823.x
16. 1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30 – November 2, 1999. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): i, 1-112. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.i
17. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018; 89(1): S159-S172. doi: 10.1002/JPER.18-0006
18. Nocini R, Lippi G, Mattiuzzi C. Periodontal disease: The portrait of an epidemic. *J Public Health Emerg*. 2020; 4: 10. doi: 10.21037/jphe.2020.03.01
19. Corbella S, Veronesi P, Galimberti V, Weinstein R, Del Fabbro M, Francetti L. Is periodontitis a risk indicator for cancer? A meta-analysis. *PLoS One*. 2018; 13(4): e0195683. doi: 10.1371/journal.pone.0195683
20. Carrizales-Sepúlveda EF, Ordaz-Farías A, Vera-Pineda R, Flores-Ramírez R. Periodontal disease, systemic inflammation and the risk of cardiovascular disease. *Heart Lung Circ*. 2018; 27(11): 1327-1334. doi: 10.1016/j.hlc.2018.05.102
21. Cowan LT, Lakshminarayan K, Lutsey PL, Folsom AR, Beck J, Offenbacher S, et al. Periodontal disease and incident venous thromboembolism: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *J Clin Periodontol*. 2019; 46(1): 12-19. doi: 10.1111/jcpe.13029
22. Badiger AB, Gowda TM, Chandra K, Mehta DS. Bilateral interrelationship of diabetes and periodontium. *Curr Diabetes Rev*. 2019; 15(5): 357-362. doi: 10.2174/1573399815666190115144534
23. Bingham CO 3rd, Moni M. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: The evidence accumulates for complex pathobiologic interactions. *Curr Opin Rheumatol*. 2013; 25(3): 345-353. doi: 10.1097/BOR.0b013e32835fb8ec
24. Maurer K, Rahming S, Prvulovic D. Dental health in advanced age and Alzheimer's disease: A possible link with bacterial

- toxins entering the brain? *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2018; 282: 132-133. doi: 10.1016/j.psychresns.2018.06.009
25. Kim DH, Jeong SN, Lee JH. Severe periodontitis with tooth loss as a modifiable risk factor for the development of Alzheimer, vascular, and mixed dementia: National Health Insurance Service-National Health Screening Retrospective Cohort 2002–2015. *J Periodontal Implant Sci.* 2020; 50(5): 303-312. doi: 10.5051/jpis.2000600030
26. Choi S, Kim K, Chang J, Kim SM, Kim SJ, Cho HJ, et al. Association of chronic periodontitis on Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Am Geriatr Soc.* 2019; 67(6): 1234-1239. doi: 10.1111/jgs.15828
27. Dioguardi M, Gioia GD, Caloro GA, Capocasale G, Zhuravskaya K, Troiano G, et al. The association between tooth loss and Alzheimer's disease: a systematic review with meta-analysis of case control studies. *Dent J (Basel)*. 2019; 7(2): 49. doi: 10.3390/dj7020049
28. Mattiuzzi C, Lippi G. Worldwide disease epidemiology in the older persons. *Eur Geriatr Med.* 2020; 11(1): 147-153. doi: 10.1007/s41999-019-00265-2
29. Blandino G, Milazzo I, Fazio D, Puglisi S, Pisano M, Speciale A, et al. Antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production of anaerobic and aerobic bacteria isolated from pus specimens from orofacial infections. *J Chemother.* 2007; 19(5): 495-499. doi: 10.1179/joc.2007.19.5.495
30. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000*. 2006; 42: 80-87. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00174.x
31. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1994; 5: 78-111. doi: 10.1111/j.1600-0757.1994.tb00020.x
32. Kou Y, Inaba H, Kato T, Tagashira M, Honma D, Kanda T, et al. Inflammatory responses of gingival epithelial cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis* vesicles are inhibited by hop-associated polyphenols. *J Periodontol.* 2008; 79(1): 174-180. doi: 10.1902/jop.2008.070364
33. Lovegrove JM. Dental plaque revisited: Bacteria associated with periodontal disease. *J NZ Soc Periodontol.* 2004; (87): 7-21.
34. Huang DM, Ling JQ, Fu CH, Luo HX, Zhou XD. Colonization relationship between *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in the infected root canals with chronic apical periodontitis. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2005; 14(5): 531-535. (in Chinese).
35. Tanabe S, Bodet C, Grenier D. *Peptostreptococcus micros* cell wall elicits a pro-inflammatory response in human macrophages. *J Endotoxin Res.* 2007; 13(4): 219-226. doi: 10.1177/0968051907081869
36. Saito Y, Fujii R, Nakagawa KI, Kuramitsu HK, Okuda K, Ishihara K. Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 2008; 23(1): 1-6. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00380.x
37. Kubota M, Tanno-Nakanishi M, Yamada S, Okuda K, Ishihara K. Effect of smoking on subgingival microflora of patients with periodontitis in Japan. *BMC Oral Health.* 2011; 11: 1. doi: 10.1186/1472-6831-11-1
38. Zini A, Sgan-Cohen HD, Marques W. Socio-economic position, smoking, and plaque: A pathway to severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011; 38(3): 229-235. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01689.x
39. Shchipkova AY, Nagaraja HN, Kumar PS. Subgingival microbial profiles of smokers with periodontitis. *J Dent Res.* 2010; 89(11): 1247-1253. doi: 10.1177/0022034510377203
40. Bergström J. Oral hygiene compliance and gingivitis expression in cigarette smokers. *Scand J Dent Res.* 1990; 98(6): 497-503. doi: 10.1111/j.1600-0722.1990.tb01004.x
41. Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg.* 1991; 126(9): 1131-1134. doi: 10.1001/archsurg.1991.01410330093013
42. Wang QY, Cai C, Duan YZ, Wang XJ. Nicotinic acetylcholine receptor but not acetylcholinesterase plays an important role in nicotine-related periodontitis. *Med Hypotheses.* 2010; 74(5): 954-955. doi: 10.1016/j.mehy.2009.12.013
43. Stegeman CA. Oral manifestations of diabetes. *Home Healthc Nurse.* 2005; 23(4): 233-240. doi: 10.1097/00004045-200504000-00009
44. Seppälä B, Seppälä M, Ainamo J. A longitudinal study on insulin-dependent diabetes mellitus and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1993; 20(3): 161-165. doi: 10.1111/j.1600-051x.1993.tb00338.x
45. Thorstensson H, Hugoson A. Periodontal disease experience in adult long-duration insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol.* 1993; 20(5): 352-358. doi: 10.1111/j.1600-051x.1993.tb00372.x
46. Pucher J, Stewart J. Periodontal disease and diabetes mellitus. *Curr Diab Rep.* 2004; 4(1): 46-50. doi: 10.1007/s11892-004-0011-y
47. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann Periodontol.* 1998; 3(1): 51-61. doi: 10.1902/annals.1998.3.1.51
48. Perrino MA. Diabetes and periodontal disease: An example of an oral/systemic relationship. *NY State Dent J.* 2007; 73(5): 38-41.
49. Negrato CA, Tarzia O, Jovanović L, Chinellato LE. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21(1): 1-12. doi: 10.1590/1678-7757201302106
50. Kinane DF, Lowe GD. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. *Periodontol 2000.* 2000; 23: 121-126. doi: 10.1034/j.1600-0757.2000.2230112.x
51. Stein JM, Smeets R, Reichert S, Chrobot J, Fickl S, Stanzel S, et al. The role of the composite interleukin-1 genotype in the association between periodontitis and acute myocardial infarction. *J Periodontol.* 2009; 80(7): 1095-1102. doi: 10.1902/jop.2009.080639
52. Geiss LS, Herman WH, Goldschmid MG, DeStefano F, Eberhardt MS, Ford ES, et al. Surveillance for diabetes mellitus – United States, 1980–1989. *MMWR CDC Surveill Summ.* 1993; 42(2): 1-20.
53. Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Dorn JP, Falkner KL, Sempore CT. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: The first national health and nutrition examination survey and its follow-up study. *Arch Intern Med.* 2000; 160(18): 2749-2755. doi: 10.1001/archinte.160.18.2749
54. Garcia RI. No association between ischemic heart disease and periodontitis in women. *Evid Based Dent.* 2010; 11(1): 20-21. doi: 10.1038/sj.ebd.6400706
55. Trevisan M, Dorn J. The relationship between periodontal disease (pd) and cardiovascular disease (cvd). *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2010; 2(3): e2010030. doi: 10.4084/MJHID.2010.030
56. Saini R, Saini S, Saini SR. Periodontal diseases: A risk factor to cardiovascular disease. *Ann Card Anaesth.* 2010; 13(2): 159-161. doi: 10.4103/0971-9784.62936

57. Rose LF, Genco RJ, Cohen DW, Mealey BL. *Periodontal Medicine*. Hamilton: B.C. Decker Inc; 2000.
58. Chaudhry S, Jaiswal R, Sachdeva S. Dental considerations in cardiovascular patients: A practical perspective. *Indian Heart J*. 2016; 68(4): 572-575. doi: 10.1016/j.ihj.2015.11.034
59. Cohen DW. Periodontal medicine in the next millennium. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000; 20(1): 6-7.
60. Rees TD, Levine RA. Systematic drugs as a risk factor for periodontal disease initiation and progression. *Compendium*. 1995; 16(1): 20-26.
61. Dolic M, Bailer J, Staehle HJ, Eickholz P. Psychosocial factors as risk indicators of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(11): 1134-1140. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00838.x
62. Merchant AT, Pitiphat W, Ahmed B, Kawachi I, Joshipura K. A prospective study of social support, anger expression and risk of periodontitis in men. *J Am Dent Assoc*. 2003; 134(12): 1591-1596. doi: 10.14219/jada.archive.2003.0104
63. Marques WS, Sheiham A. The relationship between work stress and oral health status. *Soc Sci Med*. 1992; 35(12): 1511-1520. doi: 10.1016/0277-9536(92)90054-t
64. Moss ME, Beck JD, Kaplan BH, Offenbacher S, Weintraub JA, Koch GG, et al. Exploratory case-control analysis of psychosocial factors and adult periodontitis. *J Periodontol*. 1996; 67(10): 1060-1069. doi: 10.1902/jop.1996.67.10s.1060
65. Nguyen DM, El-Serag HB. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am*. 2010; 39(1): 1-7. doi: 10.1016/j.gtc.2009.12.014
66. Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev*. 2011; 12(5): e381-e404. doi: 10.1111/j.1467-789X.2010.00808.x
67. Chaffee BW, Weston SJ. Association between chronic periodontal disease and obesity: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2010; 81(12): 1708-1724. doi: 10.1902/jop.2010.100321
68. Dalla Vecchia CF, Susin C, Rösing CK, Oppermann RV, Al-bandar JM. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *J Periodontol*. 2005; 76(10): 1721-1728. doi: 10.1902/jop.2005.76.10.1721
69. Neiva RF, Steigenga J, Al-Shammary KF, Wang HL. Effects of specific nutrients on periodontal disease onset, progression and treatment. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(7): 579-589. doi: 10.1034/j.1600-051X.2003.00354.x
70. Toprak D, Toprak A, Chen W, Xu JH, Srinivasan S, Berenson GS. Adiposity in childhood is related to C-reactive protein and adiponectin in young adulthood: From the Bogalusa Heart Study. *Obesity (Silver Spring)*. 2011; 19(1): 185-190. doi: 10.1038/oby.2010.75
71. Jeemon P, Prabhakaran D, Ramakrishnan L, Gupta R, Ahmed F, Thankappan K, et al. Association of high sensitive C-reactive protein (hsCRP) with established cardiovascular risk factors in the Indian population. *Nutr Metab (Lond)*. 2011; 8(1): 19. doi: 10.1186/1743-7075-8-19
72. Faucher G, Guénard F, Bouchard L, Garneau V, Turcot V, Houde A, et al. Genetic contribution to C-reactive protein levels in severe obesity. *Mol Genet Metab*. 2012; 105(3): 494-501. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.11.198
73. Weatherall DJ, Ledingham JG, Warrell DA. The acute phase response and C-reactive protein. In: *Oxford textbook of Medicine*. 3rd edition. New York, Oxford; 1996: 1527-1533.
74. Saito T, Murakami M, Shimazaki Y, Oobayashi K, Matsumoto S, Koga T. Association between alveolar bone loss and elevated serum C-reactive protein in Japanese men. *J Periodontol*. 2003; 74(12): 1741-1746. doi: 10.1902/jop.2003.74.12.1741
75. Ay ZY, Kırzioğlu FY, Tonguç MO, Sütçü R, Kapucuoğlu N. The gingiva contains leptin and leptin receptor in health and disease. *Odontology*. 2012; 100(2): 222-231. doi: 10.1007/s10266-011-0043-0
76. Johnson RB, Serio FG. Leptin within healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol*. 2001; 72(9): 1254-1257. doi: 10.1902/jop.2000.72.9.1254
77. Karthikeyan BV, Pradeep AR. Leptin levels in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Periodontal Res*. 2007; 42(4): 300-304. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00948.x
78. Ermolaeva LA, Sevbitov AV, Pen'kovo EA, Shishkin AN, Sheveleva NA, Sheveleva MA, et al. Etiopathogenetic mechanisms of the development of inflammatory periodontal diseases in patients with obesity. *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine*. 2017; 12(4): 385-395. (In Russ.). doi: 10.21638/11701/spbu11.2017.407

Сведения об авторе

Сабирова Азиза Ибрагимовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургической стоматологии, ГОУ ВПО Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента Российской Федерации Б.Н. Ельцина, e-mail: azizasabirova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8055-6233>

Information about the author

Aziza I. Sabirova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Surgical Dentistry, Kyrgyz-Russian Slavic University named after the first President of the Russian Federation B.N. Yeltsin, e-mail: azizasabirova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8055-6233>

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

ОКАЗАНИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПОМОЩИ ПАЦИЕНТАМ С РАЗРЫВОМ ДИСТАЛЬНОГО СУХОЖИЛИЯ ДВУГЛАВОЙ МЫШЦЫ ПЛЕЧА: ДИАГНОСТИКА И АЛГОРИТМ ЛЕЧЕНИЯ

РЕЗЮМЕ

Медведчиков А.Е.,
Анастасиева Е.А.,
Корыткин А.А.,
Кирилова И.А.

ФГБУ «Новосибирский
научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии
им. Я.Л. Цивьянна» Минздрава России
(630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Анастасиева Евгения Андреевна,
e-mail: evgeniya.anastasieva@gmail.com

Повреждение дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча встречается редко, 2,55–5,35 случая на 100 000. Нозологическая форма не имеет гендерной модальности и встречалась в основном у мужчин среднего возраста (46,3 года). К 2022 г. патология «помолодела» и стала встречаться чаще, охватив категории юниоров и молодых атлетов, чья профессиональная деятельность расширилась с появлением новых контактных видов спорта и популяризации культивизма. Авторы отмечают негативное влияние курения и приём анаболических стероидов, статинов и ожирения на частоту возникновения повреждения. Максимальная сила супинации при этих травмах снижается на 40 %, а максимальная сила сгибания на 20 %. Учитывая значимость функциональных нарушений не только локтевого сустава, но и двигательных паттернов верхнего плечевого пояса для профессиональных атлетов, спортивно-организованных и людей, задействованных в физическом труде, рекомендуется оперативное лечение. Консервативное лечение может быть направлено на снижение отёка и воспаления, ограничение движений и увеличение вторичного мышечного напряжения и подходит для пациентов с низким функциональным запросом, неудовлетворительным комплаенсом и высокими рисками хирургического и анестезиологического пособия. То есть выбор лечебной тактики по-прежнему основывается, помимо анатомических изменений, на «субъективных» данных пациента, его потребности к физической нагрузке и диктует структурность подхода, чтобы избежать известных осложнений и уверенно прогнозировать положительный результат на догоспитальном периоде. Основываясь на десятилетнем клиническом и практическом опыте с поправкой на общедоступные данные научной периодики, мы разработали схему, понятную специалисту области травматологии, ортопедии или спортивной медицины и применимую вне зависимости от уровня лечебно-профилактического учреждения. Впервые данная схема опубликована в данной работе.

Ключевые слова: повреждение сухожилий области локтевого сустава, повреждение сухожилий, клиническое принятие решения, алгоритм, травма, операция, спортивная травма

Статья получена: 18.04.2022
Статья принята: 12.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Медведчиков А.Е., Анастасиева Е.А., Корыткин А.А., Кирилова И.А. Оказание специализированной помощи пациентам с разрывом дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча: диагностика и алгоритм лечения. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 193-206. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.20

PROVIDING SPECIALIZED CARE TO PATIENTS WITH A RUPTURE OF THE DISTAL TENDON OF THE BICEPS BRACHII: DIAGNOSIS AND TREATMENT ALGORITHM

ABSTRACT

Medvedchikov A.E.,
Anastasieva E.A.,
Korytkin A.A.,
Kirilova I.A.

Novosibirsk Research Institute
of Traumatology and Orthopedics
named after Ya.L. Tsivyan
(Frunze str. 17, Novosibirsk 630091,
Russian Federation)

Corresponding author:
Evgeniya A. Anastasieva,
e-mail: evgeniya.anastasieva@gmail.com

Biceps brachii distal tendon injury is rare, 2.55–5.35 per 100,000. This nosological form did not have a gender modality and was previously found mainly in middle-aged men (46.3 y.o.). By 2022, this injury “rejuvenated” and began to occur more often, covering the categories of juniors and young athletes, whose professional activities have expanded significantly with the advent of new power disciplines, contact sports and popularization of bodybuilding. The authors note the negative impact of smoking and the use of anabolic steroids, statins and obesity on the incidence of these lesions. The maximum supination force in this type of injury is reduced by an average of 40 %, and the maximum flexion force is reduced by an average of 20 %. Considering the significance of functional disorders not only of the elbow joint, but also of motor patterns of the entire upper limb girdle for professional athletes, sports-organized people and people involved in the physical aspects of labor, surgical treatment is recommended. Nonsurgical treatment can be aimed at suppressing edema and inflammation, limiting early movements in the elbow joint and increasing secondary muscle tension, and it is suitable for patients with low functional demand, poor compliance and high risks of both surgical treatment and anesthesia care. That is, the choice of treatment tactics is still based, in addition to anatomical changes and on the “subjective” patient data, his/her needs for physical activity and requires an algorithmic approach in order to avoid both known complications and confidently predict a positive result during the prehospital period. Based on ten years of clinical and practical experience adjusted by widely available scientific periodicals, we have developed a scheme that is understandable to every specialist in the field of traumatology, orthopedics or sports medicine, and is applicable regardless of the medical institution level. For the first time, this scheme was published in this work.

Key words: elbow tendinopathy, tendon injuries, athletic injuries, clinical decision-making, algorithms, trauma, surgery

Received: 18.04.2022
Accepted: 12.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Medvedchikov A.E., Anastasieva E.A., Korytkin A.A., Kirilova I.A. Providing specialized care to patients with a rupture of the distal tendon of the biceps brachii: diagnosis and treatment algorithm. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 193-206. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.20

ВВЕДЕНИЕ

Повреждение дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча (ДСДМП) не входит в ряд часто возникающих травм. В специализированной литературе XX века встречаются обзоры единичных клинических случаев и малых групп, однако в первые два десятилетия нашего столетия всё больше света проливается на данную проблему благодаря междисциплинарному подходу специалистов, занимающихся преимущественно суммарным анализом данных, биомеханическими исследованиями и хирургической рационализацией. К беспрецедентно редким явлениям можно отнести работы, аккумулирующие практический опыт для создания единых тактических подходов в лечении редкой нозологической формы.

На частоте возникновения поражения двуглавой мышцы плеча в 1938 г. акцентировали внимание сообщества E.L. Gilcreest и соавт., по чьей статистике повреждения ДСДМП составляли лишь 3 %, при том что повреждение проксимальной длинной головки они отмечали в 96 %, а повреждение проксимальной короткой головки – в 1 % [цит. по 1]. Для понимания, насколько поменялась группа пациентов с патологией двуглавой мышцы за последние 80 лет, повреждения проксимального сухожилия в 1938 г. чаще всего выявляли у пожилых людей с хроническими формами инсерционных тендинитов и тендовагинитов, носившими дегенеративный характер [1]. На 2022 г. основная группа данных пациентов – атлеты и спортсмены широко рангированной возрастной группы и люди работоспособного возраста, задействованные в физических аспектах труда [2]. Как известно, провоцирующими факторами, помимо суммарно возросшей физической активности человечества, могут являться анатомические особенности суставов верхнего плечевого пояса и морфологические корреляции структур соединительной ткани [2].

Повреждения ДСДМП, у истоков исследования данной патологии, чаще выявляли у мужчин среднего возраста в период от 35 до 54 лет (46,3 года), в результате спонтанного эксцентрического мышечного сокращения при разгибании локтевого сустава и одновременной супинации предплечья. Данное кинематическое сочетание критически снижает радиоульнарное пространство (РУП), в котором расположено объединённое дистальное сухожилие двуглавой мышцы плеча. Под паратеноном диссекционно дифференцируют короткую и длинную головки, имеющие близкорасположенные точки крепления. Однако при механическом импиджменте в области проксимального РУП в абсолютном большинстве случаев происходит авульсия обеих головок ДСДМП от бугристости лучевой кости и/или двуглавого апоневроза (*lacertus fibrosus*) с потерей пиковых значений супинации, способности к сгибанию сустава [1], и парциальные или изолированные разрывы головок крайне редки. Что любопытно, постулат о частоте повреждений доминирующей стороны на верхних конечностях подтверждения не получил.

К 2022 г. эта редкая форма травм, хоть и не так резко, но тоже помолодела, стала встречаться у юниоров и молодых атлетов, чья профессиональная деятельность расширилась с появлением совершенно новых силовых дисциплин, контактных видов спорта и массовой популяризации культивизма – до 14 % [3]. Механизм разрыва остался прежним, однако с введением функционального подхода к лечению значимость последствий данной патологии оказалась выше, чем 50 лет назад. Возможно, это явление связано с возросшими требованиями пациентов к разным типам физической активности и запросами обращения с новыми технологическими устройствами, усложнением трудовой среды на автоматизированных производствах. В 2002 г. M.R. Safran и S.M. Graham первоначально сообщили о заболеваемости 1,2 на 100 000 пациентов [4]. Однако их исследование было недостаточно объективным, поскольку в него было включено всего 14 пациентов с разрывами ДСДМП. В последующем исследовании в 2015 г., основанном на оценке национальной базы данных, M.R. Kelly и соавт. оценили заболеваемость, ранжируемую от 2,55 до 5,35 на 100 000 со средним возрастом травмированных 46,3 года [5]. Помимо прочего, авторы отметили негативное влияние курения и анаболических стероидов на частоту возникновения данного повреждения [1].

Гендерная модальность, точнее её отсутствие, является очередным интересным фактом для клиницистов. Среди женщин данная травма встречается экстремально редко. Так, в исследовании 2010 г. C.R. Jockel и соавт. проанализировали группу пациенток с подобным повреждением. Авторы отметили, что проявления аналогичной травмы отличались от таковых у мужчин. В мужской группе последствия травмирующих сил были представлены авульсивным разрывом ДСДМП, в то время как у женщин в половине случаев последствия травмы проявлялись постепенно, и зарегистрировались преимущественно парциальные повреждения. Ещё одной особенностью исследованной группы оказался возрастной фактор. На момент обращения за специализированной помощью пациентки были значительно старше, нежели пациенты мужского пола. Средний возраст обращения женщин составил 63 года [6]. Завершая эту тему, в 2021 г. T. Luokkala и соавт. (Финляндия, Великобритания) в компартивном исследовании столкнулись с группами, в которых на 225 мужчин с различными повреждениями структур ДСДМП и его крепления встретилась лишь 1 женщина [7, 8].

Учитывая значимость последующих за травмой функциональных нарушений локтевого сустава и двигательных паттернов верхней конечности [9, 10], для профессиональных атлетов, спортивно-организованных и физически активных людей строго рекомендуется оперативное, однако чётко обоснованное и алгоритмизированное лечение патологий ДСДМП. То есть по-прежнему выбор терапевтической тактики клиницистом основывается, помимо анатомических изменений, визуализированных инструментальными исследованиями (ультразвуковое исследование (УЗИ), магнит-

но-резонансная томография (МРТ), рентгенография), на «субъективных» данных пациента и его потребностях по отношению к профессиональной и каждодневной физической нагрузке. Травмированный может замечать у себя восходящие мышечные судороги двуглавой мышцы плеча в покое и активности, потерю силы при супинации и сгибании в локтевом суставе. В данном случае, консервативное лечение может быть направлено лишь на подавление отёка и воспаления, ограничение ранних движений в локтевом суставе и увеличение вторичного мышечного напряжения. Этот вариант обычно подходит для гериатрического контингента, пациентов с низким функциональным запросом, неудовлетворительным комплаенсом и высокими рисками, как хирургического, так и анестезиологического пособия. В 1975 г. B.F. Morrey и соавт., избрав консервативное ведение пациентов с ДСДМП лишь в 40 % случаев, у 30 % отметили потерю силы супинации со значимой потерей силы сгибания. Спустя десять лет учёные сошлись во мнении, что максимальная сила супинации при данного вида травмах снижается в среднем на 40 % (26–60 %), а максимальная сила сгибания снижается в среднем на 20 % (0–40 %) [3]. Что, согласитесь, совсем не обнадёживает.

В 2021 г. Y. Tomizuka и соавт. провели биомеханическое исследование на анатомических моделях с последующим статистическим анализом. В своей работе авторы рассчитали значимость и процентное соотношение снижения силы при повреждении проксимальных и дистальных сухожилий двуглавой мышцы плеча [11]. В результате было выявлено, что снижение силы составило 24 % в пронации ($p = 0,003$) и 10 % – в нейтральном положении ($p = 0,043$). При этом в группе образцов с проксимальным повреждением ДСДМП существенных различий в изменении силы при супинации ($p \geq 0,079$) или в эффективности силы сгибания ($p \geq 0,058$) не наблюдалось [11]. Результаты данного исследования наглядно показывают необходимость более аккуратного подхода к лечению структур и крепления ДСДМП и, безусловно, необходимость алгоритмизации диагностической и терапевтической тактик на догоспитальном и госпитальном периоде.

ПОСТАНОВКА КЛИНИЧЕСКОГО ДИАГНОЗА

В ходе сбора анамнеза рутинно выясняется механизм травмы – факт спонтанной эксцентрической нагрузки в положении сгибания локтевого сустава [1, 8]. Авульсивный отрыв ДСДМП сопровождается акустическим элементом («щелчок»), за которым следуют стремительная деформация контуров мышечного брюшка и нарастание межфасциальной гематомы, отёка сегмента предплечье-плечо, позволяющие пациенту визуально оценить степень тяжести травмы и обратиться к специалисту регионального лечебно-профилактического учреждения (ЛПУ). Более сложными для диагностики являются парциальные разрывы ДСДМП, где клинические признаки могут ускользнуть от глаз клинициста,

а деликатные анатомические изменения просто проигнорированы даже при выполнении высокоточной диагностики (МРТ). Так, если апоневроз двуглавой мышцы плеча (*lacertus fibrosus*, ДА) повреждён, брюшко двуглавой мышцы втягивается проксимально и часто называется реверсивным симптомом Popeye (рис. 1), однако, как мы увидим ниже, происходит не всегда. Эта сложная категория пациентов, тем более в среде профессиональных атлетов, не может не тревожить специалистов области спортивной медицины.

По общему мнению, большим прорывом современной ортопедии в области данного вопроса стало создание первой понятной анатомической классификации разрывов ДСДМП, основанной на объёме повреждения сухожильной ткани, степени вовлеченности ДА и степени ретракции мышечного брюшка, предложенной L. Perera и соавт. в 2012 г. [12]. Эта классификация призвана клиницистов и исследователей к вопросу создания единого алгоритма оказания специализированной помощи редкой нозологической формы, отсутствовавшего до настоящего времени.



РИС. 1.
Реверсивный симптом Popeye
FIG. 1.
Reverse Popeye symptom

При авульсивных разрывах сухожилие в виде жгута не пальпируется. Но чаще проксимальнее локтевой складки можно пальпаторно обнаружить кулью двугла-

вой мышцы. Для диагностики ДСДМП описан hook-тест, имеющий практически 100%-ю эффективность в постановке предварительного диагноза при полном отрыве сухожилия (рис. 2). Тест, описанный O'Driscoll в 2007 г., основан на том факте, что прикреплённое объединённое ДСДМП ощущается натянутым «шнуром» при изометрической супинации с сопротивлением [8]. Для выполнения этого теста пациента просят отвести плечо, активно согнуть локоть до 90° и супинировать предплечье. Затем исследователь использует указательный палец, чтобы зацепить латеральный край дистального сухожилия. При интактном сухожилии палец клинициста можно ввести примерно на 1 см под сухожилие.



РИС. 2.
Hook-test от O'Driscoll
FIG. 2.
O'Driscoll hook test

Существуют и другие, менее специфичные тесты. Так, R.T. Ruland и соавт. в 2005 г. предложили «сжимающий» тест (рис. 3), чтобы выявить нарушение целостности ДСДМП [13]. Предложенный тест во многом подобен тесту T.S. Thompson, который проводится для диагностики повреждений ахиллова сухожилия. Специфика теста заключается в сжатии тканей плеча, которое супинируется, если ДСДМП повреждено (тест считается «отрицательным»), и соответственно остаётся в нейтральном положении при повреждении (тест считается «положительным»).



РИС. 3.
Тест Ruland
FIG. 3.
Ruland test

Для диагностики парциального повреждения ДСДМП современными авторами предлагается провоцированный тест [14]. Локтевой сустав сгибают под углом 70°, предплечье супинировано. Сгибание локтевого сустава с сопротивлением вызовет боль. Затем предплечье поворачивают, и тест повторяется. При положительном teste сгибание пронация предплечья с сопротивлением более болезненно, чем при супинации. Это можно объяснить тем, что повреждённое и истончённое сухожилие прижимается к кости во время поворота вокруг лучевой кости в положении пронации [8] (рис. 4).

Всё же для объективной диагностики используются инструментальные методы исследования с доступной визуализацией (высоким разрешением и частым срезом 1,5–3 мм). Методом выбора следует считать МРТ (рис. 5), поскольку диагност и травматолог-ортопед могут объективно оценить структуру сухожилия и тяжесть повреждения с качественно лучшей визуальной оценкой изображения окружающих тканей [15, 16].

С экономической точки зрения, а также учитывая степень распространённости на территории РФ и СНГ, возможно так же использовать ультразвуковой метод исследования [15]. J. de la Fuente и соавт. в 2017 г. предложили доступную для оперирующих клиницистов классификацию, где выделяют три типа разрыва ДСДМП от парциального до авульсивного, с или без наличия



РИС. 4.

Провокационный тест [8]

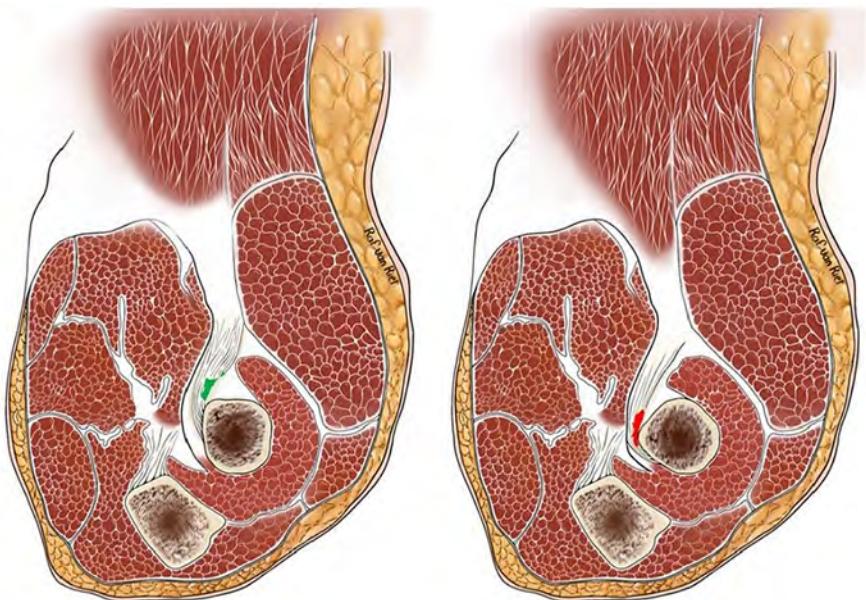


FIG. 4.

Provocative test [8]



РИС. 5.

МРТ-исследование при повреждении ДСДМП

FIG. 5.

MRI diagnostics for distal tendon of the biceps brachii injury

повреждения *lacertus fibrosus* (ДА), учётом площади повреждения (до или больше 50 % в диаметре) и наличием ретракции, которая может служить частью будущего алгоритма стратегий лечения [17]. Это вторая из требующих особого внимания классификация играет важную роль в структурировании подхода к лечению патологии ДСДМП.

ЛЕЧЕНИЕ

Последними исследованиями доказано, что при подтверждении парциального или авульсивного разрыва ДСДМП с 1-й по 3-ю недели с момента травмы именно хирургический вариант является применимым к профессиональным атлетам и спортивно-организованным пациентам.

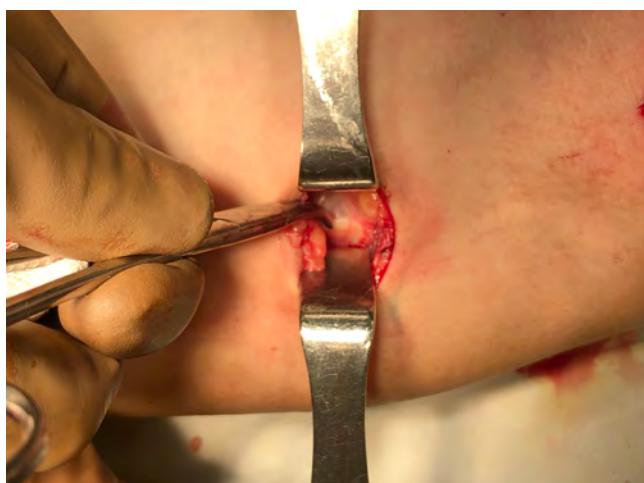
там, а также лицам, задействованным в физических аспектах труда [18]. В случае обращения пациента с травмой давностью свыше 3 недель после спадания отёка и лизирования гематомы отмечается, как визуально, так и инструментальными методами (УЗИ/МРТ), нарастающая мышечная ретракция двуглавой мышцы плеча, формирование рубцовых конгломератов межмышечных компартментов, а также миогенная контрактура локтевого сустава, осложняющие проведение малоинвазивных методов реинсертации сухожильной культи. С пациентом оговариваются консервативный метод лечения с ограничением максимальной силы сгибания и супинации предплечья, зачастую приводящий к утрате сложных двигательных паттернов, или вариант реконструкции ДСДМП с использованием алло- или аутотрансплантатов. В первые 3 недели после травмы хирургическое лечение по техноло-

гии Bain из двух малоинвазивных доступов ADIA (anterior «double incision» approach, малоинвазивный передний доступ), с прошиванием культи сухожилия неадсорбируемой нитью, фиксацией кортикальной пуговицей к бугристости лучевой кости (опционально – с интраканальной компрессией интерферентным винтом), в настоящий момент считается «эталонным» [8] (рис. 6).

Возвращаясь к консервативным методикам лечения, следует, прежде всего, определиться с показаниями для выбора данной тактики. Пожилой возраст, высокие риски хирургического и анестезиологического пособия, а также низкий комплаенс к оперативному лечению занимают эту нишу. Целями консервативного лечения являются: снижение отёка и купирование воспаления, раннее восстановление объёма движений с последующим (но второстепенным!) увеличением мышечной силы. Для таких пациентов прогнозируемы потери объёма су-

пинации предплечья (40–50 %) и силы сгибания (30 %) [15]. В программу актуального консервативного лечения входят: иммобилизация косыночной повязкой или ортезом шарнирного типа, ортопедический режим и комбинированный приём НПВП, методы аутологической биорегенерации (ACP, PRP), а также кинезиотейпирование лимфодренирующего и стабилизирующего типа в периоде активной функциональной реабилитации.

Некоторые авторы активно обсуждают консервативное лечение в случаях парциального разрыва, к которым можно отнести потерю менее 50 % площади сечения ДСДМП, что в свою очередь приводит к высоким функциональным показателям пациента при адекватной и своевременной терапевтической деятельности. Однако те же пациенты в 76 % случаев утверждают, что лечение оказалось недостаточно эффективным [15]. Метаанализы, проведённые M. Cuzzolin и соавт.



а



б



в



г

РИС. 6.

Последовательность выполнения «эталонной» техники реконструкции ДСДМП при остром разрыве сухожилия: **а** – визуализация *n. radialis*; **б** – выделение и прошивание сухожилия через малоинвазивные доступы ADIA; **в** – формирование самозатягивающейся петли на кортикальном фиксаторе; **г** – ушивание хирургических доступов

FIG. 6.

Sequence of the “reference” technique performance for reconstruction of distal tendon of the biceps brachii in acute tendon rupture: **а** – visualization of *n. radialis*; **б** – isolation and suturing of the tendon through minimally invasive ADIA approaches; **в** – formation of a self-tightening loop on the cortical fixator; **г** – closure of surgical approaches

в 2021 г. и A.M. Looney и соавт. в 2022 г., говорят о тех же результатах и схожей удовлетворённости консервативным лечением [19]. В области восстановительного лечения, при оценке по Международной Классификации Функционирования [10], причина таких исходов становится понятной и оценимой: учитывая повышенную потребность в выполнении большего количества различных задач (нежели в 1980 г.) общая оценка функционирования верхней конечности значительно снижается, вплоть до необходимости дополнительной работы с психологом. Данные о предпочтительном лечении в виде хирургической коррекции 2021 г. были подтверждены Британским хирургическим обществом British Elbow and Shoulder Society [20] и иными исследователями с подтверждением необходимости обязательной МРТ-диагностики [21] как наиболее точного диагностического и референсного инструмента при принятии решения.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ

С развитием теорий этиологии и патогенеза (пронационный импиджмент области проксимального РУП, хронический двуглаво-лучевой бурсит, адгезия сухожильного волокна) разрывов структур и крепления ДСДМП предлагались различные технические концепции доступов и методик фиксации повреждённого сухожилия [22–25]. В период с 1940–1960-х тактики хирургического лечения данной патологии поразительно эволюционировали. Так, R.P. Dobbie [цит. по 26] впервые был предложен волярный доступ с единственным кожным разрезом, изначально основанном на классическом широком ладонном доступе Henry. Что удивительно, за почти что одно столетие к единому мнению в вопросах хирургических доступов оперирующие специалисты так и не пришли, ведь, несмотря на удобство, «широкий» хирургический подход приводит к высокой частоте паралича *nervus interosseus antebrachii posterior* (posterior interosseous nerve, PIN), повреждению нейровазальных структур и развитию грубых келоидных рубцов кубитальной ямки, стойких десмогенных контрактур.

Эволюция методов фиксации ДСДМП затребовала меньшей инвазии и, как следствие, модификации в позиционировании кожных разрезов [22, 24]. В случаях «ограниченных доступов» (Boyd – Anderson и ADIA) безопасный интервал работы лежит между круглым пронатором (который отводится медиально) и плечелучевым (отводится латерально) *nervus cutaneus antebrachii lateralis* (lateral antebrachial cutaneous nerve, LABCN), идентифицируется и защищается там, где он выходит между двуглавой и плечевой мышцами на уровне локтевого сустава. Предплечье удерживают в супинированном положении для защиты PIN. При таком доступе частота его повреждений колеблется в клинических исследованиях на уровне от 1 до 5 %. Осложнения, связанные с обоими хирургическими доступами, подробно описаны в специализированной периодике [27, 28]. На сегодняшний день, наряду с активными дебатами оптималь-

ного хирургического доступа к повреждённому ДСДМП, обсуждаются и методы его фиксации.

Вне клинической работы с пациентами, для определения оптимального метода фиксации ДСДМП на анатомических моделях было проведено несколько конкурирующих биомеханических исследований локтевого сустава. Так, немецкие специалисты S. Siebenlist, A. Lenich и соавт. (исследования 2010–2019 гг.) сравнили надёжность реинсерции к точке «foot-print» двуглавой буристости накостным способом: якорными фиксаторами, трансоссальным швом; и интраканальный вариант с применением кортикальной пуговицы на трупном материале, где значимая разница при циклическом тестировании локтевого сустава на сгибание и разгибание с нагрузкой 50 N не была отмечена. И всё-таки было доказано, что осевая нагрузка может привести к большему дегенеративному повреждению при накостном варианте фиксации сухожилия якорным имплантатом (ранжирование силы 307 ± 142 N), чем при интраканальном варианте с кортикальной пуговицей или интерферентным винтом (220 ± 54 и 187 ± 64 N).

Впервые технику интраканальной фиксации, принятую сейчас «эталонной», с погружением ДСДМП в канал, сформированный на уровне средней трети двуглавой буристости верхней трети лучевой кости в волярном положении предплечья через поперечный хирургический доступ с бикортикальным расположением пуговчатого имплантата, представили в двухэтапном исследовании 2002 г. G.I. Bain и соавт. [8]. В первой части авторы представили результаты наблюдения 12 пациентов мужского пола, которым реинсерция ДСДМП была выполнена с применением данной техники в острый период травмы. Наблюдение проводилось в течение последующих полутора лет. У всех пациентов амплитуда движений локтевого сустава в послеоперационном периоде колебалась в пределах $5^\circ/146^\circ$ разгибания и сгибания соответственно, супинация и пронация варьировались в средних величинах $81/80^\circ$. После проведённых каскадных реабилитационных мер все подопечные восстановили мышечную силу, не было отмечено радиоульнарного синостозирования, гетеротопической оссификации, нейропатии PIN/LABCN и т. д., все пациенты вернулись к привычному профилю нагрузок. Вторая часть исследования включала подробную диссекцию на пяти кадaverных материалах, принадлежавших также мужчинам среднего возраста, разных предплечий и морфометрии, с измерением расстояния от зоны реинсерции до различных анатомических образований локтевого сустава, с целью определения вероятности импиджмента фиксированного ДСДМП в проксимальном радиоульнарном пространстве. После чего M.C. Cusick и соавт. рационализировали предложенный выше метод, введя использование направляющей спицы и канюлированного сверла, чтобы избежать травматизации нейровазальных структур, таких как локтевая артерия, PIN, LABCN и срединный нервы, сделав метод легко воспроизводимым и универсальным [29].

Сравнение хирургических доступов и методов фиксации, выявление предикторов разрыва и анализ остео-

интеграции в течении десятилетнего исследования данной нозологической формы позволили выделить среди большого многообразия «эталонную» методику полноценного восстановления ДСДМП, сочетающую в себе малоинвазивные принципы и высокий уровень интраканального контакта «сухожилие – кость».

Учитывая мировой опыт коллег и собственные клинические данные, мы предложили малоинвазивную технику хирургического лечения застарелого и повторного разрыва дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча (Патент на изобретение РФ № 2745408). Методика, с учётом алгоритмизированного подхода к лечению, позволяет эффективно сочетать в себе опыт прошлых лет. Также были разработаны соответствующие реабилитационные протоколы, опубликованные в 2021 г. [30].

Материалы и методы. Собственный алгоритм принятия решения, как результат клинической работы и анализа общемировых данных

Созданию алгоритма лечения пациентов с разрывом ДСДМП предшествовал анализ архивных данных 56 пациентов, которые находились на лечении в ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивяяна» Минздрава России и АНО «Клиника НИИТО» в период с 2012 по 2022 г. Все пациенты обращались в Клинико-диагностический центр с жалобами на боль, деформацию мышечного брюшка двуглавой мышцы, кровоподтёк передней поверхности предплечья или плеча, снижение силы в пиковых нагрузках, ограничение объёма движений в травмированном локтевом суставе. Среди обратившихся отсутствовала гендерная модальность (травмированными оказались только мужчины). Ранжирование по возрасту составило 29–58 лет (средний возраст – 43 года). Каждому пациенту проводились физикальные тесты: «крючковидный» тест O'Driscoll и «сжимающий» тест Ruland, супинационно-пронационный тест (тест ротации), тест пассивной пронации предплечья (PFP), высчитывался интервал сгиба бицепса (BCI), оценивался коэффициент складки бицепса (BCR), тест на изгиб двуглавого апоневроза (BA), при необходимости – изокинетический тест (ДК-25 кистевой динамометр). Из инструментальных исследований проводилась ультразвуковая диагностика травмированного локтевого сустава и/или МРТ локтевого сустава (1,5 или 3 Тсл). Оценка повреждения ДСДМП проводилась по классификациям J. de la Fuente, M. Blasi (с 2017 г.) и L. Perera, A.C. Watts, G.I. Bain (с 2012 г.). При подозрении на нейропатию PIN или LABCN проводилась электромиография.

Показанием к оперативному лечению служили наличие характерной травмы в анамнезе, положительные перечисленные клинические тесты на разрыв ДСДМП и минимум один инструментальный метод диагностики. 56 пациентов с разрывом ДСДМП были разделены на две группы. В первую группу вошли пациенты с консервативной тактикой лечения (20 (35,7 %) пациентов), во вторую группы вошли пациенты с хирургической тактикой лечения (36 (64,3 %) пациентов).

Группа с хирургической тактикой лечения была подразделена на три подгруппы в соответствии с выполняемой техникой: «открытый» вариант с доступом по Dobbie (7 (19,4 %) пациентов), «малоинвазивный доступ Boyd – Anderson» (14 (38,9 %) пациентов) и «эталонный» доступ (15 (41,7 %) пациентов). Результаты лечения оценивались при обращении на контрольный осмотр в Клинико-диагностический центр от 6 до 12 месяцев. Консервативное лечение проводилось строго в случае парциальных разрывов и принесло удовлетворительные функциональные, инструментальные показатели, сходные с данными литературы. В ходе проведения хирургического вмешательства только авульсивный разрыв ДСДМП потребовал хирургического восстановления двух пучков отличными хирургическими доступами (по Dobbie, Boyd – Anderson или ADIA) в сочетании с фиксаторами якорного, кортикального или лигатурного типа.

Результаты оказались неожиданными. Общепринятый, открытый доступ (по Dobbie) к анатомически сложной зоне кубитального сгиба, а также малоинвазивный доступ по ADIA в сочетании с накостным позиционированием ретрагированного ДСДМП при якорной и трансоссальной фиксации не дают прочности «на вырывание» в связи с низким уровнем остеointеграции на кортикальном слое лучевой кости, повышают риски контакта нейровазальных структур с выступающей сухожильной культеи и в итоге ведут к неудовлетворительным исходам. В нашем исследовании частота общих послеоперационных осложнений не превысила общепринятых в нозологии 25 % (4,6 % из которых можно отнести к последствиям серьёзного характера: нейропатия, гетеротопическая оссификация, радиоульнарное синостозирование и т. д.). Среди оперированных пациентов в период от 30 до 90 суток транзиторная нейропатия LABCN встречалась у 2 пациентов после доступа по Boyd – Anderson (14 % среди тех, кому выполнялся данный доступ), была выявлена клинически и по данным электромиографии, полностью купирована медикаментозно к 90-му дню. Гипотрофия бицепса и трицепса плеча при различных доступах (по Dobbie – 100 %, по Boyd – Anderson – 50 %, по ADIA – 41 %) определялась сравнительной морфометрией и динамометрией (кистевой динамометр ДК-100) с устранением электромиостимуляцией по истечении 30 дней. Артргенная контрактура локтевого сустава регистрировалась при доступе по Dobbie – в 100 %, по Boyd – Anderson – в 36 %, по ADIA – в 29 %, оценивалась гониометрией и была устранена аппаратной механотерапией. Гетеротопическая оссификация в 100 % визуализировалась при доступе по Dobbie инструментальным методом (МРТ) и сохранилась весь период исследования, и не была подтверждена при иных хирургических доступах. Поэтому, после проведения ретроспективного анализа предикторов разрыва ДСДМП (табл. 1), нами была предложена собственная методика полноценного восстановления анатомии связочного аппарата, которая предотвращает конфликт с нейровазальными структурами, имеет показатели высокой степени проч-

ности фиксации и биомеханики, максимально приближенной к нативной, что важно при учёте возможности повторного травмирования локтевого сустава у молодых пациентов, задействованных в спорте или физических аспектах труда. Методика подразумевает комбинацию малоинвазивного доступа (по ADIA) с анатомическим способом фиксации (по Bain) аутотрансплантата в области «foot-print» лучевой бугристости. Остаток культи ДСДМП вшивается в трансплантат неадсорбируемой лентой, из которой в последующем формируется «самозатягивающаяся» петля кортикальной пуговицы. Долгосрочные результаты этой комбинации нам ещё предстоит оценить в будущем, однако за период 6 месяцев не было выявлено ни одного из вышеперечисленных послеоперационных осложнений или повторного разрыва.

Реабилитационные мероприятия также претерпели критическую переоценку с учётом расширения группы исследованных пациентов с момента публикации статьи в 2021 г. [30]. В группах пациентов, обратившихся с острой и отсроченной травмой, подгруппах парциального (больше, меньше или равно 50 %) и авульсивного (полного) разрывов разработаны три отличных протокола.

Протокол реабилитации 1 полностью повторяет предложенный в V фазах пошаговый вариант оказания специализированной помощи пациентам с авульсивным разрывом ДСДМП после хирургического лечения «эталонным способом» без использования жёстких форм иммобилизации и максимальным форсированием функциональных мер. Возвращение к физическому труду и атлетическим нагрузкам – с 6-й недели [30].

Реабилитационный протокол 2 рационализирует комплекс мер, предложенный в собственном патенте на изобретение хирургической техники (Патент РФ № 2745408) с учётом расширения клинических показаний: послеоперационный ортопедический ортез с задаваемым градусом сгибания – 4 недели, госпитальный трикотаж на верхнюю конечность (1-го класса компрессии), пассивное восстановление амплитуды движений (ROM) в ротации и сгибании локтевого сустава с 5-й не-

дели. ROM в локтевом суставе по показаниям шарниров ортопедического ортеза: 2-я неделя – 45/100°; 4-я неделя – 30/115°. Снятие шарнирного ортопедического ортеза локтевого сустава с 5-й недели – 15/130° (разгибание и сгибание соответственно). Силовые тренировки с гантелями 1 кг с 5-й недели послеоперационного периода, с увеличением нагрузок 1 кг/нед. в течение 5–8 недель. На этом этапе актуальна электромиостимуляция сгибателей и разгибателей предплечья. С 8-й недели увеличение веса отягощения – 3 кг. С 5-й недели ручная кинезиотерапия и аппаратная механотерапия применяются последовательно с потенцированием амплитуд в пассивном режиме (Kinetec Centura). Проведение оценки параметров динамометрии (ДК-100) и амплитуд движений локтевого сустава (гониометром), фотофиксация результата в пределах реабилитационной фокус-группы (при необходимости). Возвращение к спортивным нагрузкам – с 9-й недели.

Реабилитационный протокол 3 подразумевает работу с экстремально малой категорией больных, ранее подвергшихся хирургическому лечению по поводу разрыва ДСДМП, и которые по каким-либо причинам получили повторный разрыв: послеоперационный ортопедический ортез с задаваемым градусом сгибания – 6 недель, компрессионный чулок на верхнюю конечность (1–2-го класса в зависимости от степени лимфостаза), пассивное восстановление ROM в объёме ротации и сгибания локтевого сустава с 6-й недели с ограничением болевым синдромом по шкале VAS (не больше 3 баллов). ROM в оперированном локтевом суставе по показаниям шарниров ортопедического ортеза: 2–4-я неделя – 50/95°, 4–6-я неделя – 40/100° (сгибание/разгибание соответственно). Снятие шарнирного ортопедического ортеза с 7-й недели – 20/110°. Силовые тренировки с гантелями 1 кг с 8-й недели послеоперационного периода, и увеличение отягощения 1 кг/нед. в течение 8–12 недель. С 6-й недели – ручная кинезиотерапия и аппаратная механотерапия (Kinetec Centura) с потенциальным увеличением ROM в пассивном режиме. После 7 недель пассивной разработки движений оперированного локтевого сустава в ортопедическом ортезе

ТАБЛИЦА 1
ПРЕДИКТОРЫ РАЗРЫВА ДСДМП

TABLE 1
**PREDICTORS OF RUPTURE OF THE DISTAL TENDON
OF THE BICEPS BRACHII**

| Типы предиктора | Предикторы разрыва |
|---|--|
| Поведенческий | Курение, спорт (контактные виды и весовые нагрузки), физические аспекты труда |
| Лекарственный | Приём анаболических стероидов, введение кортикостероидов в область локтевого сустава, приём статинов |
| Субъективные проявления | Тугоподвижность локтевого сустава |
| Клинические (антропология верхней конечности) | ИМТ, гипотрофия двуглавой и трёхглавой мышц плеча, отёк, показатели кистевой динамометрии (ДК 100) |
| Диагностические (МРТ, УЗИ, рентгенография) | Сужение проксимального РУП, кубартроз |

Примечание. ИМТ – индекс массы тела.

шарнирного типа – использование электромиостимуляции сгибателей и разгибателей предплечья. Оценка параметров роста амплитуд движений и динамометрии (ДК-100), по которым актуальность атлетического профиля труда, ручных и физических аспектов профессиональной деятельности оговариваются индивидуально – с 12–16-й недели.

Консервативное лечение, так же освещённое алгоритмом в рамках лечения категорий пациентов с частичным разрывом ДСДМП (менее 50 % площади сухожилия), а также гериатрического и нетolerантного профиля, подразумевает следующее: иммобилизация косыночной повязкой – 3 недели, ранние пассивные (с 2-й недели Kinetec Centura) и активные движения (с 4-й недели) в плечевом суставе, ограничение осевой и тракционной нагрузки на верхнюю конечность – 4 недели, физиотерапию (Kryotur), НПВС, ручную кинезиотерапию со 2-й недели. В периоде 4–6 недель проведение занятий в бассейне и ЛФК-зале с инструктором, используя гантели от 0,5 до 1 кг с постепенным увеличением нагрузок до 3 кг. Восстановление функции конечности по параметрам амплитуд движений и динамометрии (ДК-100) с допуском к бытовым нагрузкам с 4-й недели.

Учитывая вышеописанные данные, нами сформирован алгоритм принятия решения о тактике лечения (рис. 7). В алгоритме выделено 3 основных аспекта, необходимых для выяснения у пациента при первичном обращении к специалисту на амбулаторном этапе.

ВЫВОДЫ

Консолидируя доступные мета-данные специализированной литературы и собственные результаты лечения пациентов редкой нозологической группы разрыва ДСДМП за последние десять лет, можно прийти к заключению, что в подавляющем большинстве клинических случаев оперативное лечение было строго рекомендовано. Игнорируя данный императив, по-прежнему, огромную роль в выборе тактики лечения имеет приемлемость его для клинического случая и конкретного пациента. В противном случае, каким идеально подобранным анатомически лечение не оказалось бы, его результат вполне может быть оценён пациентом «неудовлетворительным». Предложенный алгоритмизированный подход к терапевтической тактике на данный момент позволяет учесть множество «подводных камней» лечения травматической патологии структур и крепления ДСДМП и, по возможности, избежать критических ошибок. Основываясь на собственном клиническом опыте с поправкой на общедоступные данные научной периодики, мы разработали схему, понятную каждому специалисту области травматологии, ортопедии или спортивной медицины и применимую вне зависимости от уровня ЛПУ РФ и СНГ.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

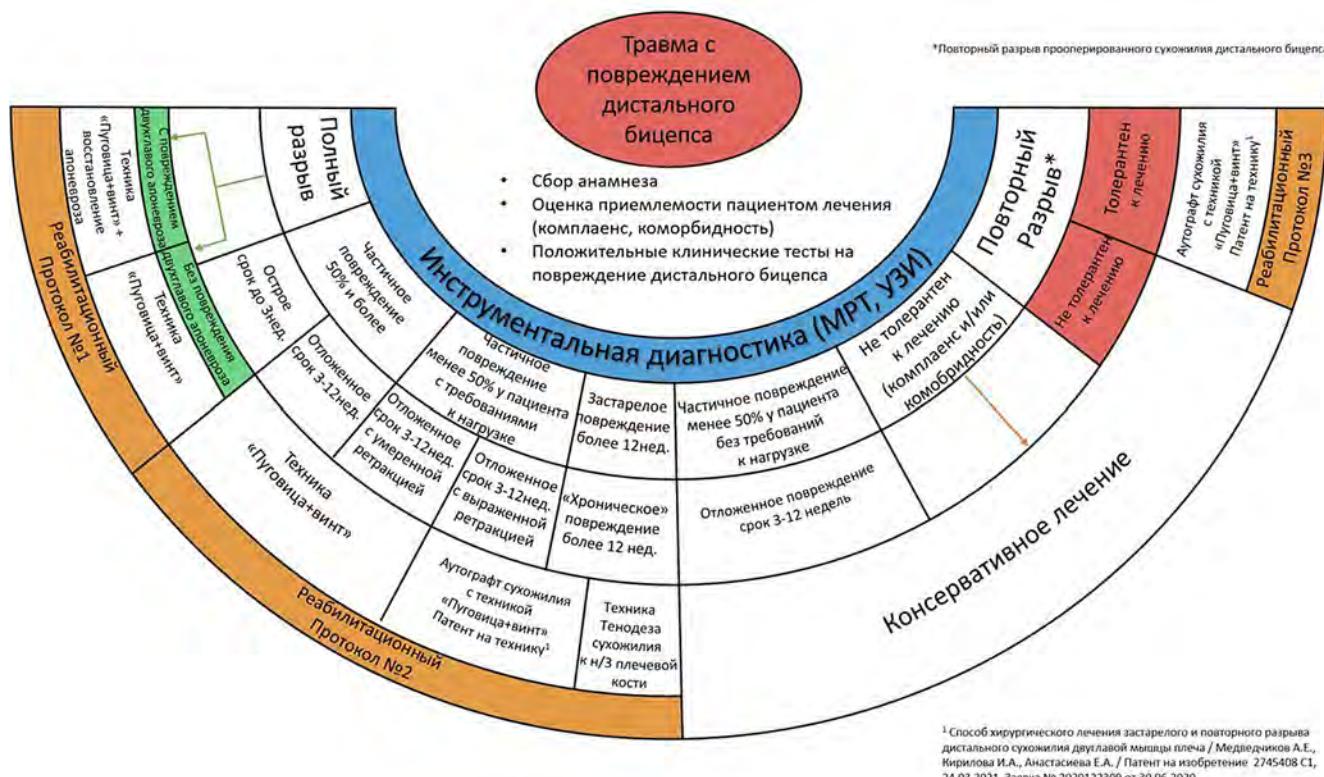


РИС. 7.

Алгоритм выбора тактики лечения при повреждении ДСДМП

FIG. 7.

Algorithm for choosing treatment tactics in case of distal tendon of the biceps brachii injury

ЛИТЕРАТУРА

1. Sarda P, Qaddori A, Nauschutz F, Boulton L, Nanda R, Bayliss N. Distal biceps tendon rupture: Current concepts. *Injury*. 2013; 44(4): 417-420. doi: 10.1016/j.injury.2012.10.029
2. Panico L, Roy T, Namdari S. Long head of the biceps tendon ruptures: Biomechanics, clinical ramifications, and management. *JBJS Rev*. 2021; 9(10): e21. doi: 10.2106/jbjs.rvv.21.00092
3. Carrazana-Suarez LF, Cooke S, Schmidt CC. Return to play after distal biceps tendon repair. *Curr Rev Musculoskel Med*. 2022; 15(2): 65-74. doi: 10.1007/s12178-022-09742-x
4. Safran MR, Graham SM. Distal biceps tendon ruptures: Incidence, demographics, and the effect of smoking. *Clin Orthop Relat Res*. 2002; 404: 275-283.
5. Kelly MP, Perkinson SG, Ablove RH, Tueting JL. Distal biceps tendon ruptures: An epidemiological analysis using a large population database. *Am J Sports Med*. 2015; 43(8): 2012-2017. doi: 10.1177/0363546515587738
6. Jockel CR, Mulieri PJ, Belsky MR, Leslie BM. Distal biceps tendon tears in women. *J Shoulder Elbow Surg*. 2010; 19(5): 645-650. doi: 10.1016/j.jse.2010.01.015
7. Luokkala T, Sidharthan SK, Karjalainen TV, Paloneva J, Watts AC. Distal biceps tendon repairs and reconstructions – an analysis of demographics, prodromal symptoms and complications. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2021; 142(7): 1351-1357. doi: 10.1007/s00402-021-03750-1
8. Caekebeke P, Duerinckx J, van Riet R. Acute complete and partial distal biceps tendon ruptures: What have we learned? A review. *EFORT Open Rev*. 2021; 6(10): 956-965. doi: 10.1302/2058-5241.6.200145
9. Shields RK, Dudley-Javoroski S. Epigenetics and the International Classification of Functioning, Disability and Health model: Bridging nature, nurture, and patient-centered population health. *Phys Ther*. 2022; 102(1): pzab247. doi: 10.1093/ptj/pzab247
10. Cozzi S, Martinuzzi A, Della Mea V. Ontological modeling of the International Classification of Functioning, Disabilities and Health (ICF): Activities & Participation and Environmental Factors components. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2021; 21(1): 367. doi: 10.1186/s12911-021-01729-x
11. Tomizuka Y, Schmidt CC, Davidson AJ, Spicer CS, Smolinski MP, Mauro RJ, et al. Partial distal biceps avulsion results in a significant loss of supination force. *JBJS*. 2021; 103(9): 812-819. doi: 10.2106/JBJS.20.00445
12. Perera L, Watts AC, Bain GI. Distal biceps and triceps tendon ruptures. Operative elbow surgery. *Elsevier*. 2012; 555-572. doi: 10.1016/b978-0-7020-3099-4.00037-0
13. Ruland CR, Dunbar RP, Bowen CJ. The biceps squeeze test for diagnosis of distal biceps tendon ruptures. *Clin Orthop Rel Res*. 2005; 437: 128-131. doi: 10.1097/01.blo.0000167668.1844.f5
14. Caekebeke P, Schenkels E, Bell SN, van Riet R. Distal biceps provocation test. *J Hand Surg Am*. 2021; 46(8): 710e1-710e4. doi: 10.1016/j.jhsa.2020.12.012
15. Albishi W, Agenor A, Lam JJ, Elmaraghy A. Distal biceps tendon tears: Diagnosis and treatment algorithm. *JBJS Rev*. 2021; 9(7): e20. doi: 10.2106/jbjs.rvv.20.00151
16. Caekebeke P, Meglic U, van den Bekerom MP, van Riet R. Evaluation of clinical tests for partial distal biceps tendon ruptures and tendinitis. *J Shoulder Elbow Surg*. 2022; 31(3): 532-536. doi: 10.1016/j.jse.2021.10.012
17. de la Fuente J, Blasi M, Martínez S, Barceló P, Cachán C, Miguel M, et al. Ultrasound classification of traumatic distal biceps brachii tendon injuries. *Skeletal Radiol*. 2018; 47(4): 519-532. doi: 10.1007/s00256-017-2816-1
18. Gowd AK, Liu JN, Maheshwer B, Garcia GH, Beck EC, Cohen MS, et al. Return to sport and weightlifting analysis following distal biceps tendon repair. *J Shoulder Elbow Surg*. 2021; 30(9): 2097-2104. doi: 10.1016/j.jse.2021.01.034
19. Cuzzolin M, Secco D, Guerra E, Altamura SA, Filardo G, Candrian C. Operative versus nonoperative management for distal biceps brachii tendon lesions: A systematic review and meta-analysis. *Orthop J Sports Med*. 2021; 9(10): 23259671211037311. doi: 10.1177/23259671211037311
20. Baldwin MJ, Watts AC, Peach CA, Phadnis J, Singh H, Gwilym SE. Treatment of acute distal biceps tendon ruptures – A survey of the British Elbow and Shoulder Society surgical membership. *Shoulder Elbow*. 2021; 14(5): 555-561. doi: 10.1177/17585732211032960
21. Vishwanathan K, Soni K. Distal biceps rupture: Evaluation and management. *J Clin Orthop Trauma*. 2021; 19: 132-138. doi: 10.1016/j.jcot.2021.05.012
22. Грицюк А.А., Кокорин А.В., Сметанин С.М. Разрыв дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча: современные представления об этиопатогенезе и лечении. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2016; 2(18): 42-48.
23. Шулепов Д.А., Салихов М.Р., Злобин О.В., Коган П.Г. Результаты анатомической реинсертации дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча с использованием малоинвазивной системы фиксации Biceps Repair System. *Современные достижения травматологии и ортопедии: Сборник статей*. 2018: 298-302.
24. Борзых А.В., Борзых Н.А. Лечение разрыва дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча у спортсменов. *Травма*. 2013; 14(4): 30-32.
25. Каплунов О.А., Некрасов Е.Ю., Хусаинов Х.Х. Мининвазивная реинсертация дистального сухожилия бицепса плеча методикой endo-button (предварительное сообщение). *Медицина экстремальных ситуаций*. 2018; 20(4): 527-532.
26. Razaeani S, Zhang D, Harb A, Meller R, Krettek C, Hawi N. Distal biceps tendon repair using a modified double-incision technique: Patient-reported outcomes with 10-year follow-up. *Orthop J Sports Med*. 2020; 8(8): 2325967120944812. doi: 10.1177/2325967120944812
27. Tarallo L, Lombardi M, Zambianchi F, Giorgini A, Catani F. Distal biceps tendon rupture: Advantages and drawbacks of the anatomical reinsertion with a modified double incision approach. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018; 19(1): 364. doi: 10.1186/s12891-018-2278-1
28. Cerciello S, Visonà E, Corona K, Ribeiro Filho PR, Carbone S. The treatment of distal biceps ruptures: An overview. *Joints*. 2018; 6(4): 228-231. doi: 10.1055/s-0039-1697615
29. Cusick MC, Cottrell BJ, Cain RA, Mighell MA. Low incidence of tendon rerupture after distal biceps repair by cortical button and interference screw. *J Shoulder Elbow Surg*. 2014; 23(10): 1532-1536. doi: 10.1016/j.jse.2014.04.013
30. Медведчиков А.Е., Анастасиева Е.А., Куляев Д.А., Кирилова И.А. Реабилитация пациента после хирургического лечения авульсионного разрыва дистального сухожилия двуглавой мышцы плеча. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2021; 98(3): 53-59. doi: 10.17116/kurort20219803153

REFERENCES

1. Sarda P, Qaddori A, Nauschutz F, Boulton L, Nanda R, Bayliss N. Distal biceps tendon rupture: Current concepts. *Injury*. 2013; 44(4): 417-420. doi: 10.1016/j.injury.2012.10.029
2. Panico L, Roy T, Namdari S. Long head of the biceps tendon ruptures: Biomechanics, clinical ramifications, and management. *JBJS Rev.* 2021; 9(10): e21. doi: 10.2106/jbjs.rvw.21.00092
3. Carrazana-Suarez LF, Cooke S, Schmidt CC. Return to play after distal biceps tendon repair. *Curr Rev Musculoskel Med.* 2022; 15(2): 65-74. doi: 10.1007/s12178-022-09742-x
4. Safran MR, Graham SM. Distal biceps tendon ruptures: Incidence, demographics, and the effect of smoking. *Clin Orthop Relat Res.* 2002; 404: 275-283.
5. Kelly MP, Perkinson SG, Alove RH, Tueting JL. Distal biceps tendon ruptures: An epidemiological analysis using a large population database. *Am J Sports Med.* 2015; 43(8): 2012-2017. doi: 10.1177/0363546515587738
6. Jockel CR, Mulieri PJ, Belsky MR, Leslie BM. Distal biceps tendon tears in women. *J Shoulder Elbow Surg.* 2010; 19(5): 645-650. doi: 10.1016/j.jse.2010.01.015
7. Luokkala T, Sidharthan SK, Karjalainen TV, Paloneva J, Watts AC. Distal biceps tendon repairs and reconstructions – an analysis of demographics, prodromal symptoms and complications. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2021; 142(7): 1351-1357. doi: 10.1007/s00402-021-03750-1
8. Caekebeke P, Duerinckx J, van Riet R. Acute complete and partial distal biceps tendon ruptures: What have we learned? A review. *EFORT Open Rev.* 2021; 6(10): 956-965. doi: 10.1302/2058-5241.6.200145
9. Shields RK, Dudley-Javoroski S. Epigenetics and the International Classification of Functioning, Disability and Health model: Bridging nature, nurture, and patient-centered population health. *Phys Ther.* 2022; 102(1): pzab247. doi: 10.1093/ptj/pzab247
10. Cozzi S, Martinuzzi A, Della Mea V. Ontological modeling of the International Classification of Functioning, Disabilities and Health (ICF): Activities & Participation and Environmental Factors components. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2021; 21(1): 367. doi: 10.1186/s12911-021-01729-x
11. Tomizuka Y, Schmidt CC, Davidson AJ, Spicer CS, Smolinski MP, Mauro RJ, et al. Partial distal biceps avulsion results in a significant loss of supination force. *JBJS.* 2021; 103(9): 812-819. doi: 10.2106/JBJS.20.00445
12. Perera L, Watts AC, Bain GI. Distal biceps and triceps tendon ruptures. Operative elbow surgery. *Elsevier.* 2012; 555-572. doi: 10.1016/b978-0-7020-3099-4.00037-0
13. Ruland CR, Dunbar RP, Bowen CJ. The biceps squeeze test for diagnosis of distal biceps tendon ruptures. *Clin Orthop Rel Res.* 2005; 437: 128-131. doi: 10.1097/01.blo.0000167668.1844.f5
14. Caekebeke P, Schenkels E, Bell SN, van Riet R. Distal biceps provocation test. *J Hand Surg Am.* 2021; 46(8): 710e1-710e4. doi: 10.1016/j.jhsa.2020.12.012
15. Albishi W, Agenor A, Lam JJ, Elmaraghy A. Distal biceps tendon tears: Diagnosis and treatment algorithm. *JBJS Rev.* 2021; 9(7): e20. doi: 10.2106/jbjs.rvw.20.00151
16. Caekebeke P, Meglic U, van den Bekerom MP, van Riet R. Evaluation of clinical tests for partial distal biceps tendon ruptures and tendinitis. *J Shoulder Elbow Surg.* 2022; 31(3): 532-536. doi: 10.1016/j.jse.2021.10.012
17. de la Fuente J, Blasi M, Martínez S, Barceló P, Cachán C, Miguel M, et al. Ultrasound classification of traumatic distal biceps brachii tendon injuries. *Skeletal Radiol.* 2018; 47(4): 519-532. doi: 10.1007/s00256-017-2816-1
18. Gowd AK, Liu JN, Maheshwer B, Garcia GH, Beck EC, Cohen MS, et al. Return to sport and weightlifting analysis following distal biceps tendon repair. *J Shoulder Elbow Surg.* 2021; 30(9): 2097-2104. doi: 10.1016/j.jse.2021.01.034
19. Cuzzolin M, Secco D, Guerra E, Altamura SA, Filardo G, Candrian C. Operative versus nonoperative management for distal biceps brachii tendon lesions: A systematic review and meta-analysis. *Orthop J Sports Med.* 2021; 9(10): 23259671211037311. doi: 10.1177/23259671211037311
20. Baldwin MJ, Watts AC, Peach CA, Phadnis J, Singh H, Gwilym SE. Treatment of acute distal biceps tendon ruptures – A survey of the British Elbow and Shoulder Society surgical membership. *Shoulder Elbow.* 2021; 14(5): 555-561. doi: 10.1177/17585732211032960
21. Vishwanathan K, Soni K. Distal biceps rupture: Evaluation and management. *J Clin Orthop Trauma.* 2021; 19: 132-138. doi: 10.1016/j.jcot.2021.05.012
22. Grityuk AA, Kokorin AV, Smetanin SM. Rupture of the distal tendon of the biceps brachii: Current concepts of etiopathogenesis and treatment. *Department of Traumatology and Orthopedics.* 2016; 2(18): 42-48. (In Russ.).
23. Shulepov DA, Salikhov MR, Zlobin OV, Kogan PG. Results of anatomical reinsertion of the distal tendon of the biceps brachii using a minimally invasive fixation system Biceps Repair System. *Sovremennye dostizheniya travmatologii i ortopedii: Sbornik statey.* 2018; 298-302. (In Russ.).
24. Borzykh AV, Borzykh NA. Treatment of distal biceps tendon rupture in athletes. *Travma.* 2013; 14(4): 30-32. (In Russ.).
25. Kaplunov OA, Nekrasov EYu, Khusainov KhKh. Minimally invasive reinsertion of the distal tendon of the biceps brachii using the endo-button technique (preliminary report). *Medicine of Extreme Situations.* 2018; 20(4): 527-532. (In Russ.).
26. Razaeian S, Zhang D, Harb A, Meller R, Krettek C, Hawi N. Distal biceps tendon repair using a modified double-incision technique: Patient-reported outcomes with 10-year follow-up. *Orthop J Sports Med.* 2020; 8(8): 2325967120944812. doi: 10.1177/2325967120944812
27. Tarallo L, Lombardi M, Zambianchi F, Giorgini A, Catani F. Distal biceps tendon rupture: Advantages and drawbacks of the anatomical reinsertion with a modified double incision approach. *BMC Musculoskelet Disord.* 2018; 19(1): 364. doi: 10.1186/s12891-018-2278-1
28. Cerciello S, Visonà E, Corona K, Ribeiro Filho PR, Carbone S. The treatment of distal biceps ruptures: An overview. *Joints.* 2018; 6(4): 228-231. doi: 10.1055/s-0039-1697615
29. Cusick MC, Cottrell BJ, Cain RA, Mighell MA. Low incidence of tendon rerupture after distal biceps repair by cortical button and interference screw. *J Shoulder Elbow Surg.* 2014; 23(10): 1532-1536. doi: 10.1016/j.jse.2014.04.013
30. Medvedchikov AE, Anastasieva EA, Kulyaev DA, Kirilova IA. Rehabilitation of patients after surgical treatment of avulsion rupture of the distal biceps brachial tendon. *Problems of balneology, physiotherapy, and exercise therapy.* 2021; 98(3): 53-59. (In Russ.). doi: 10.17116/kurort20219803153

Сведения об авторах

Медведчиков Артем Евгеньевич – врач травматолог-ортопед, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьян» Минздрава России, e-mail: medikea@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1271-9026>

Анастасиева Евгения Андреевна – аспирант, врач травматолог-ортопед, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьян» Минздрава России, e-mail: evgeniya.anastasieva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9329-8373>

Корыtkин Андрей Александрович – кандидат медицинских наук, директор, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьян» Минздрава России, e-mail: andrey.korytkin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9231-5891>

Кирилова Ирина Анатольевна – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьян» Минздрава России, e-mail: irinakirilova71@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1911-9741>

Information about the authors

Artem E. Medvedchikov – Traumatologist-Orthopedist, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsivyan, e-mail: medikea@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1271-9026>

Evgeniya A. Anastasieva – Postgraduate, Traumatologist-Orthopedist, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsivyan, e-mail: evgeniya.anastasieva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9329-8373>

Andrey A. Korytkin – Cand. Sc. (Med.), Director, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsivyan, e-mail: andrey.korytkin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9231-5891>

Irina A. Kirilova – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Science, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsivyan, e-mail: irinakirilova71@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1911-9741>

ОСОБЕННОСТИ РЕВЕРСИВНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ПЛЕЧЕВОГО СУСТАВА ПРИ ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ГЛЕНОИДА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

РЕЗЮМЕ

Карапетян Г.С.,
Шуйский А.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»
Минздрава России (127299, г. Москва,
ул. Приорова, 10, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Шуйский Артём Анатольевич,
e-mail: shuj-artyom@mail.ru

Реверсивное эндопротезирование плечевого сустава в условиях изменённой анатомии суставной впадины лопатки является сложным и зачастую исключает возможность использования стандартной тактики установки гленоидального компонента. Не бывает одинаковых гленоидов, каждая суставная впадина лопатки отличается высотой, шириной, углом наклона, плотностью костной ткани, отсутствием или наличием различных дефектов костной ткани. Учитывая многообразие вариантов изменения структуры и качества костной ткани гленоида при травмах и заболеваниях плечевого сустава, каждый случай эндопротезирования следует рассматривать индивидуально. С целью выполнения адекватной установки метаглена данные параметры необходимо приводить в норму или стандартизировать. Целью настоящей работы является обзор отечественной и зарубежной литературы, посвящённой особенностям реверсивного эндопротезирования плечевого сустава при деформации суставной впадины лопатки. На основании анализа данных литературы, процент осложнений, связанных с неудовлетворительными результатами лечения из-за нестабильности гленосферы, довольно велик, что соответствует об отсутствии разработанности данной темы и её актуальности для практической травматологии и ортопедии. В работе рассматриваются эксцентричные нестандартные методики обработки фрезами суставной впадины лопатки, методы её костной пластики, использование изготовленных с учётом деформации гленоида метагленов, а также показания к использованию технологии индивидуального изготовления лопаточных компонентов. Изучение и анализ показаний к применению различных видов методик нивелирования деформаций лопатки позволили систематизировать и дифференцированно подойти к решению вопроса предоперационного планирования и выбора корректной, правильной тактики лечения в сложных случаях реверсивного эндопротезирования плечевого сустава.

Ключевые слова: плечевой сустав, омартроз, реверсивное эндопротезирование, суставная впадина лопатки, гленосфера, остеопороз

Статья получена: 20.02.2022

Статья принята: 11.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Карапетян Г.С., Шуйский А.А. Особенности реверсивного эндопротезирования плечевого сустава при ортопедической патологии гленоида (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 207-221. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.21

FEATURES OF REVERSE ARTHROPLASTY OF THE SHOULDER JOINT IN ORTHOPEDIC PATHOLOGY OF THE GLENOID (LITERATURE REVIEW)

ABSTRACT

**Karapetyan G.S.,
Shuyskiy A.A.**

N.N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics (Priorova str. 10, Moscow 127299, Russian Federation)

Corresponding author:
Artyom A. Shuyskiy,
e-mail: shuj-artyom@mail.ru

The reverse shoulder arthroplasty in the conditions of the modified anatomy of the glenoid is complex and often excludes the possibility of using the standard tactics of installing the glenoid component. There are no identical glenoids, each articular cavity of the scapula differs in height, width, angle of inclination, density of bone tissue, absence or presence of various defects of bone tissue. Given the variety of options for changing the structure and quality of the glenoid bone tissue in injuries and diseases of the shoulder joint, each case of endoprosthetics should be considered individually. In order to perform an adequate metaglen installation, these parameters must be normalized or standardized. The purpose of this work is to review the domestic and foreign literature devoted to the features of reversible shoulder joint replacement during deformation of the articular cavity of the scapula. Based on the analysis of literature data, the percentage of complications associated with unsatisfactory treatment results due to the instability of the glenosphere is quite large, which indicates the lack of elaboration of this topic and its relevance for practical traumatology and orthopedics. The paper considers eccentric non-standard methods of rimming the articular cavity of the scapula, methods of its bone grafting, the use of metaglens made taking into account the deformation of the glenoid, as well as indications for the use of technology for the individual manufacture of scapular components. The study and analysis of indications for the use of various types of techniques for solution glenoid deformities made it possible to systematize and differentially approach the issue of preoperative planning and choosing the correct, right treatment tactics in complex cases of reversible shoulder joint replacement.

Key words: shoulder joint, omarthrosis, reverse arthroplasty, glenoid cavity, gleno-sphere, osteoporosis

Received: 20.02.2022

Accepted: 11.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Karapetyan G.S., Shuyskiy A.A. Features of reverse arthroplasty of the shoulder joint in orthopedic pathology of the glenoid (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 207-221. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.21

Реверсивное эндопротезирование плечевого сустава является одним из методов избавления от болевого синдрома и восстановления функции конечности при выраженных изменениях анатомии плечевого сустава [1]. Процент неудовлетворительных исходов лечения (нестабильности компонентов, вывихов), связанных с имплант-ассоциированными осложнениями со стороны лопаточного компонента, составляет от 1,7 до 3,5 % [2]. Основной задачей при имплантации лопаточного компонента реверсивного эндопротеза является стабильная адаптация метаглена. Не бывает одинаковых гленоидов, каждая суставная впадина лопатки отличается высотой, шириной, углом наклона, плотностью костной ткани, отсутствием или наличием различных дефектов костной ткани [3, 4]. Данные изменения наблюдаются при врождённых и приобретённых деформациях суставной впадины лопатки [5]. С целью выполнения адекватной установки метаглена данные параметры необходимо приводить в норму или стандартизировать. У пациентов, которым показано реверсивное эндопротезирование, зачастую выявляется эрозия, деформация суставной впадины лопатки. Приобретённые дефекты присутствуют у 40 % пациентов с артропатией на фоне несостоительности ротаторной манжеты (Cuff Tear Arthropathy) [4].

Целью нашей работы является обзор, оптимизация и объединение классификаций деформации суставной впадины лопатки и методов их решения для корректной установки лопаточного компонента реверсивного эндопротеза.

Костное развитие лопатки характеризуется прохождением интрамемброзного окостенения за счёт восьми различных центров оссификации [6]. Гленоид имеет два центра окостенения: верхний центр окостенения в основании клювовидного отростка и подковообразный центр окостенения в нижней части [6]. В ранних исследованиях учёных предполагалось, что гипоплазия суставной впадины происходит из-за нарушения развития предхрящевой ткани из нижнего апофиза гленоида [7]. Однако поздние исследования, включающие такие объективные методы исследования, как КТ, МРТ, артографию, диагностическую артроскопию, при гипоплазии гленоида демонстрировали неоссифицированную хрящевую модель и гипертрофированную хрящевую губу неоссифицированного участка [7].

Деформации гленоида подразделяются на врождённые (дисплазии) и приобретённые. Причинами врождённых деформаций гленоида могут быть нарушение окостенения его участков [7]. Дисплазия гленоида классифицируется как по типам её морфологии, так и по выраженности дефицита костной ткани [7] (рис. 1).

В целом, признаки дисплазии гленоида при имеющемся остеоартрозе плечевого сустава схожи с его приобретёнными дефектами по некоторым классификациям. Соответственно, ввиду идентичной морфологии врождённых и приобретённых дефектов, пути решения и компенсации костной массы схожи.

Классификации приобретённых дефектов гленоида целесообразно подразделять на несколько групп: де-

фекты преимущественно в аксиальной и фронтальной плоскости, центральные дефекты и дефекты с медиалинацией суставной поверхности лопатки [4].



РИС. 1.

Дисплазия гленоида [7]

FIG. 1.

Glenoid dysplasia [7]

Для оценки морфологии гленоида в аксиальной плоскости применима классификация G. Walch, разработанная для пациентов с первичным остеоартрозом плечевого сустава (рис. 2) [5].

На основании обследования 113 пациентов с остеоартрозом, K. Jean и соавторы определили процентную частоту встречаемости разных видов деформаций гленоида. Так, деформации типа А (59 %) характеризуются центрированной головкой плечевой кости с незначительной (A1 – 43 %) или грубой (A2 – 16 %) эрозией гленоида. В результате того, что действующие силы были равномерно распределены по поверхности гленоида, головка плечевой кости при деформациях типа А центрирована в суставной впадине с незначительной её ретроверсией ($11,5 \pm 8,8^\circ$). В результате того, что нагрузка на суставную поверхность гленоида распределялась ассиметрично, в 32 % случаев определялся подвывих головки плечевой кости кзади. В 17 % случаев (тип B1) определялось сужение суставной щели, субхондральный склероз, а в 15 % случаев (тип B2) суставная поверхность гленоида приобретала необычную, но типичную для таких проявлений остеоартроза двояковогнутую конфигурацию. Средняя величина ретроверсии суставной поверхности гленоида при деформациях типа B1 составляла $14,9^\circ$, а при деформациях типа B2 – $23,4^\circ$. Диспластической, явно врождённой деформацией характеризовались 9 % лопаток (тип C). При данном типе гленоида угол его ретроверсии составлял более 25° , независимо от проявлений эрозии суставной поверхности (среднее значение ретроверсии составило $35,7^\circ$). При данной дисплазии определяется правильная центрация, либо небольшой задний подвывих головки плечевой кости.

По данным обследований гленоидов типа A1, A2, B1 и B2 по Walch, проведённых H. Letissier и соавторами, выявлено, что при данных деформациях, в субхондральной кости суставной впадины лопатки преобладают остеосклеротические изменения [8]. Средняя плотность в единицах Хаунсфилда (HU) у неизменённых гленоидов составляла 413 ± 113 HU. Так, в гленоидах типа A1 плотность

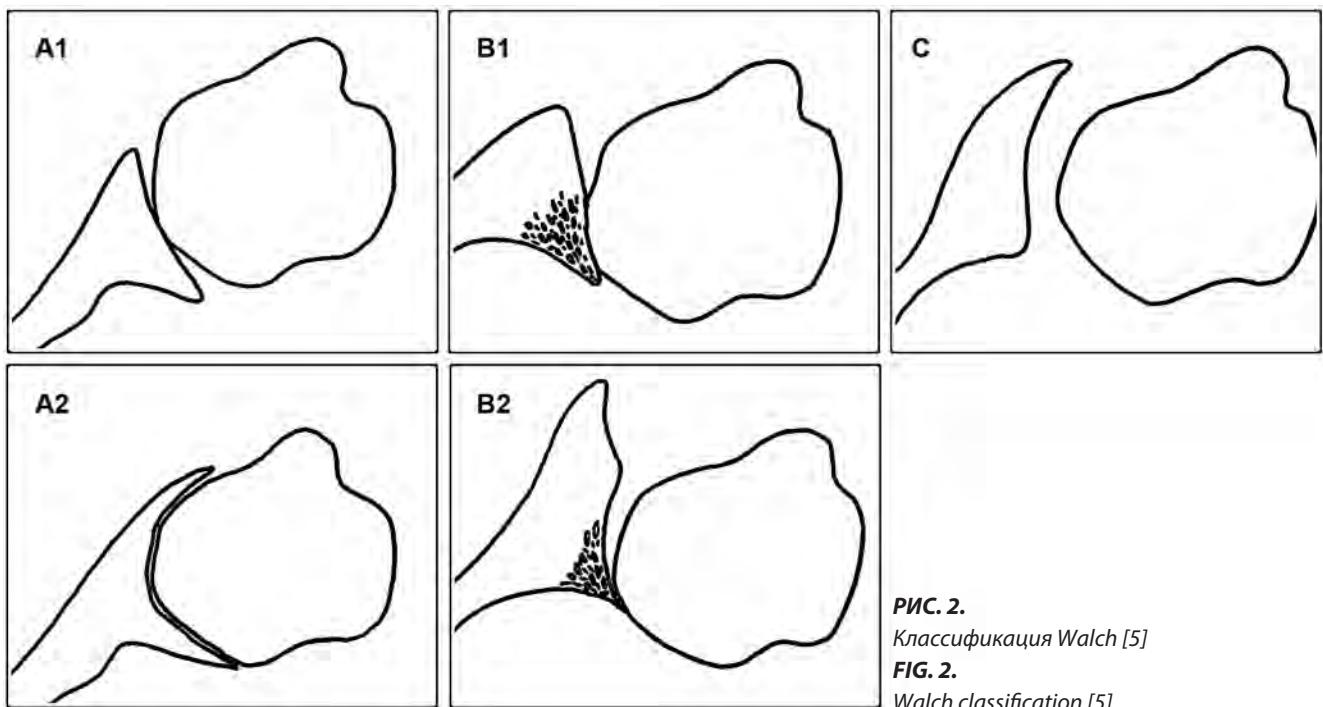


РИС. 2.

Классификация Walch [5]

FIG. 2.

Walch classification [5]

субхондральной кости была больше, чем у нормальных гленоидов – 530 ± 105 HU. Плотность субхондральной кости гленоидов типа А2 составляла 561 ± 150 HU, типа В1 – 473 ± 106 HU, В2 – 521 ± 106 HU. При медиальном отдалении от субхондральной пластиинки отмечается рарефикация костной ткани, соответственно, при грубой и чрезмерной обработке костной ткани с медиализацией увеличиваются риски микроподвижности и нестабильности имплантата. Так, на расстоянии от 5 до 7,5 мм от субхондральной кости плотность костной ткани при деформациях типа А1 составляет 368 ± 121 HU [8].

A. Gupta, C. Thussbas, M. Koch, L. Seebauer также классифицировали эксцентричные дефекты гленоида в аксиальной и сагиттальной плоскостях [9] (рис. 3).

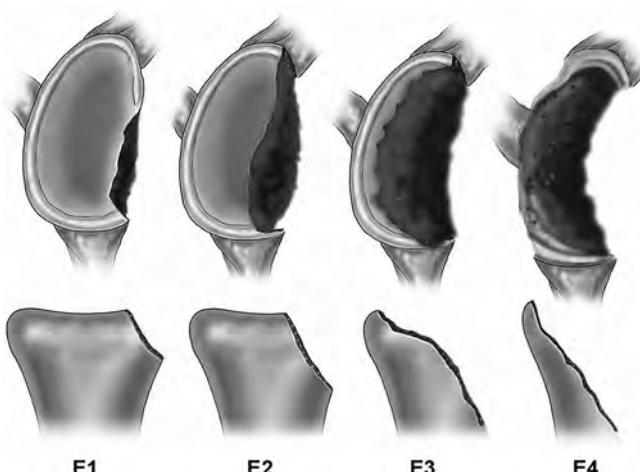


РИС. 3.

Классификация Gupta, Thussbas, Koch, Seebauer [9]

FIG. 3.

Gupta, Thussbas, Koch, Seebauer classification [9]

Данные дефекты классифицировались согласно их размеру и локализации. По размеру деформации гленоида подразделялись следующим образом: Е1 – маленький, неглубокий дефект; Е2 – дефект среднего размера, составляющий менее 30 % костной массы гленоида; Е3 – большой дефект, составляющий от 30 до 60 % костной массы гленоида; Е4 – массивная потеря костной ткани более 60 % гленоида. В зависимости от вовлечённого в патологический процесс квадранта гленоида, дефекты подразделялись на передние (А), задние (Р), нижние (І), верхние (С).

При деформирующем артрозе, посттравматических и других изменениях плечевого сустава наклон суставной поверхности лопатки может претерпевать эксцентрическую деформацию не только в передне-заднем, но и в нижне-верхнем направлении [5].

Так называемая классификация вертикальной морфологии гленоида (инклинации суставной поверхности лопатки) предложена Р. Habermeyer для расчёта угла наклона гленоида у пациентов с первичным остеоартрозом плечевого сустава [5] (рис. 4). На основании соотношения двух линий, из которых одна линия проводится по латеральному краю основания клювовидного отростка лопатки (линия основания клювовидного отростка), а вторая линия проводится вдоль верхнего и нижнего края гленоида (линия гленоида), выделяли четыре типа морфологии гленоида. Тип 0, который характеризовался нормальным строением лопатки, наблюдался у 13 % исследованных пациентов. У данных пациентов линии гленоида и клювовидного отростка параллельны друг другу. Тип 1 деформации наблюдался у 16 % обследуемых и характеризовался пересечением линий под нижним краем гленоида. Больше половины (54 %) исследуемых Р. Habermeyer пациентов имели выраженную нижнюю инклинацию гленоида (тип 2),

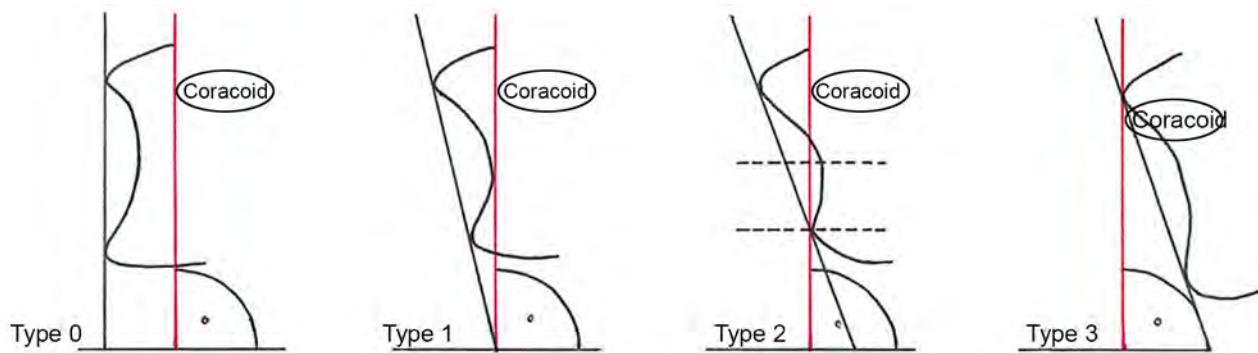


РИС. 4.
Классификация Habermeyer [5]

FIG. 4.
Habermeyer classification [5]

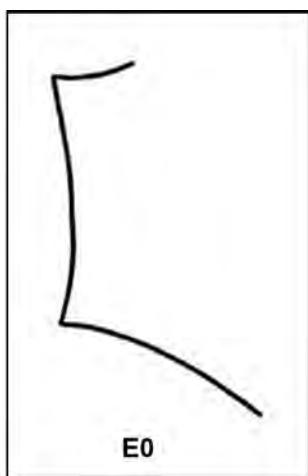


РИС. 5.
Классификация Favard [5]

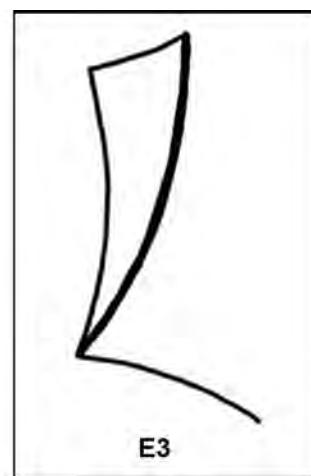


FIG. 5.
Favard classification [5]

морфология гленоида характеризовалась пересечением линий на уровне между центром и нижнем краем гленоида. 17 % пациентов имели грубую деформацию суставной площадки с её медиализацией (тип 3). В случаях с медиализацией суставной поверхности точка пересечения линий-ориентиров располагалась над основанием клювовидного отростка.

При артрапатии, связанной с дисфункцией ротаторной манжеты, зачастую происходит субакромиальная миграция головки плечевой кости с износом верхних отделов суставной впадины лопатки. Для оценки нарушения морфологии гленоида во фронтальной плоскости у пациентов с артрапатией, связанной с повреждением ротаторной манжеты, используется классификация Favard [5] (рис. 5).

В 49 % случаев отмечается краинальная миграция головки плечевой кости без эрозии гленоида, 35 % характеризуются концентрической эрозией гленоида. В 10 % случаев эрозия локализуется в верхней части гленоида, формируя его двояковогнутую поверхность. При распространении эрозии верхней части гленоида на нижнюю часть формируется поверхность с верхней инклинацией всей суставной поверхности, что отмечалось в 6 % случаев.

Для оценки морфологии центральных дефектов суставной впадины лопатки удобна классификация A. Gupta, C. Thussbas, M. Koch, L. Seebauer [9] (рис. 6).

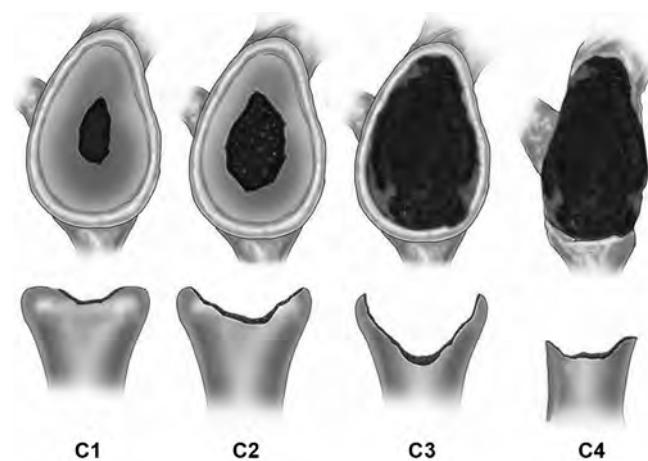


РИС. 6.
Классификация Gupta, Thussbas, Koch, Seebauer [9]
FIG. 6.
Gupta, Thussbas, Koch, Seebauer classification [9]

Данная классификация учитывает объём дефекта костной ткани: C1 – неглубокий дефект, глубиной менее 50 % диаметра гленоида; C2 – глубокий дефект, глубиной более 50 % диаметра гленоида с интактной шейкой лопатки; C3 – дефект, глубиной более 50 % диаметра гленоида с вовлечением шейки лопатки; дефект типа C4 характеризуется выраженной деструкцией суставной впадины и шейки лопатки.

Медиализация суставной поверхности гленоида в результате артоза и других деформаций является серьёзной проблемой при артрапластике плечевого сустава. Пренебрежение компенсацией дефицита костной ткани и установка стандартных компонентов на медиализованную костную площадку в большинстве случаев является причиной вывиха эндопротеза [10]. Степень выраженности медиализации гленоида, ориентируясь на его взаиморасположение по отношению к клювовидному отростку, позволяет определить классификацию Levigne и Franceschi [5] (рис. 7).

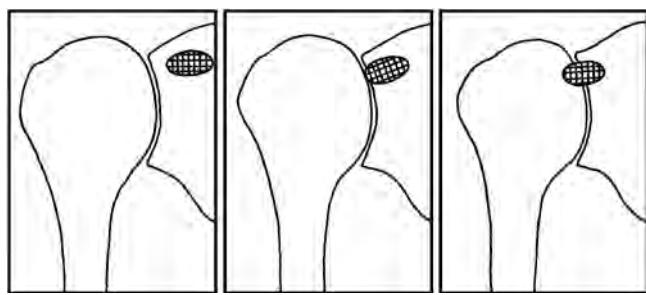


РИС. 7.

Классификация *Levigne u Franceschi* [5]

FIG. 7.

Levigne & Franceschi classification [5]

Данная классификация разработана на основе обследования пациентов с ревматоидным артритом и включает три стадии. Первая стадия износа характеризуется интактностью либо минимальным износом субхондральной кости. При второй стадии линия износа достигает ножки клювовидного отростка, при третьей – локализуется за ножкой клювовидного отростка.

Кроме дефектов и деформации суставной впадины лопатки, при первичных и ревизионных операциях необходимо учитывать плотность костной ткани [11]. Снижение плотности костной ткани может приводить к некорректной установке и нестабильности гленоидального компонента эндопротеза [11]. Качественным инструментом определения плотности кости может быть измерение единиц Хаунсфилда (HU) по данным компьютерной томографии [11]. Расчёт данного параметра полезен как для позиционирования метаглена, так и для определения оптимальной траектории и длины винтов.

Вариантами решения дефицита костной массы лопатки являются следующие методы:

- эксцентрическая обработка гленоида фрезой;
- костная пластика;
- использование аугментов;

- использование индивидуальных имплантов.

Эксцентричная обработка суставной впадины лопатки без применения костной пластики или специальных компонентов может являться методом выбора при деформациях гленоида с ретроверсией суставной поверхности менее 10° [12]. Однако при такой обработке происходит удаление оставшейся костной массы гленоида и его медиализация [13]. Так, например, при эксцентрических дефектах гленоида типа E2 по классификации Favard, наивысший объём кортикальной плотной кости (около 895 HU) содержится в его верхнем квадранте [14]. Напротив, при данных дефектах в нижнем квадранте гленоида обнаруживается меньшая плотность костной ткани (около 834 HU) с наиболее «приемлемой» её локализацией в субхондральной кости и на небольшом участке под ней [14]. Таким образом, чрезмерная обработка нижнего квадранта гленоида при данных деформациях приводит к лишению костной массы хорошего качества, что влияет на последующую стабильность имплантата [14]. Следовательно, необходимо оценивать и чётко представлять преимущества и кажущуюся простоту выполнения этой методики нивелирования деформации над необходимостью восполнения созданного дефицита костной ткани. Использование приёма эксцентрической обработки суставной поверхности лопатки без компенсации созданного дефекта костной массы не рекомендовано при ретроверсии гленоида более 10° [12].

Для того чтобы не медиализировать суставную площадку лопатки и постараться сохранить оставшуюся наивную кость, существуют методики замещения дефектов ауто- и аллотрансплантатами, специальными аугментами [13].

Традиционным и доказанным методом нивелирования изменения морфологии гленоида, использовавшимся ещё до появления специализированных метагленов, является костная пластика [4, 13]. Применение костно-пластических методик позволяет хирургу исправить деформацию, восстановить опорную площадку для установки метаглена. Кроме того, выполнение костной пластики позволяет не только увеличить объём костной ткани для стабильной имплантации гленоидального компонента, но и компенсировать изменение оффсета при медиализации гленоида, увеличить натяжение дельтовидной мышцы и мышц ротаторной манжеты. Целями реконструкции гленоида являются: восстановление пространственной анатомии, стабильная реконструкция костного дефекта и обеспечение надёжной фиксации метаглена [13]. Так, компания Tornier разработала технологию эндопротезирования «bony increased offset-reverse shoulder arthroplasty», которая вошла в широкую практику под устойчивым названием BIO-RSA [13]. Она заключалась в использовании цилиндрического трансплантата из головки плечевой кости, который имплантировался через длинную ножку метаглена между метагленом и наивным гленоидом. Адаптируя данную методику к эксцентрическим дефектам гленоида, Boileau использовал трансплантаты с наклонной поверхностью [13]. Костная пластика суставной впадины показана, когда потеря костной массы достаточно серьёзна, чтобы предотвратить

корректную имплантацию метаглена, но противопоказана, если потеря объёма и плотности костной ткани настолько серьёзна, что стабильная конструкция «имплант – трансплантат – гленоид» недостижима [9, 15]. Учитывая то, что аутокость является «золотым стандартом» в костной пластике, обладая оптимальными свойствами остеоинтеграции, в своей практике мы не рассматривали методики аллопластики. В литературных источниках встречаются методики забора трансплантатов из таза и изрезированной головки плечевой кости [9]. Выбор донорской зоны для забора трансплантата мы делаем в пользу гребня подвздошной кости с учётом того, что губчато-кортикальный трансплантат обладает необходимыми механическими свойствами, является оптимальным в плане репаративной регенерации и восстановления костной массы и, зачастую, вследствие дегенеративно-дистрофических процессов головки плечевой кости имеет «компрометированное» состояние [16]. При замещении значительных, медиализирующих гленоид дефектов появляется возможность провести стабильную фиксацию губчато-кортикального трансплантата на ножке метаглена с достаточной компрессией при помощи винтов. В похожих условиях губчатый трансплантат из резецированной головки плечевой кости обладает более податливой структурой и не обеспечивает необходимую механическую прочность для латерализации гленоида. Более того, зачастую на фоне гиповаскулярных и дегенеративно-дистрофических изменений головка вовсе отсутствует. При некоторых заболеваниях и посттравматических изменениях проксимального отдела плечевой кости не удается произвести забор костной ткани из этой зоны.

Методики костной аутопластики применимы к дефектам гленоида типа B1, B2, C по классификации Walch, ко всем центральным и эксцентрическим дефектам по классификации A. Gupta, C. Thussbas, M. Koch, L. Seebauer [9]. К центральным дефектам типа C1, C2, C3 применима методика «импакционной» костной пластики мелкими по размеру трансплантатами или костной крошкой [9, 15] (рис. 8).



РИС. 8.

Импакционная костная аутопластика [9]

FIG. 8. Impact bone autoplasty [9]

Также вариантом замещения концентрических дефектов типа C3, эксцентрических дефектов типа E1 по классификации A. Gupta, C. Thussbas, M. Koch, L. Seebauer, дефектов E2 и E3 по классификации Favard, дефектов B1 и B2 и C по классификации Walch является костная аутопластика трансплантатом с его фиксацией к суставной впадине лопатки, при необходимости [9] (рис. 9).

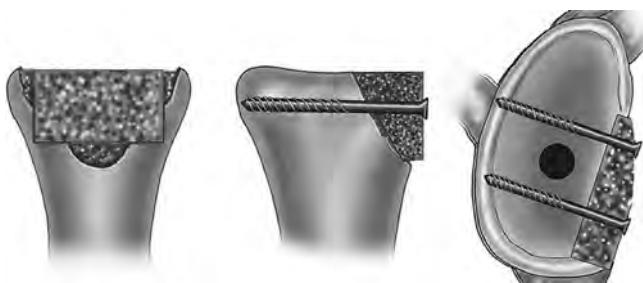


РИС. 9.

Костная аутопластика, методика фиксации трансплантата [9]

FIG. 9.

Bone autografting, graft fixation technique [9]

При выраженных дефектах гленоида типа E2, E3 в сочетании с центральными дефектами типа C3, дефектах E4, медиализации площадки гленоида при дефектах C4, A. Gupta, C. Thussbas, M. Koch, L. Seebauer предложены методики костной аутопластики «композитным» опорным трансплантатом с компенсацией дефекта и изменённого оффсета [9] (рис. 10).



РИС. 10.

Костный трансплантат с латерализацией и замещением дефекта гленоида [9]

FIG. 10.

Bone graft with lateralization and replacement of the glenoid defect [9]

Однако существуют ограничения по проведению одноэтапной костной пластики гленоида и установки лопаточного компонента эндопротеза, обусловленные выраженной нарушениями анатомии и характеристиками имплантата. Одними из условий возможности проведения успешной одноэтапной костной аутопластики гленоида, по данным литературных источников, являются контакт минимум 30–50 % поверхности метаглена или опорной площадки трансплантата с костью лопатки, установка ножки метаглена длиной минимум 8–10 мм (или минимум 50 % своей длины) в нативную костную ткань и воз-

можность проведения минимум двух винтов метаглена [9, 15, 17]. В противном случае, при наличии выраженных дефектов, остеопорозе и плохом качестве костной ткани, сомнительных прогнозах одномоментной костной пластики, рекомендуется прибегнуть к двухэтапному вмешательству [9, 15]. Первым этапом производится костная аутопластика гленоида с фиксацией трансплантата, резекция головки плечевой кости. Далее, после подтверждения консолидации трансплантата по результатам компьютерной томографии, производят второй этап операции – реверсивную артропластику плечевого сустава. В данных литературы описан опыт двухэтапного оперативного лечения дефектов типа E3, E4 в сочетании с C4 по вышеизложенной классификации [9].

Одним из методов улучшения консолидации трансплантата является использование достижений биотехнологии. Доказано, что применение технологии PRP улучшает процесс интеграции, консолидации неваскуляризованных аутотрансплантатов [18, 19]. Это характеризуется более быстрым сращением трансплантатов и образованием более качественной (плотной) костной ткани [18, 19]. Исходя из основных принципов тканевого инжиниринга, с целью активизации репаративной регенерации костной ткани, наибольшего эффекта возможно добиться при применении технологии совместной имплантации, обогащённой тромбоцитами аутоплазмы (PRP-геля) в сочетании с гранулами биокомпозиционного материала КоллапАн, разработанной в ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова». За счёт синергизма действия КоллапАна и аутологичной пазмы, насыщенной тромбоцитами, наблюдается значительная активация репаративной регенерации костной ткани, причём в исследованиях процессы образования и созревания кости выражены в большей степени, чем при использовании КоллапАна и аутоплазмы в отдельности [20–25]. Положительный эффект влияния КоллапАна на индуцирование репаративного остеогенеза объясняется тем, что входящий в состав КоллапАна экзогенный коллаген является хематрактантом для эндотелиоцитов и мезенхимальных клеток-предшественников остеобластов. Опосредованные активностью продуктов растворения гранул КоллапАна и биоактивных молекул тканевой жидкости (эндогенные костные морфогенетические и остеогенные белки, фибронектин, остеопонтин, ламинин и др.) механизмы хемотаксиса и клеточной активности остеобластов и их клеток-предшественников проявляются в их прикреплении, пролиферации и дифференцировке, в образовании межклеточного матрикса костной ткани. Также в процессе постепенной резорбции искусственного гидроксиапатита КоллапАна в тканях организма выделяются ионы кальция и фосфата, которые взаимодействуют с ионами тканевой жидкости с последующей пропитацией, впоследствии формируя слой биологического гидроксиапатита на поверхности имплантата. Немаловажный фактор остеорепарации, которым является подавление инфекции в очаге, обусловлен постепенным выделением из гранул связанных с коллагеном антибактериальных препаратов [20]. Синтетический материал КоллапАн, который обладает остеоиндуктивными

и остеокондуктивными свойствами, является оптимальной матрицей для иммобилизации необходимых ростовых факторов и цитокинов, биологически активных веществ, клеточных элементов, способствующих активизации репаративного остеогенеза, предотвращению развития и подавлению инфекционного процесса [20].

В случаях наличия дефектов и выраженного снижения минеральной плотности костной ткани суставной впадины лопатки, даже при наличии вышеизложенных условий, позволяющих выполнить одноэтапную костную пластику дефекта, качество костной ткани может быть недостаточным для стабильной фиксации и интеграции имплантата. Несмотря на корректную установку и проведение длинных винтов в оптимальной траектории, повторяющиеся нагрузки на имплант и его микроподвижность могут приводить к асептической нестабильности при остеопорозе.

Выраженная рарефикация, снижение плотности костной ткани по данным КТ (ниже 139 HU), заставляет задуматься о наличии системного патологического процесса, не ограничивающегося локальным поражением плечевого сустава [11]. Снижение минеральной плотности костной ткани наблюдается при остеопорозе и остеопении. Интересен тот факт, что измерение единиц Хаунсфилда суставной впадины лопатки может являться достоверным диагностическим критерием при изменении минеральной плотности костной ткани на организменном уровне [11]. В исследовании пациенты с показателями единиц Хаунсфилда выше порогового значения 257 имели нормальную минеральную плотность костной ткани [11]. У 100 % пациентов с показателями ниже 139 HU был диагностирован остеопороз или остеопения [11]. В нашем Центре данным пациентам назначается обследование, которое включает денситометрию и анализы крови и мочи (общий белок, белковые фракции, кальций крови и суточной мочи, фосфор крови и суточной мочи, щелочная фосфатаза, ионизированный кальций, креатинин, мочевина, дезоксирибонуклеиновая кислота утренней мочи, клинический анализ крови и мочи, паратгормон, остеокальцин, β -cross-laps, витамин D крови) для дальнейшей консультации специалистов по лечению остеопороза. Пациенты получали терапию остеопороза, после которого выполнялось хирургическое лечение. На время проведения лечения и коррекции костного метаболизма принципиально важна активная реабилитация пациента для профилактики атрофии дельтовидной мышцы, поддержания объёма движений в плечевом суставе.

Вариантом восполнения дефектов костной ткани и корректной установки метаглена при рисках несращения, лизиса трансплантата, является использование специальных аугментов и аугментированных модернизированных метагленов [13, 15].

Модернизированные, видоизменённые метаглены и техника обработки гленоида фрезой могут применяться при центральных дефектах, «пролапса» головки плечевой кости типа A2 по классификации Walch [13]. При обработке гленоида фрезами для установки метаглена с плоским основанием происходит чрезмерное нецелесообразное удаление сохранной костной ткани и создание нежела-

тельного оффсета. Методом решения этой проблемы и формирования костного ложа для установки специального метаглена с изогнутым основанием является обработка гленоида специальной фрезой [13] (рис. 11). Кроме того, некоторые исследования показывают, что данные типы имплантов характеризуются лучшим контактом с костной тканью, большим сопротивлением нагрузкам [13].

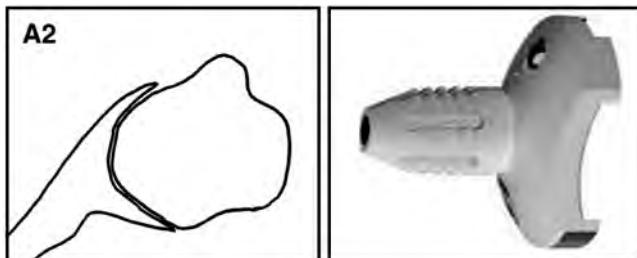


РИС. 11.

Вид дефекта и специального гленоидального компонента [13]

FIG. 11.

Type of defect and special glenoid component [13]

Существуют методики использования аугментов и аугментированных метагленов и для компенсации эксцентричных дефектов [13]. Исследования ранних клиновидных аугментов в анатомических имплантатах показали высокую частоту неблагоприятных результатов на протяжении 10-летнего наблюдения [17]. Однако в последнее время внедряется технология использования аугментов и аугментированных имплантатов из трабекулярного металла, которые, учитывая лучшие свойства остеоинтеграции, показали отличные ранние результаты, тем самым возобновив интерес к использованию аугментов [17]. Так, при дефектах типа B1, B2, C по Walch, E1–3 по Favard используются специальные аугментированные метаглены [12, 13]. Проблему верхней инклинации суставной поверхности, что прослеживается при артропатиях с несостоительностью ротаторной манжеты, возможно решить при помощи метагленов с наклонным основанием с предварительной эксцентричной обработкой или без неё [26] (рис. 12).



РИС. 12.

Гленоидальные компоненты с наклонным основанием [26]

FIG. 12.

Glenoid components with an inclined baseplate [26]

При наличии многоплоскостных, сложных и иных дефектов, которые невозможно заместить видоизменён-

ными «стандартными» промышленными метагленами, применима технология замещения индивидуальными компонентами, выполненными при помощи 3D-печати [27] (рис. 13).

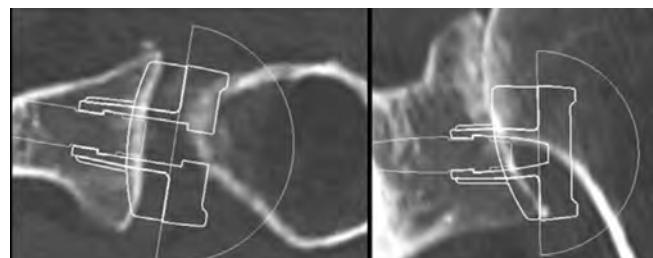


РИС. 13.

КТ-планирование для изготовления индивидуального гленоидального компонента [27]

FIG. 13.

CT planning for fabrication of a customized glenoid component [27]

При выраженных изменениях гленоида, грубой потере костной массы, при невозможности установки хотя бы 10 мм ножки метаглена и двух винтов для достаточной стабильности существуют методики изготовления индивидуальных протезных систем с альтернативными участками фиксации и траекториями проведения винтов [13, 15, 17] (рис. 14).

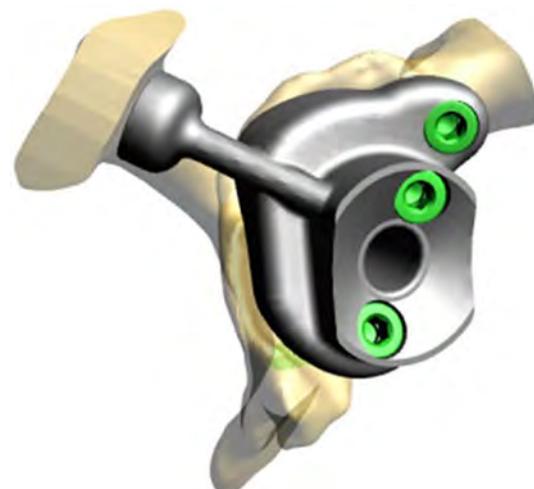


РИС. 14.

Индивидуальный компонент с альтернативными зонами фиксации к лопатке [17]

FIG. 14.

An individual component with alternative zones of fixation to the scapula [17]

Учитывая сложность изготовления и операции эндо-протезирования подобным имплантатом, индивидуальные прогнозы ближайших и отдалённых результатов лечения, необходимо дифференцированно подходить к выбору данной методики. В случаях, когда функциональные потребности пациента снижены, присутствует выражен-

ная гипотрофия мышечной ткани рекомендовано ограничиться резекционной артропластикой или установкой гемиэндопротеза [15, 17]. Некоторые авторы, столкнувшись с неудовлетворительными результатами двухэтапной пластики гленоида, рассматривают индивидуальный протез как актуальный вариант решения проблемы эндо-протезирования при наличии выраженных дефектов [15].

В своей практике эндо-протезирования мы разработали систему и алгоритм нивелирования дефектов гленоида в зависимости от его морфологии в соответствии с действующими классификациями. В клинической практике современная классификация, разработанная A. Gupta, C. Thussbas, M. Koch, L. Seebauer, наиболее удобна, так как учитывает локализацию и размеры дефектов суставной впадины лопатки [9]. Данную информацию удобно систематизировать в виде упрощённой таблицы, принимая во внимание то, что деформация гленоида может быть многоплоскостной, и унифицировать всё разнообразие возможных морфологий не представляется возможным (табл. 1).

Кроме того, минеральная плотность костной ткани в области деформации может быть изменена, что также влияет на тактику лечения. На основании кадaverных исследований лопаток без проявлений остеоартроза отмечено, что наибольшая толщина кортикальной кости находится на медиальной и латеральной границах тела лопатки, ости лопатки и в акромиальном отростке [28]. В свою очередь латеральная часть лопаточной ости обладает большим по объёму массивом костной ткани, чем медиальный [28]. Учитывая то, что вдоль основания клювовидного отростка, латерального края лопатки и лопаточной ости определяется наиболее плотное расположение кортикальной кости, проведение винтов метаглена через эти зоны является потенциально лучше для обеспечения стабильности импланта [28]. На траекторию верхнего и заднего винтов в значительной степени влияет решение хирурга, подвергать ли риску надлопаточный нерв или нет. Надлопаточный нерв берет на-

чало на 3 см выше ключицы, затем следует латерально через задний треугольник шеи, через среднюю лестничную мышцу в надключичную ямку в толще лопаточно-подъязычной мышцы. Далее нерв продолжает следовать в латеральном направлении и через надлопаточную вырезку попадает в надостную ямку, где непосредственно контактирует с надостной мышцей. Надлопаточный нерв иннервирует надостную и подостную мышцы, капсулу плечевого сустава [28] (рис. 15).

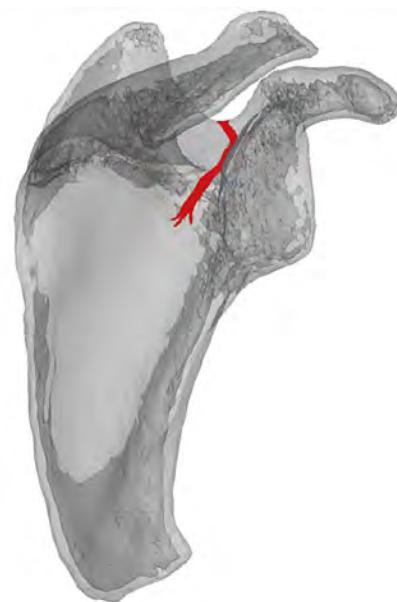


РИС. 15.
Топография надлопаточного нерва [28]

FIG. 15.
Topography of the suprascapular nerve [28]

На основании литературных данных, существует две тенденции к проведению винтов метаглена [28]. Соглас-

ТАБЛИЦА 1
ИЗМЕНЁННАЯ МОРФОЛОГИЯ ГЛЕНОИДА
И ПУТИ ЕЁ РЕШЕНИЯ

TABLE 1
ALTERED MORPHOLOGY OF THE GLENOID
AND WAYS TO SOLVE IT

| Методы | Вид дефекта | | | | | | | |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | Центральные | | | | Эксцентричные | | | |
| | C1 | C2 | C3 | C4 | E1 (A, P, I, S) | E2 (A, P, I, S) | E3 (A, P, I, S) | E4 (A, P, I, S) |
| Техники обработки фрезой | + | Не применяется | | | + | + | Не применяется | |
| Костная пластика | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Аугментация | Не применяется | + | Не применяется | Не применяется | Не применяется | + | + | Не применяется |
| Индивидуальный протез | Не применяется | | + | | Не применяется | | + | |

но первой методике, принимая во внимание топографию нейроваскулярных структур, каждый винт позиционируется согласно следующим критериям:

- 1) диаметр винта на всём своём протяжении проходит внутрикостно;
- 2) винт входит и заканчивается в области, содержащей максимально толстый слой плотной костной ткани;
- 3) для каждой определённой области используются максимально длинные винты;
- 4) винт не оппонирует с другими винтами.

Второй сценарий предполагает следующие возможности позиционирования винтов:

- 1) винт при установке своим диаметром может выходить за пределы костной ткани и повторно входить в неё;
- 2) винт входит и заканчивается в области, содержащей максимально толстый слой плотной костной ткани;
- 3) для каждой определённой области используются максимально длинные винты;
- 4) винт не оппонирует с другими винтами;
- 5) винт может проходить внекостно через известные области прохождения нейрососудистых образований.

Таким образом, руководствуясь первой методикой, верхний винт метаглена стоит располагать по траектории на 10 мм ниже надлопаточной вырезки во избежание травмирования надостного нерва [28]. При второй методике верхний винт рекомендовано устанавливать по направлению к основанию клювовидного отростка лопатки через латеральную стенку надлопаточной вырезки, тем самым проводя его через области с наиболее большим количеством плотной костной ткани (рис. 16) [28]. На основании исследований, оптимальной зоной проведения заднего винта является латеральная часть ости лопатки (рис. 17) [28]. Однако, согласно требованиям методики предохранения нервных стволов от травмирования, достичь этой зоны без выхода через спиногленоидальную вырезку невозможно [28]. Соответственно, зона для имплантации заднего винта имеет весьма ограниченный объём [28]. Применение техники «in-out-in» с выходом винта из гленоида и повторным

вхождением в плотную костную ткань лопатки позволяет проводить длинные винты (30–40 мм), обеспечивая стабильную фиксацию [15, 28]. Основываясь на анализе расчётов плотности костной ткани, ориентирование нижнего винта в направлении книзу проходит через плотную костную ткань на стыке шейки гленоида и наружного края лопатки (рис. 16) [28].

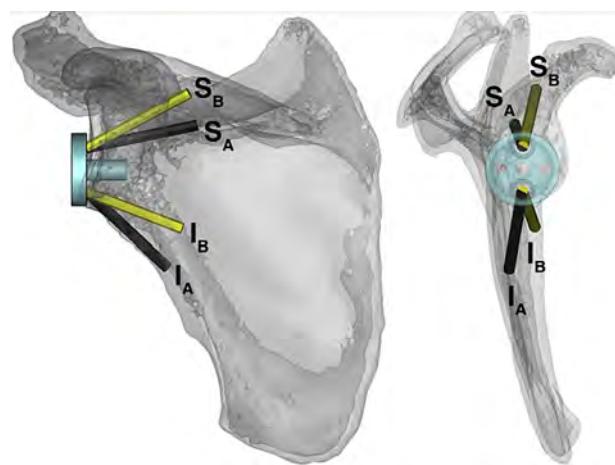


РИС. 16.

Проведение верхнего (S) и нижнего (I) винтов: А – первая методика; В – вторая методика [28]

FIG. 16.

Passing the upper (S) and lower (I) screws: А – the first technique; В – the second technique [28]

Качество костной ткани гленоида неоднородно и меняется на коротких расстояниях [8, 28]. При дегенеративно-дистрофических заболеваниях плечевого сустава морфология лопатки может меняться не только с учётом деформаций и дефектов. При изменении формы и структуры сустава перераспределяются нагрузки на лопатку и плечевую кость, что ведёт к качественному

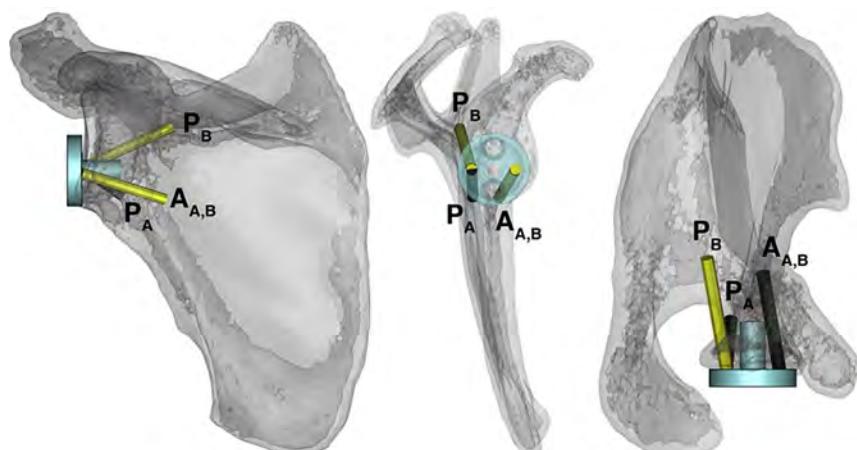


РИС. 17.

Проведение заднего (P) и переднего (A) винтов: А – первая методика; В – вторая методика [28]

FIG. 17.

Passing the rear (P) and front (A) screws: А – the first method; В – the second method [28]

изменению самой костной ткани, её плотности. Поэтому при каждом случае артропластики необходим индивидуальный подход и предоперационное планирование.

По данным литературы, многочисленные исследования были направлены на характеристику костной анатомии лопатки, но лишь немногие – на количественный анализ качества костной ткани для того, чтобы предложить оптимальное направление для проведения винтов [15, 14, 28]. Интраоперационно трудно определить оптимальную траекторию проведения винтов [28]. Это зачастую приводит к неоднократному рассверливанию каналов, что приводит к ослаблению кости и потенциальному ослаблению конструкции [28]. Предоперационное планирование и измерение единиц плотности костной ткани по Хаунсфилду во фронтальной и аксиальной плоскостях на КТ служит полезным инструментом для определения траектории проведения винтов метаглена [14]. В своих исследованиях A.R. Hopkins и соавторы выявили, что увеличение длины винтов метаглена до 30 мм уменьшает микроподвижность на 30 % [цит. по 15]. Также, увеличение угла наклона винта по отношению к ножке метаглена увеличивает стабильность имплантата [15]. Соответственно, оптимальным будет имплантация штифта метаглена не менее 10 см в гленоид и проведение верхнего и нижнего винтов метаглена длиной не менее 30 мм [15].

Расчёт траектории ножки метаглена и винтов на основании морфологии лопатки и плотности костной ткани в HU по данным КТ мы осуществляем следующим образом. Первым этапом производится масштабно достоверное моделирование используемых метагленов и винтов (рис. 18).



РИС. 18.

Моделирование метаглена и винта

FIG. 18.

Modeling of metaglene and screw

Далее производился расчёт единиц Хаунсфилда суставной впадины лопатки в области предполагаемой зоны проведения ножки метаглена в аксиальной, фронтальной и сагиттальной плоскостях с учётом его корректного позиционирования и недопущения нотчинг-синдрома (рис. 19).

В приведённом примере (рис. 19) в аксиальной плоскости, по данным расчёта единиц Хаунсфилда, выявлена наибольшая плотность костной ткани в направлениях А и Г со средними арифметическими значениями 350,4 и 310,8 HU соответственно. Однако с учётом корректного

позиционирования метаглена, стенками канала метаглена могут быть направления С и F с приемлемыми, высокими показателями единиц Хаунсфилда. Тем самым становится понятно, что оптимальной зоной рассверливания и проведения ножки метаглена являются направления D и E, так как проведённая по каналу ножка будет окружена стенками из плотной костной ткани. Также производится расчёт позиционирования метаглена во фронтальной и сагиттальной плоскостях.

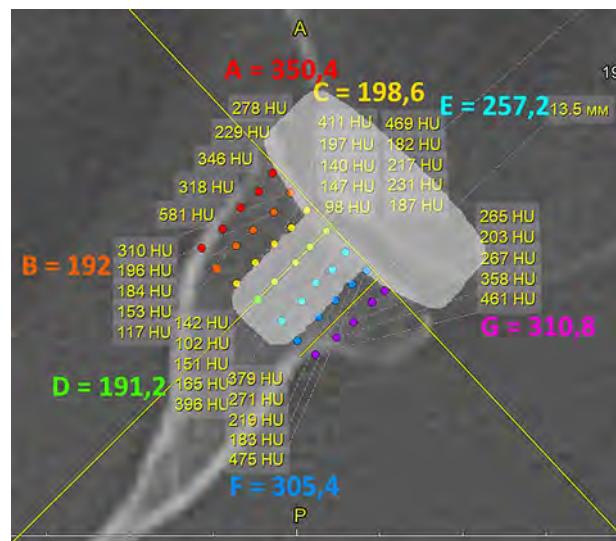


РИС. 19.

Моделирование позиционирования гленоидального компонента по КТ (аксиальная плоскость)

FIG. 19.

Modeling the positioning of the glenoid component by CT (axial plane)

Подобным образом производился расчёт плотности костной ткани и моделирование длины и направления проведения винтов (рис. 20).

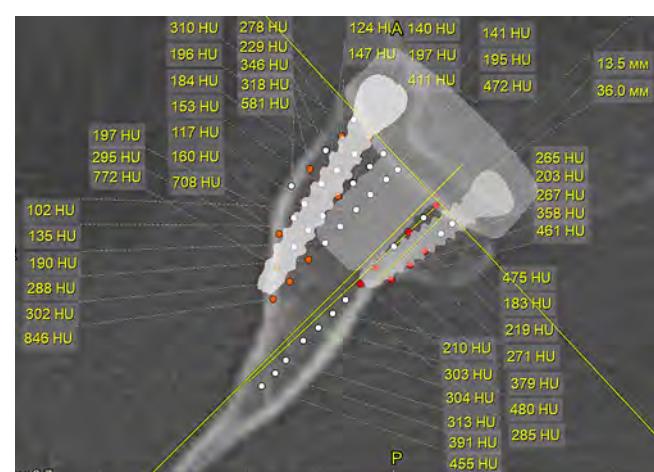


РИС. 20.

Моделирование позиционирования винтов по КТ (аксиальная плоскость)

FIG. 20.

Modeling the positioning of screws by CT (axial plane)

С целью определения оптимальной траектории проведения винтов по данным разметки плотности костной ткани гленоида избирались точки с наибольшими показателями HU. С целью достижения максимальной надёжности и устойчивости винтов к дестабилизирующему нагрузкам, их целесообразно проводить через зоны с максимальными показателями HU или около них, причём рекомендовано проводить максимально возможные длинные винты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании анализа отечественной литературы не выявлено достаточного количества данных о решении проблемы патологии гленоида при реверсивном эндопротезировании плечевого сустава. В изученных нами иностранных источниках вопросы деформации и качественного состояния костной ткани лопатки рассмотрены более подробно, однако не прослеживается комплексного подхода к диагностике и решению данной проблемы при эндопротезировании плечевого сустава. Принимая в учёт разнообразие деформаций суставной впадины лопатки, возможность количественной оценки состояния костной ткани, зная и имея в арсенале различные методики замещения костных дефектов и методы лечения поражения костной ткани, на современном этапе развития ортопедии мы имеем пути решения тяжёлых клинических случаев при реверсивном эндопротезировании плечевого сустава.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Кесян Г.А., Карапетян Г.С., Шуйский А.А., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Кесян О.Г. Особенности выполнения реверсивной артроскопии плечевого сустава в условиях дефектов и дефицита костной массы суставной впадины лопатки. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2021; 17(3): 449-452.
- Lädermann A, Schwitzguebel AJ, Edwards TB, Godenecche A, Favard L, Walch G, et al. Glenoid loosening and migration in reverse shoulder arthroplasty. *Bone Joint J.* 2019; 101-B(4): 461-469. doi: 10.1302/0301-620X.101B4.BJJ-2018-1275.R1
- Gates S, Sager B, Khazzam M. Preoperative glenoid considerations for shoulder arthroplasty: A review. *EFORT Open Rev.* 2020; 5(3): 126-137. doi: 10.1302/2058-5241.5.190011
- Seidl AJ, Williams GR, Boileau P. Challenges in reverse shoulder arthroplasty: Addressing glenoid bone loss. *Orthopedics*. 2016; 39(1): 14-23. doi: 10.3928/01477447-20160111-01
- Jean K. Classifications of glenoid dysplasia, glenoid bone loss and glenoid loosening: A review of literature. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2013; 23(3): 301-310. doi: 10.1007/s00590-012-1119-4
- Eichinger JK, Galvin JW, Grassbaugh JA, Parada SA, Li X. Glenoid dysplasia. *J Bone Joint Surg Am.* 2016; 98(11): 958-968. doi: 10.2106/jbjs.15.00916
- Abbound JA, Bateman DK, Barlow J. Glenoid dysplasia. *JAAOS.* 2016; 24(5): 327-336. doi: 10.5435/JAAOS-D-15-00032
- Letissier H, Chaoui J, Bercik MJ, Boileau P, Le Nen D, Stindel E, et al. Glenoid subchondral bone density in osteoarthritis: A comparative study of asymmetric and symmetric erosion patterns. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2020; 106(6): 1127-1134. doi: 10.1016/j.otsr.2020.06.004
- Gupta A, Thussbas C, Koch M, Seebauer L. Management of glenoid bone defects with reverse shoulder arthroplasty – surgical technique and clinical outcomes. *J Shoulder Elbow Surg.* 2017; 27(5): 853-862. doi: 10.1016/j.jse.2017.10.004
- Кесян Г.А., Карапетян Г.С., Шуйский А.А., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Кесян О.Г. и др. Реверсивное эндопротезирование плечевого сустава при дефектах гленоида с использованием первично-ревизионного метаглена. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.* 2021; 28(2): 13-20. doi: 10.17816/vto64589
- Кесян Г.А., Карапетян Г.С., Шуйский А.А., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Кесян О.Г. Диагностика и методы решения снижения минеральной плотности костной ткани и деформаций суставной впадины лопатки при реверсивной артроскопии плечевого сустава. *Acta Biomedica Scientifica.* 2022; 7(1): 154-160. doi: 10.29413/ABS.2022-7.1.18
- Virk M, Yip M, Liuzza L, Abdelshahed M, Paoli A, Grey S, et al. Clinical and radiographic outcomes with a posteriorly augmented glenoid for Walch B2, B3, and C glenoids in reverse total shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg.* 2020; 29(5): 196-204. doi: 10.1016/j.jse.2019.09.031
- Mourad W, Wiater JM, Wiater BP, Martusiewicz A. Base-plate options for reverse total shoulder arthroplasty. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2020; 13(6): 769-775. doi: 10.1007/s12178-020-09677-1
- Mahaffy MD, Knowles NK, Berkmarotel C, Abdic S, Walch G, Johnson JA, et al. Density distribution of the type E2 glenoid in cuff tear arthropathy. *Shoulder Elbow Surg.* 2020; 29(1): 167-174. doi: 10.1016/j.jse.2019.05.046
- Malhas A, Rashid A, Copas D, Bale S, Trail I. Glenoid bone loss in primary and revision shoulder arthroplasty. *Shoulder Elbow.* 2016; 8(4): 229-240. doi: 10.1177/1758573216648601
- Кесян Г.А., Карапетян Г.С., Шуйский А.А., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Кесян О.Г. Алгоритм выполнения реверсивного эндопротезирования плечевого сустава при дефиците костной массы лопатки. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: естественные и технические науки.* 2021; 7: 190-193. doi: 10.37882/2223-2966.2021.07.19
- Porcellini G, Micheloni GM, Tarallo L, Paladini P, Merolla G, Catani F. Custom-made reverse shoulder arthroplasty for severe glenoid bone loss: Review of the literature and our preliminary results. *J Orthop Traumatol.* 2021; 22(1): 2. doi: 10.1186/s10195-020-00564-6
- Desai AP, Sahoo N, Pal AK, Roy Chowdhury SK. Efficacy of platelet-rich plasma in enhancing the osteogenic potential of bone graft in oral and maxillofacial region. *J Maxillofac Oral Surg.* 2021; 20(2): 282-295. doi: 10.1007/s12663-020-01378-z
- Kumar KA, Rao JB, Pavan Kumar B, Mohan AP, Patil K, Parimala K. A prospective study involving the use of platelet rich plasma in enhancing the uptake of bone grafts in the oral and maxillofacial region. *J Maxillofac Oral Surg.* 2013; 12(4): 387-394. doi: 10.1007/s12663-012-0466-3

20. Берченко Г.Н., Кесян Г.А., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Микелаишвили Д.С., Болбут М.В. Сравнительное экспериментально-морфологическое исследование влияния некоторых используемых в травматолого-ортопедической практике кальций-фосфатных материалов на активизацию репаративного остеогенеза. *Acta Biomedica Scientifica*. 2006; 4(50): 327-332.
21. Берченко Г.Н., Кесян Г.А. Использование композиционного материала КоллапАн в травматологии и ортопедии для активизации репаративного остеогенеза. *Гены и клетки*. 2017; 12(3): 42-43.
22. Кесян Г.А., Берченко Г.Н., Уразгильдеев Р.З., Микелаишвили Д.С., Шулашов Б.Н. Сочетанное применение обогащённой тромбоцитами аутоплазмы и биокомпозиционного материала коллапАн в комплексном лечении больных с длительно не-срастающимися переломами и ложными суставами длинных костей конечностей. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2011; 2: 26-32.
23. Берченко Г.Н., Кесян Г.А., Микелаишвили Д.С. Применение биокомпозиционного наноструктурированного препарата КоллапАн и обогащённой тромбоцитами аутоплазмы в инжиниринге костной ткани. *Травма*. 2010; 11(1): 7.
24. Кесян Г.А., Берченко Г.Н., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Микелаишвили Д.С., Карапетян Г.С. Комплексное лечение переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей с использованием отечественного биокомпозиционного препарата КоллапАн. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2008; 9: 24-33.
25. Кесян Г.А., Берченко Г.Н. Обоснование использования отечественного биокомпозиционного препарата КоллапАн в комплексном лечении переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2008; 9: 3.
26. Liuzza L, Mai DH, Grey S, Wright TW, Flurin PH, Roche CP, et al. Reverse total shoulder arthroplasty with a superior augmented glenoid component for Favard type-E1, E2, and E3 glenoids. *J Bone Joint Surg Am*. 2020; 102(21): 1865-1873. doi: 10.2106/JBJS.19.00946
27. Abdic S, Knowles NK, Walch G, Johnson JA, Athwal GS. Type E2 glenoid bone loss orientation and management with augmented implants. *J Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(7): 1460-1469. doi: 10.1016/j.jse.2019.11.009
28. DiStefano JG, Park AY, Nguyen TQD, Diederichs G, Buckley JM, Montgomery III WH. Optimal screw placement for base plate fixation in reverse total shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg*. 2011; 20(3): 467-476. doi: 10.1016/j.jse.2010.06.001
3. Gates S, Sager B, Khazzam M. Preoperative glenoid considerations for shoulder arthroplasty: A review. *EFORT Open Rev*. 2020; 5(3): 126-137. doi: 10.1302/2058-5241.5.190011
4. Seidl AJ, Williams GR, Boileau P. Challenges in reverse shoulder arthroplasty: Addressing glenoid bone loss. *Orthopedics*. 2016; 39(1): 14-23. doi: 10.3928/01477447-20160111-01
5. Jean K. Classifications of glenoid dysplasia, glenoid bone loss and glenoid loosening: A review of literature. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 2013; 23(3): 301-310. doi: 10.1007/s00590-012-1119-4
6. Eichinger JK, Galvin JW, Grassbaugh JA, Parada SA, Li X. Glenoid dysplasia. *J Bone Joint Surg Am*. 2016; 98(11): 958-968. doi: 10.2106/jbjs.15.00916
7. Abbound JA, Bateman DK, Barlow J. Glenoid dysplasia. *JAAOS*. 2016; 24(5): 327-336. doi: 10.5435/JAAOS-D-15-00032
8. Lettissier H, Chaoui J, Bercik MJ, Boileau P, Le Nen D, Stindel E, et al. Glenoid subchondral bone density in osteoarthritis: A comparative study of asymmetric and symmetric erosion patterns. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2020; 106(6): 1127-1134. doi: 10.1016/j.jotsr.2020.06.004
9. Gupta A, Thussbas C, Koch M, Seebauer L. Management of glenoid bone defects with reverse shoulder arthroplasty – surgical technique and clinical outcomes. *J Shoulder Elbow Surg*. 2017; 27(5): 853-862. doi: 10.1016/j.jse.2017.10.004
10. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG, et al. Reverse shoulder arthroplasty for glenoid defects using primary revision metaglene. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2021; 28(2): 13-20. (In Russ.). doi: 10.17816/vto64589
11. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG. Diagnosis and methods for solving a decrease in bone mineral density and deformities of the glenoid cavity of the scapula in reverse arthroplasty of the shoulder joint. *Acta Biomedica Scientifica*. 2022; 154-160. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2022-7.1.18
12. Virk M, Yip M, Liuzza L, Abdelshahed M, Paoli A, Grey S, et al. Clinical and radiographic outcomes with a posteriorly augmented glenoid for Walch B2, B3, and C glenoids in reverse total shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(5): 196-204. doi: 10.1016/j.jse.2019.09.031
13. Mourad W, Wiater JM, Wiater BP, Martusiewicz A. Baseplate options for reverse total shoulder arthroplasty. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2020; 13(6): 769-775. doi: 10.1007/s12178-020-09677-1
14. Mahaffy MD, Knowles NK, Berkmarotel C, Abdic S, Walch G, Johnson JA, et al. Density distribution of the type E2 glenoid in cuff tear arthropathy. *Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(1): 167-174. doi: 10.1016/j.jse.2019.05.046
15. Malhas A, Rashid A, Copas D, Bale S, Trail I. Glenoid bone loss in primary and revision shoulder arthroplasty. *Shoulder Elbow*. 2016; 8(4): 229-240. doi: 10.1177/1758573216648601
16. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG. Algorithm for performing reverse arthroplasty of the shoulder joint with a deficiency of the bone mass of the scapula. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: natural and technical sciences*. 2021; 7: 190-193. doi: 10.37882/2223-2966.2021.07.19
17. Porcellini G, Micheloni GM, Tarallo L, Paladini P, Merolla G, Catani F. Custom-made reverse shoulder arthroplasty for severe glenoid bone loss: Review of the literature and our preliminary

REFERENCES

1. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG. Features of performing reverse arthroplasty of the shoulder joint in conditions of defects and deficiency of bone mass of the glenoid cavity of the scapula. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2021; 17(3): 449-452. (In Russ.).
2. Lädermann A, Schwitzguebel AJ, Edwards TB, Godenche A, Favard L, Walch G, et al. Glenoid loosening and migration in reverse shoulder arthroplasty. *Bone Joint J*. 2019; 101-B(4): 461-469. doi: 10.1302/0301-620X.101B4.BJJ-2018-1275.R1
3. Gates S, Sager B, Khazzam M. Preoperative glenoid considerations for shoulder arthroplasty: A review. *EFORT Open Rev*. 2020; 5(3): 126-137. doi: 10.1302/2058-5241.5.190011
4. Seidl AJ, Williams GR, Boileau P. Challenges in reverse shoulder arthroplasty: Addressing glenoid bone loss. *Orthopedics*. 2016; 39(1): 14-23. doi: 10.3928/01477447-20160111-01
5. Jean K. Classifications of glenoid dysplasia, glenoid bone loss and glenoid loosening: A review of literature. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 2013; 23(3): 301-310. doi: 10.1007/s00590-012-1119-4
6. Eichinger JK, Galvin JW, Grassbaugh JA, Parada SA, Li X. Glenoid dysplasia. *J Bone Joint Surg Am*. 2016; 98(11): 958-968. doi: 10.2106/jbjs.15.00916
7. Abbound JA, Bateman DK, Barlow J. Glenoid dysplasia. *JAAOS*. 2016; 24(5): 327-336. doi: 10.5435/JAAOS-D-15-00032
8. Lettissier H, Chaoui J, Bercik MJ, Boileau P, Le Nen D, Stindel E, et al. Glenoid subchondral bone density in osteoarthritis: A comparative study of asymmetric and symmetric erosion patterns. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2020; 106(6): 1127-1134. doi: 10.1016/j.jotsr.2020.06.004
9. Gupta A, Thussbas C, Koch M, Seebauer L. Management of glenoid bone defects with reverse shoulder arthroplasty – surgical technique and clinical outcomes. *J Shoulder Elbow Surg*. 2017; 27(5): 853-862. doi: 10.1016/j.jse.2017.10.004
10. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG, et al. Reverse shoulder arthroplasty for glenoid defects using primary revision metaglene. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2021; 28(2): 13-20. (In Russ.). doi: 10.17816/vto64589
11. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG. Diagnosis and methods for solving a decrease in bone mineral density and deformities of the glenoid cavity of the scapula in reverse arthroplasty of the shoulder joint. *Acta Biomedica Scientifica*. 2022; 154-160. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2022-7.1.18
12. Virk M, Yip M, Liuzza L, Abdelshahed M, Paoli A, Grey S, et al. Clinical and radiographic outcomes with a posteriorly augmented glenoid for Walch B2, B3, and C glenoids in reverse total shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(5): 196-204. doi: 10.1016/j.jse.2019.09.031
13. Mourad W, Wiater JM, Wiater BP, Martusiewicz A. Baseplate options for reverse total shoulder arthroplasty. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2020; 13(6): 769-775. doi: 10.1007/s12178-020-09677-1
14. Mahaffy MD, Knowles NK, Berkmarotel C, Abdic S, Walch G, Johnson JA, et al. Density distribution of the type E2 glenoid in cuff tear arthropathy. *Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(1): 167-174. doi: 10.1016/j.jse.2019.05.046
15. Malhas A, Rashid A, Copas D, Bale S, Trail I. Glenoid bone loss in primary and revision shoulder arthroplasty. *Shoulder Elbow*. 2016; 8(4): 229-240. doi: 10.1177/1758573216648601
16. Kesyan GA, Karapetyan GS, Shuyskiy AA, Urazgil'deev RZ, Arsenyev IG, Kesyan OG. Algorithm for performing reverse arthroplasty of the shoulder joint with a deficiency of the bone mass of the scapula. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: natural and technical sciences*. 2021; 7: 190-193. doi: 10.37882/2223-2966.2021.07.19
17. Porcellini G, Micheloni GM, Tarallo L, Paladini P, Merolla G, Catani F. Custom-made reverse shoulder arthroplasty for severe glenoid bone loss: Review of the literature and our preliminary

- results. *J Orthop Traumatol.* 2021; 22(1): 2. doi: 10.1186/s10195-020-00564-6
18. Desai AP, Sahoo N, Pal AK, Roy Chowdhury SK. Efficacy of platelet-rich plasma in enhancing the osteogenic potential of bone graft in oral and maxillofacial region. *J Maxillofac Oral Surg.* 2021; 20(2): 282-295. doi: 10.1007/s12663-020-01378-z
19. Kumar KA, Rao JB, Pavan Kumar B, Mohan AP, Patil K, Parimala K. A prospective study involving the use of platelet rich plasma in enhancing the uptake of bone grafts in the oral and maxillofacial region. *J Maxillofac Oral Surg.* 2013; 12(4): 387-394. doi: 10.1007/s12663-012-0466-3
20. Berchenko GN, Kesyan GA, Urazgil'deев RZ, Arsenyev IG, Mikelaishvili DS, Bolbut MV. Comparative experimental and morphological study of the effect of some calcium phosphate materials used in traumatological and orthopedic practice on the activation of reparative osteogenesis. *Acta Biomedica Scientifica.* 2006; 4(50): 327-332. (In Russ.).
21. Berchenko GN, Kesyan GA. The use of composite material CollapAn in traumatology and orthopedics to activate reparative osteogenesis. *Genes and Cells.* 2017; 12(3): 42-43. (In Russ.).
22. Kesyan GA, Berchenko GN, Urazgil'deев RZ, Mikelaishvili DS, Shulashov BN. Combined use of platelet-rich autoplasma and collapAn biocomposite material in the complex treatment of patients with long-term nonunion fractures and false joints of the long bones of the extremities. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics.* 2011; 2: 26-32. (In Russ.).
23. Berchenko GN, Kesyan GA, Mikelaishvili DS. Application of the biocomposite nanostructured drug CollapAn and platelet-rich autoplasma in bone tissue engineering. *Travma.* 2010; 11(1): 7. (In Russ.).
24. Kesyan GA, Berchenko GN, Urazgil'deев RZ, Arsenyev IG, Mikelaishvili DS, Karapetyan GS. Complex treatment of fractures and false joints of long tubular bones using the domestic biocomposite preparation CollapAn. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2008; 9: 24-33. (In Russ.).
25. Kesyan GA, Berchenko GN. Rationale for the use of the domestic biocomposite preparation CollapAn in the complex treatment of fractures and false joints of long tubular bones. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2008; 9: 3. (In Russ.).
26. Liuzza L, Mai DH, Grey S, Wright TW, Flurin PH, Roche CP, et al. Reverse total shoulder arthroplasty with a superior augmented glenoid component for Favard type-E1, E2, and E3 glenoids. *J Bone Joint Surg Am.* 2020; 102(21): 1865-1873. doi: 10.2106/JBJS.19.00946
27. Abdic S, Knowles NK, Walch G, Johnson JA, Athwal GS. Type E2 glenoid bone loss orientation and management with augmented implants. *J Shoulder Elbow Surg.* 2020; 29(7): 1460-1469. doi: 10.1016/j.jse.2019.11.009
28. DiStefano JG, Park AY, Nguyen TQD, Diederichs G, Buckley JM, Montgomery III WH. Optimal screw placement for base plate fixation in reverse total shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg.* 2011; 20(3): 467-476. doi: 10.1016/j.jse.2010.06.001

Сведения об авторах

Карапетян Григорий Сергеевич – кандидат медицинских наук, врач травматолог-ортопед отделения ортопедии взрослых, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» Минздрава России, e-mail: dr.karapetian@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3172-0161>

Шуйский Артём Анатольевич – кандидат медицинских наук, врач травматолог-ортопед, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» Минздрава России, e-mail: shuj-artyom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9028-3969>

Information about the authors

Grigoriy S. Karapetyan – Cand. Sc. (Med.), Traumatologist-Orthopedist at the Department of Adult Orthopedics, N.N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, e-mail: dr.karapetian@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3172-0161>

Artyom A. Shuyskiy – Cand. Sc. (Med.), Traumatologist-Orthopedist, N.N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, e-mail: shuj-artyom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9028-3969>

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ВЛИЯНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *SILENE JENISEENSIS* WILLD, НА СОСТОЯНИЕ ОСНОВНЫХ ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ

РЕЗЮМЕ

Хобракова В.Б.^{1, 2},
Халзанова А.В.²,
Оленников Д.Н.¹,
Абидуева Л.Р.²

¹ ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, Россия)

² ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Хобракова Валентина Бимбаевна,
e-mail: val0808@mail.ru

Обоснование. Поиск, разработка и внедрение новых средств, обладающих иммунотропным действием, являются одной из приоритетных задач современной иммунофармакологии. В многочисленных исследованиях доказана иммунотропная активность индивидуальных веществ, выделенных из лекарственных растений (флавоноидов, полисахаридов, экдистероидов, терпеноидов и др.). В настоящем исследовании представляет интерес определить иммуномодулирующее действие индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis* Willd.

Цель исследования. Определение иммуномодулирующей активности индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis*: флавоноида изоориентин-2"-О-рамнозида, полисахарида арабино-3,6-галактана и экдистероида 20-гидроксиэкдизона в условиях индуцированной циклофосфаном экспериментальной иммуносупрессии.

Методы. Эксперименты проведены на мышах линии F1 (CBAxC57Bl/6). Иммунодефицит моделировали внутрибрюшинным введением циклофосфана животным контрольной группы в дозе 250 мг/кг однократно. Опытные группы мышей получали испытуемые вещества 1 раз в сутки внутрижелудочно в течение 14 дней на фоне иммуносупрессии в следующих дозах: изоориентин-2"-О-рамнозид – 10 мг/кг, арабино-3,6-галактан – 3 мг/кг, 20-гидроксиэкдизон – 3 мг/кг. Действие веществ на клеточный иммунитет определяли в реакции гиперчувствительности замедленного типа, гуморальный иммунитет – в реакции антителообразования методом локально-гемолиза по А.Д. Cunningham. Фагоцитарную активность перitoneальных макрофагов исследовали в отношении частиц коллоидной туши.

Результаты. При введении изоориентин-2"-О-рамнозида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона у опытных животных отмечается повышение индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа в 1,3–1,4 раза, абсолютного и относительного числа антителообразующих клеток – в 1,4–1,7 раза, фагоцитарного индекса – в 1,2–1,5 раза по сравнению с данными в контрольной группе, что свидетельствует о нивелировании супрессивного действия циклофосфана на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов.

Заключение. Наиболее выраженным иммуномодулирующим действием обладают изоориентин-2"-О-рамнозид и арабино-3,6-галактан. Полученные данные позволяют рассматривать изучаемые вещества в качестве перспективных растительных иммуномодуляторов.

Ключевые слова: иммуномодулирующее действие, иммунодефицит, циклофосфан, *Silene jeniseensis*, изоориентин-2"-О-рамнозид, арабино-3,6-галактан, 20-гидроксиэкдизон

Статья получена: 09.12.2021

Статья принята: 10.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Хобракова В.Б., Халзанова А.В., Оленников Д.Н., Абидуева Л.Р. Влияние индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis* Willd, на состояние основных звеньев иммунитета при экспериментальном иммунодефиците. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 222-229. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.22

EFFECT OF INDIVIDUAL SUBSTANCES ISOLATED FROM *SILENE JENISEENSIS* WILLD ON THE STATE OF THE MAIN LINKS OF IMMUNITY AT EXPERIMENTAL IMMUNE DEFICIENCY

ABSTRACT

Khobrakova V.B.^{1,2},
Khalzanova A.V.²,
Oleznikov D.N.¹,
Abidueva L.R.²

¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Sakhanova str. 6, Ulan-Ude 670047, Russian Federation)

² Buryat State University named after D. Banzarov (Smolina str. 24a, Ulan-Ude 670000, Russian Federation)

Corresponding author:
Valentina B. Khobrakova,
e-mail: val0808@mail.ru

Introduction. The search, development and introduction of new drugs with an immunotropic effect are one of the priority tasks of modern immunopharmacology. Numerous studies have proven the immunotropic activity of individual substances isolated from medicinal plants (flavonoids, polysaccharides, ecdysteroids, terpenoids, etc.). In the present study, it is of interest to determine the immunomodulatory effect of individual substances isolated from *Silene jeniseensis* Willd.

The aim of the study. Determination of the immunomodulatory activity of individual substances isolated from *Silene jeniseensis*: flavonoid isoorientin-2"-O-rhamnoside, polysaccharide arabino-3.6-galactan and ecdysteroid 20-hydroxyecdysone under conditions of cyclophosphamide induced experimental immunosuppression.

Methods. Experiments were carried out on F1 (CBAxC57Bl/6) mice. Immunodeficiency was modeled by intraperitoneal administration of cyclophosphamide to control group animals in the dose 250 mg/kg once. Experimental groups of mice received the test substances intragastrically once a day for 14 days against the background of immunosuppression in the following doses: isoorientin-2"-O-rhamnoside – 10 mg/kg, arabino-3.6-galactan – 3 mg/kg, 20-hydroxyecdysone – 3 mg/kg. The effect of substances on cellular immunity was determined in a delayed hypersensitivity reaction, humoral immunity was determined in an antibody formation reaction by local hemolysis according to A.J. Cunningham. The phagocytic activity of peritoneal macrophages was studied in relation to colloidal ink particles.

Results. With the introduction of isoorientin-2"-O-rhamnoside, arabino-3.6-galactan and 20-hydroxyecdysone in experimental animals, there was an increase in the index of delayed-type hypersensitivity reaction by 1.3–1.4 times, the absolute and relative number of antibody-forming cells by 1.4–1.7 times, phagocytic index by 1.2–1.5 times compared with the data in the control group, which indicates the leveling of the suppressive effect of cyclophosphamide on cell-mediated immune response, antibody genesis and phagocytosis of macrophages.

Conclusion. Isoorientin-2"-O-rhamnoside and arabino-3.6-galactan have the most pronounced immunomodulatory effect. The obtained data allow us to consider the studied substances as promising plant immunomodulators.

Key words: immunomodulatory effect, immune deficiency, cyclophosphamide, *Silene jeniseensis*, isoorientin-2-O-rhamnoside, arabino-3.6-galactan, 20-hydroxyecdysone

Received: 09.12.2021
Accepted: 10.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Khobrakova V.B., Khalzanova A.V., Oleznikov D.N., Abidueva L.R. Effect of individual substances isolated from *Silene jeniseensis* Willd on the state of the main links of immunity at experimental immune deficiency. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 222-229. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.22

ОБОСНОВАНИЕ

Одной из приоритетных задач современной фармации и иммунофармакологии является разработка иммунотропных средств растительного происхождения, что связано с ростом числа иммунодефицитных состояний и ограниченным перечнем лекарственных средств для их коррекции [1–5]. Лечение и профилактика хронических рецидивирующих воспалительных заболеваний как проявлений иммунологической недостаточности нуждаются в комплексном подходе с включением в терапию иммуномодуляторов [6].

Возросший в последнее время интерес к лекарственным средствам растительного происхождения связан в первую очередь с их высокой биологической активностью, возможностью длительного применения и высокой степенью безопасности при достаточной эффективности [7, 8]. В многочисленных исследованиях доказана иммунотропная активность индивидуальных веществ, выделенных из лекарственных растений (флавоноидов, сапонинов, фенилпропаноидов, полисахаридов, эндоцистериоидов, лактонов, алкалоидов, терпеноидов, гликазидов и др.) [9–13].

Исследования на мышах показали выраженную иммуномодулирующую активность растительного средства – экстракта сухого из надземной части смолёвки енисейской *Silene jeniseensis* Willd (Caryophyllaceae) в условиях индуцированной циклофосфадом иммуносупрессии [14]. В настоящем исследовании представляет интерес определить влияние индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis*, на состояние гуморального, клеточного и макрофагального звеньев иммунной системы организма.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение иммуномодулирующей активности индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis*: флавоноида изоориентин-2"-О-рамнозида, полисахарида арабино-3,6-галактана и эндоцистериоида 20-гидроксиэндизона, при экспериментальном иммунодефиците, вызванном циклофосфадом.

МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на мышах гибридах F1 (СВАХС57БЛ/6) массой 18–20 г, обоего пола. Все животные содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP) и приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Согласно приказу Минздрава России № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей», при проведении экспериментов были соблюдены все надлежащие требования.

Было проведено согласование протокола исследований с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол № 2 от 05.11.2017). Выведение животных из эксперимента проводилось путём дислокации шейных позвонков под лёгким эфирным наркозом. Иммунодефицитное состояние у контрольных и опытных групп животных воспроизводили путём введения внутрибрюшинно циклофосфада (ООО «ВЕРОФАРМ», Россия; лекарственная форма – лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения во флаконах) в максимально переносимой дозе 250 мг/кг однократно. Выделение индивидуальных соединений из надземной части *S. jeniseensis* проводили хроматографическими методами с применением колоночной хроматографии на оксиде алюминия (III), Сефадексе LH-20, обращено-фазовом силикагеле и препартивной ВЭЖХ для получения изоориентин-2"-О-рамнозида и 20-гидроксиэндизона. Арабино-3,6-галактант выделяли из водного экстракта *S. jeniseensis* после деструкции и диализа с последующим разделением методом ионообменной хроматографии на DEAE-целлюлозе (HCO_3^- -форма) и гель-хроматографии на Sephadex G-25 HR [15, 16, 17]. Выход чистых соединений составил 0,008 % для изоориентин-2"-О-рамнозида (чистота – 95 %), 0,005 % – для 20-гидроксиэндизона (чистота – 98 %) и 0,4 % – для арабино-3,6-галактана.

Опытные группы животных на следующий день после введения циклофосфада получали индивидуальные вещества, полученные из *Silene jeniseensis*, 1 раз в сутки внутривенно в течение 14 дней: флавоноид изоориентин-2"-О-рамнозид – в дозе 10 мг/кг (опытная группа № 1), полисахарид арабино-3,6-галактант с отношением арабинозы и галактозы 1:1,8 – 3 мг/кг (опытная группа № 2) и эндоцистериоид 20-гидроксиэндизон – 3 мг/кг (опытная группа № 3). По аналогичной схеме интактная группа мышей получала очищенную воду.

Действие индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis*, на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике локальной ГЗТ [18]. Сенсибилизацию мышей проводили путём введения животным внутрибрюшинно 0,1%-й взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе. На 4-е сутки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50%-й взвеси эритроцитов барана под поглощенный апоневроз задней лапки мышей. В контрлатеральную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объёме. Спустя 24 часа проводили оценку реакции ГЗТ по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (I_p) рассчитывали по формуле:

$$I_p = [(M_{\text{оп}} - M_{\text{к}}) / M_{\text{к}}] \times 100 \%,$$

где $M_{\text{оп}}$ – масса опытной лапы; $M_{\text{к}}$ – масса контрольной лапы.

Оценку гуморального иммунитета проводили методом локального гемолиза по A.J. Cunningham по количеству антителообразующих клеток (АОК) [19]. Иммунизацию мышей проводили внутрибрюшинным введением эритроцитов барана в дозе 2×10^8 клеток/мышь. На 5-е сутки после иммунизации определяли число АОК

на селезёнку и на 10^6 спленоцитов. Фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов исследовали в отношении частиц коллоидной туши. Оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата измеряли на спектрофотометре «CECIL-2011» при длине волн 620 нм [18].

Принадлежность исходных данных к выборке из нормальной генеральной совокупности была подтверждена W-критерием Шапиро – Уилка. Поскольку данные подчинялись нормальному закону распределения, результаты представлены как среднее и стандартное отклонение ($M \pm SD$), анализ различий между выборками проводили с помощью программы «BioStat-2009» с использованием t-критерия Стьюдента [20]. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе изучения влияния изоориентин-2"-О-рамнозида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона на клеточный иммунитет было показано, что испытуемые вещества восстанавливают индекс реакции ГЗТ (ИР ГЗТ) в условиях иммунодефицита, индуцированного циклофосфаном. В контрольной группе, получавшей циклофосфан, отмечалось снижение ИР ГЗТ на 32,2 % по сравнению с тем же показателем в интактной группе (табл. 1).

При введении изоориентин-2"-О-рамнозида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона на фоне индуцированного иммунодефицита наблюдали увеличение ИР ГЗТ в 1,3 раза в опытных группах животных № 1 и № 3, получавших изоориентин-2"-О-рамнозид и 20-гидроксиэкдизон соответственно, и в 1,4 раза – в опытной группе мышей № 2, получавших арабино-3,6-галактан, по сравнению с группой контроля.

ТАБЛИЦА 1

ВЛИЯНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ *SILENE JENISEENSIS*, НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО, ГУМОРАЛЬНОГО И МАКРОФАГАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЦИКЛОФОСФАНОВОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ

Оценка влияния веществ на гуморальное звено иммунитета показала, что в группе, получавшей циклофосфан, наблюдалось снижение абсолютного и относительного числа АОК на 39,1 и 46,6 % соответственно, по сравнению с данными в интактной группе. На фоне циклофосфановой иммуносупрессии введение опытным животным изоориентин-2"-О-рамнозида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона нивелировало негативное влияние циклофосфана, что проявлялось в увеличении абсолютного количества АОК в 1,3 раза в опытных группах животных № 1 и 3, получавших изоориентин-2"-О-рамнозид и 20-гидроксиэкдизон соответственно, и в 1,6 раза – в опытной группе № 2, получавшей арабино-3,6-галактан. Также под влиянием изоориентин-2"-О-рамнозида и арабино-3,6-галактана увеличилось число АОК при расчёте на 10^6 спленоцитов в 1,5 раза, а в группе животных, получавших 20-гидроксиэкдизон, – в 1,4 раза по сравнению с контролем (табл. 1).

Введение циклофосфана приводило к снижению функциональной активности перитонеальных макрофагов, что выражалось в уменьшении фагоцитарного индекса в 1,6 раза по сравнению с данными в интактной группе. Использование на фоне циклофосфана 20-гидроксиэкдизона увеличивало данный показатель в 1,5 раза, арабино-3,6-галактана – в 1,4 раза, изоориентин-2"-О-рамнозида – в 1,2 раза по сравнению с группой контроля (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Суммируя результаты, полученные в ходе экспериментов, можно сделать вывод, что наиболее выраженным иммуномодулирующим действием из индивидуальных веществ *Silene jeniseensis* обладают изоориентин-2"-О-рамнозид и арабино-3,6-галактан.

ТАБЛИЦА 1

THE EFFECT OF INDIVIDUAL SUBSTANCES OBTAINED FROM *SILENE JENISEENSIS* ON THE STATE OF THE CELLULAR, HUMORAL AND MACROPHAGE COMPONENTS OF THE IMMUNE SYSTEM AT CYCLOPHOSPHAMIDE IMMUNODEFICIENCY

| Группы животных | Абсолютное число АОК на селезёнку | Число АОК на 10^6 спленоцитов | ИР ГЗТ, % | Фагоцитарный индекс, оптическая плотность, усл. ед. |
|---|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------|---|
| Интактная (H_2O), $n = 10$ | $66070,2 \pm 4979,1$ | $354,3 \pm 15,2$ | $55,91 \pm 2,58$ | $0,245 \pm 0,017$ |
| Контрольная (циклофосфан + H_2O), $n = 10$ | $40269,1 \pm 3617,4^*$ | $189,4 \pm 17,2^*$ | $37,92 \pm 2,56^*$ | $0,155 \pm 0,003^*$ |
| Опытная 1 (циклофосфан + изоориентин-2"-О-рамнозид), $n = 10$ | $53250,4 \pm 4498,3^{**}$ | $282,1 \pm 21,5^{**}$ | $50,04 \pm 3,24^{**}$ | $0,180 \pm 0,012^{**}$ |
| Опытная 2 (циклофосфан + арабино-3,6-галактан), $n = 10$ | $64257,2 \pm 2570,1^{**}$ | $287,2 \pm 18,2^{**}$ | $52,12 \pm 4,74^{**}$ | $0,224 \pm 0,061^{**}$ |
| Опытная 3 (циклофосфан + 20-гидроксиэкдизон), $n = 10$ | $52489,3 \pm 3260,2^{**}$ | $265,0 \pm 16,7^{**}$ | $47,63 \pm 3,76^{**}$ | $0,233 \pm 0,040^{**}$ |

Примечание. * – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ по сравнению с данными в интактной группе, ** – по сравнению с данными в контрольной группе, число животных в каждой группе ($n = 10$).

Полученные нами данные согласуются с исследованиями ряда авторов по оценке иммунотропного действия флавоноидов из различных растений [9]. Так, в работах A. Ganeshpurkar и A.K. Saluja (2017, 2018) природные флавоноидные соединения рутин и катехин продемонстрировали стимулирующее действие в отношении гуморального иммунитета за счёт повышения титра антител и иммуноглобулинов [21, 22]. В исследовании E. Awad и соавт. (2015) показано стимулирующее влияние биофлавоноида дигидрокверцетина, выделенного из фракции *Cedrus deodara*, на клеточное и гуморальное звенья иммунитета [23]. Иммуномодулирующее действие установлено у флавоноидов из листьев *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae): апигенин 7-O- β -D-нейгесперидозид, апигенин 7-O- β -D-галактозид, ориентин, витексин, виценин и апигенин за счёт стимуляции как гуморального, так и клеточно-опосредованного иммунного ответа [24]. Иммуномодулирующая активность экстракта сухого *Gentiana algida* Pall, обусловленная содержанием в нём, в том числе, флавоноидов (ориентина, изоориентина, изоориентин 4-O-глюкозида), проявлялась в виде уменьшения иммуносупрессивного действия азатиоприна [25]. Иммуномодулирующий эффект флавоноидов, вероятно, осуществляется через внутриклеточный сигнальный путь PI3k/Akt/mTOR путём регуляции активности mTOR, подавление функции цитотоксических лимфоцитов и снижение экспрессии транскрипционного ядерного фактора (NF- κ B) [26]. Также имеются работы, подтверждающие положительное влияние эндистероидов и полисахаридов на иммунную систему. И.Д. Бобаевым и соавт. (2012) доказано, что эндистероиды *Silene viridiflora* оказывают выраженное стимулирующее действие на гуморальный иммунитет, что выражается в увеличении АОК [27]. Эндистероиды из *Silene brahuica* и *Ajuga turkestanica* также обладают иммунотропными свойствами [28]. У эндистероидов, вероятней всего, отсутствуют специфические механизмы стимуляции иммунокомпетентных клеток, поскольку, являясь природными, эволюционно сформированными лигандами, они реализуют свою биологическую активность через эндистероид-ассоциированные рецепторные комплексы [29]. При исследовании иммуномодулирующей активности полисахаридов из аира болотного (*Acorus calamus* L.), софоры желтоватой (*Sophora flavescens* Soland.), астрагала перенончатого (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge), зопника клубненосного (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench), имбиря лекарственного (*Zingiber officinale* Roscoe), шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgii), кардамона настоящего (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) показано, что указанные вещества статистически значимо увеличивают количество АОК по сравнению с данными у животных, получавших азатиоприн [30]. В работе Е.Р. Будаевой, В.Б. Хобраковой (2015) доказано, что фракции из *Gentiana algida* Pall, в том числе, полисахаридная, обладают выраженным иммуномодулирующим действием в отношении клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа в условиях иммуносупрессии, индуцированной азатиоприном [31]. Результаты исследования J. Yu и соавт. (2018) показали, что полисахаридный

экстракт *Schisandra chinensis* предотвращает вызванное циклофосфаном нарушение клеточного, гуморального и неспецифического иммунитета у мышей [32]. Результаты исследования M. Li и соавт. (2017) показали, что полисахариды, выделенные из свежего и чёрного чеснока, стимулируют фагоцитарную активность макрофагов [33]. Растительные полисахариды способны регулировать функции системы иммунитета за счёт активации иммунокомпетентных клеток, в том числе Т-клеток, В-лимфоцитов, макрофагов и естественных клеток-киллеров, а также системы комплемента и индукции выработки цитокинов [34, 35].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно заключить, что ранее установленная иммуномодулирующая активность экстракта сухого *Silene jeniseensis* обусловлена присутствием в её составе изоориентин-2"-О-рамнозида, 20-гидроксиэкдизона и арабино-3,6-галактана. Индивидуальные вещества в экспериментах показали выраженное иммуномодулирующее влияние в отношении клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, индуцированном циклофосфаном. Наиболее выраженным иммуномодулирующим действием из индивидуальных веществ обладают изоориентин-2"-О-рамнозид и арабино-3,6-галактант.

Полученные в ходе эксперимента данные по иммуномодулирующей активности индивидуальных веществ, выделенных из *Silene jeniseensis*, позволяют рекомендовать их для дальнейшего изучения с целью создания новых растительных иммуномодулирующих препаратов.

Финансирование

Исследования проведены в рамках выполнения темы госзадания по проекту FWSM-2021-0005 (№ госрегистрации 121030100227-7).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Исмаилов И.З., Зурдинов А.З., Сабирова Т.С. Разработка и применение иммуномодуляторов на современном этапе: проблемы и перспективы. *Научный журнал*. 2017; 1(14): 83-87.
- Дутова С.В., Карпова М.Р. Перспективы исследования иммунотропных фитопрепаратов. *Вестник Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова*. 2016; 18: 117-121.
- Dhama K, Saminathan M, Jacob SS. Effect of immunomodulation and immunomodulatory agents on health with some bioactive principles, modes of action and potent biomedical applications. *Int J Pharmacol*. 2015; 11(4): 253-290.
- Rama Bhat P. A review on immunomodulatory effects of plant extracts. *Virol Immunol J*. 2018; 2(6): 000167.

5. Wainwright CL, Teixeira MM, Adelson DL, Buenz EJ, David B, Glaser KB, et al. Future directions for the discovery of natural product-derived immunomodulating drugs: An IUPHAR positional review. *Pharmacol Res.* 2022; 177: 106076. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106076
6. Новикова И.А. Современные аспекты клинического применения иммуномодуляторов. *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье.* 2016; 1(19): 59-67.
7. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Ганапольский В.П., Ятманов А.Н., Шабанов П.Д. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2017; 15(2): 56-63. doi: 10.17816/RCF15256-63
8. David B, Wolfender J-L, Dias DA. The pharmaceutical industry and natural products: Historical status and new trends. *Phytochem Rev.* 2015; 14(2): 299-315. doi: 10.1007/s11101-014-9367-z
9. Тусупекова Г.А., Рахметова А.М., Молдакарызова А.Ж., Алшынбекова Г.К., Тулеуханов С.Т., Ашимханова Г.С., и др. Основные свойства иммуномодулирующих фитопрепаратов и эффективность их применения. *Вестник Казахского Национального медицинского университета.* 2019; 1: 487-490.
10. Jantan I, Ahmadand W, Bukhari S-N-A. Plant-derived immunomodulators: An insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Front Plant Sci.* 2015; 6: 665. doi: 10.3389/fpls.2015.00655
11. Кузнецова Л.В. Влияние флавоноидов на показатели клеточного иммунитета у детей и подростков, которые болеют гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями, до и после лечения. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа.* 2017; 6(3): 429-436.
12. Иванова Е.В., Воронкова И.П., Бондаренко А.И., Таренко-ва И.В. Иммунотропный эффект лекарственных растений с различным микроэлементным составом. *Российский иммунологический журнал.* 2021; 24(2): 331-336. doi: 10.46235/1028-7221-994-IEO
13. Behl T, Kumar K, Brisc C, Rus M, Nistor-Cseppento DC, Bustea C, et al. Exploring the multifocal role of phytochemicals as immunomodulators. *Biomed Pharmacother.* 2021; 133: 110959. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110959
14. Хобракова В.Б., Халзанова А.В., Оленников Д.Н., Павлова С.И., Абидуева Л.Р. Иммуномодулирующая активность экстракта сухого *Silene jeniseensis* Willd при экспериментальном иммунодефиците. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(1): 113-117. doi: 10.25557/0031-2991.2020.01.113-117
15. Olennikov DN, Kashchenko NI. New C,O-glycosylflavones from the genus *Silene*. *Chem Nat Compd.* 2020; 56(6): 1026-1034. doi: 10.1007/s10600-020-03220-x
16. Olennikov DN, Kashchenko NI. Phytoecdysteroids of *Silene jenisseensis*. *Chem Nat Compd.* 2017; 53(6): 1199-1201. doi: 10.1007/s10600-017-2239-1
17. Olennikov DN, Nazarova AV, Rokhin AV, Tankhaeva LM, Kornopol'tseva TA. Lamiaceae carbohydrates. VII. Glucoarabinogalactan from *Panzerina lanata*. *Chem Nat Compd.* 2009; 45(6): 864-866. doi: 10.1007/s10600-010-9486-8
18. Миронов А.Н Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть 1. М.: Гриф и К; 2012.
19. Cunningham AJ. A method of increased sensitivity for detecting single antibody forming cells. *Nature.* 1965; 207(5001): 1106-1107. doi: 10.1038/2071106a0
20. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. *Математическая статистика в клинических исследованиях.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006.
21. Ganeshpurkar A, Saluja AK. Protective effect of rutin on humoral and cell mediated immunity in rat model. *Chem Biol Interact.* 2017; 273: 154-159. doi: 10.1016/j.cbi.2017.06.006
22. Ganeshpurkar A, Saluja AK. Protective effect of catechin on humoral and cell mediated immunity in rat model. *Int Immunopharmacol.* 2018; 54: 261-266. doi: 10.1016/j.intimp.2017.11.022
23. Awad E, Awaad AS, Esteban MA. Effects of dihydroquercetin obtained from deodar (*Cedrus deodara*) on immune status of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.* 2015; 43(1): 43-50. doi: 10.1016/j.fsi.2014.12.009
24. Abd-Alla HI, Moharram FA, Gaara AH, El-Safty MM. Phytoconstituents of *Jatropha curcas* L. leaves and their immunomodulatory activity on humoral and cell-mediated immune response in chicks. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2009; 64(7-8): 495-501. doi: 10.1515/znc-2009-7-805
25. Хобракова В.Б., Будаева Е.Р., Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н. Иммуномодулирующая активность экстракта *Gentiana algida* Pall. *Химико-фармацевтический журнал.* 2017; 51(5): 40-43. doi: 10.30906/0023-1134-2017-51-5-40-43
26. Hosseinzade A, Sadeghi O, Naghdipour Biregani A, Soukhtehzari S, Brandt GS, Esmaillzadeh A. Immunomodulatory effects of flavonoids: Possible induction of CD4⁺ regulatory cells through suppression of mTOR pathway signaling activity. *Front Immunol.* 2019; 10: 51. doi: 10.3389/fimmu.2019.00051
27. Бобаев И.Д., Алимова М.Т., Путиева Ж.М., Косназаров С.Т., Рамазанов Н.Ш. Экспериментальное изучение иммуностимулирующего действия фитоэcdистероидов *Silene viridiflora* L. *Теоретическая и прикладная экология.* 2012; 1: 55-57.
28. Шахмуррова Г.А., Батырбеков А.А., Эгамова Ф.Р., Хушбактова З.А., Сыров В.Н. Экспериментальная оценка иммунотропного действия суммарных эcdистероидсодержащих препаратов из *Silene brahuica* и *Ajuga turkestanica*. *Иммунология.* 2013; 34(1): 24-26.
29. Bajguz A, Bąkała I, Talarek M. Chapter 5 – Ecdysteroids in plants and their pharmacological effects in vertebrates and humans. *Stud Nat Prod Chem.* 2015; 45: 121-145. doi: 10.1016/B978-0-444-63473-3.00005-8
30. Хобракова В.Б., Оленников Д.Н. Иммуномодулирующие свойства растительных глюканов при экспериментальной иммунодепрессии. *Acta biomedica scientifica.* 2012; 6(88): 103-104.
31. Будаева Е.Р., Хобракова В.Б. Влияние фракций, полученных из надземной части *Gentiana algida* Pall., на состояние клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа. *Acta biomedica scientifica.* 2015; 2: 70-72.
32. Yu J, Cong L, Wang C, Li H, Zhang C, Guan X, et al. Immunomodulatory effect of *Schisandra* polysaccharides in cyclophosphamide-induced immunocompromised mice. *Exp Ther Med.* 2018; 15(6): 4755-4762. doi: 10.3892/etm.2018.6073
33. Li M, Yan YX, Yu QT, Deng Y, Wu DT, Wang Y, et al. Comparison of immunomodulatory effects of fresh garlic and black garlic polysaccharides on RAW 264.7 macrophages. *J Food Sci.* 2017; 82(3): 765-771. doi: 10.1111/1750-3841.13589
34. Ueno M, Cho K, Hirata N, Yamashita K, Yamaguchi K, Kim D, Oda T. Macrophage-stimulating activities of newly isolated complex polysaccharides from *Parachlorella kessleri* strain KNK-A001. *Int J Biol Macromol.* 2017; 104(Pt A): 400-406. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.014

35. Yin M, Zhang Y, Li H. Advances in research on immunoregulation of macrophages by plant polysaccharides. *Front Immunol.* 2019; 10: 145. doi: 10.3389/fimmu.2019.00145

REFERENCES

1. Ismailov IZ, Zurdinov AZ, Sabirova TS. Development and application of immunomodulators at the present stage: Problems and prospects. *Nauchnyy zhurnal.* 2017; 1(14): 83-87. (In Russ.).
2. Dutova SV, Karpova MR. Prospects for the study of immunotropic phytopreparations. *Vestnik Khakasskogo gosudarstvennogo universiteta im. N.F. Katanova.* 2016; 18: 117-121. (In Russ.).
3. Dhamo K, Saminathan M, Jacob SS. Effect of immunomodulation and immunomodulatory agents on health with some bioactive principles, modes of action and potent biomedical applications. *Int J Pharmacol.* 2015; 11(4): 253-290.
4. Rama Bhat P. A review on immunomodulatory effects of plant extracts. *Virol Immunol J.* 2018; 2(6): 000167.
5. Wainwright CL, Teixeira MM, Adelson DL, Buentz EJ, David B, Glaser KB, et al. Future directions for the discovery of natural product-derived immunomodulating drugs: An IUPHAR positional review. *Pharmacol Res.* 2022; 177: 106076. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106076
6. Novikova IA. Modern aspects of the clinical use of immunomodulators. *Mezhdunarodnye obzory: klinicheskaya praktika i zdorov'e.* 2016; 1(19): 59-67. (In Russ.).
7. Sambukova TV, Ovchinnikov BV, Ganapol'skij VP, Yatmanov AN, Shabanov PD. Prospects for the use of phytopreparations in modern pharmacology. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2017; 15(2): 56-63. (In Russ.). doi: 10.17816/RCF15256-63
8. David B, Wolfender J-L, Dias DA. The pharmaceutical industry and natural products: Historical status and new trends. *Phytochem Rev.* 2015; 14(2): 299-315. doi: 10.1007/s11101-014-9367-z
9. Tusupbekova GA, Rakhatmetova AM, Moldakaryzova AZh, Alshynbekova GK, Tuleukhanov ST, Ashimkhanova GS, et al. The main properties of immunomodulating phytopreparations and the effectiveness of their use. *Vestnik KazNMU.* 2019; 1: 487-490. (In Russ.).
10. Jantan I, Ahmadand W, Bukhari S-N-A. Plant-derived immunomodulators: An insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Front Plant Sci.* 2015; 6: 665. doi: 10.3389/fpls.2015.00655
11. Kuznetsova LV. Influence of flavonoids on the indices of cellular immunity in children and adolescents who are ill with influenza and acute respiratory viral infections before and after treatment. *Laboratory diagnostics. Eastern Europe.* 2017; 6(3): 429-436. (In Russ.).
12. Ivanova EV, Voronkova IP, Bondarenko AI, Tarenkova IV. Immunotropic effect of medicinal plants with different trace element composition. *Russian Journal of Immunology.* 2021; 24(2): 331-336. (In Russ.). doi: 10.46235/1028-7221-994-IEO
13. Behl T, Kumar K, Brisc C, Rus M, Nistor-Cseppento DC, Bustea C, et al. Exploring the multifocal role of phytochemicals as immunomodulators. *Biomed Pharmacother.* 2021; 133: 110959. doi: 10.1016/j.bioph.2020.110959
14. Khobrakova VB, Khalzanova AV, Olennikov DN, Pavlova SI, Abiduyeva LR. Immunomodulatory activity of *Silene jeniseensis* Willd dry extract in experimental immunodeficiency. *Pathological physiology and experimental therapy.* 2020; 64(1): 113-117. (In Russ.). doi: 10.25557/0031-2991.2020.01.113-117
15. Olennikov DN, Kashchenko NI. New C,O-glycosylflavones from the genus *Silene*. *Chem Nat Compd.* 2020; 56(6): 1026-1034. doi: 10.1007/s10600-020-03220-x
16. Olennikov DN, Kashchenko NI. Phytoecdysteroids of *Silene jeniseensis*. *Chem Nat Compd.* 2017; 53(6): 1199-1201. doi: 10.1007/s10600-017-2239-1
17. Olennikov DN, Nazarova AV, Rokhin AV, Tankhaeva LM, Kornopol'tseva TA. Lamiaceae carbohydrates. VII. Glucoarabinogalactan from *Panzerina lanata*. *Chem Nat Compd.* 2009; 45(6): 864-866. doi: 10.1007/s10600-010-9486-8
18. Mironov AN. *Guidelines for conducting preclinical trials of medicines, part 1.* Moscow: Grif i K, 2012. (In Russ.).
19. Cunningham AJ. A method of increased sensitivity for detecting single antibody forming cells. *Nature.* 1965; 207(5001): 1106-1107. doi: 10.1038/2071106a0
20. Sergiyenko VI, Bondareva IB. *Mathematical statistics in clinical research.* Moscow: GEOTAR-Media, 2006. (In Russ.).
21. Ganeshpurkar A, Saluja AK. Protective effect of rutin on humoral and cell mediated immunity in rat model. *Chem Biol Interact.* 2017; 273: 154-159. doi: 10.1016/j.cbi.2017.06.006
22. Ganeshpurkar A, Saluja AK. Protective effect of catechin on humoral and cell mediated immunity in rat model. *Int Immunopharmacol.* 2018; 54: 261-266. doi: 10.1016/j.intimp.2017.11.022
23. Awad E, Awaad AS, Esteban MA. Effects of dihydroquercetin obtained from deodar (*Cedrus deodara*) on immune status of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.* 2015; 43(1): 43-50. doi: 10.1016/j.fsi.2014.12.009
24. Abd-Alla HI, Moharram FA, Gaara AH, El-Safty MM. Phytoconstituents of *Jatropha curcas* L. leaves and their immunomodulatory activity on humoral and cell-mediated immune response in chicks. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2009; 64(7-8): 495-501. doi: 10.1515/znc-2009-7-805
25. Khobrakova VB, Budayeva YeR, Olennikov DN, Zilfi-karov IN. Immunomodulatory activity of *Gentiana algida* Pall extract. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2017; 51(5): 40-43. (In Russ.). doi: 10.30906/0023-1134-2017-51-5-40-43
26. Hosseinzade A, Sadeghi O, Naghdipour Biregani A, Soukhtehzari S, Brandt GS, Esmaillzadeh A. Immunomodulatory effects of flavonoids: Possible induction of CD4⁺ regulatory cells through suppression of mTOR pathway signaling activity. *Front Immunol.* 2019; 10: 51. doi: 10.3389/fimmu.2019.00051
27. Bobayev ID, Alimova MT, Putiyeva ZhM, Kosnazarov ST, Ramazanov NSh. Experimental study of the immunostimulating effect of phytoecdysteroids *Silene viridiflora* L. *Theoretical and applied ecology.* 2012; 1: 55-57. (In Russ.).
28. Shakhmurova GA, Batyrbekov AA, Egamova FR, Khushbaktova ZA, Syrov VN. Experimental evaluation of the immunotropic action of total ecdysteroid-containing preparations from *Silene brahuica* and *Ajuga turkestanica*. *Immunologia.* 2013; 34(1): 24-26. (In Russ.).
29. Bajguz A, Bąkała I, Talarek M. Chapter 5 – Ecdysteroids in plants and their pharmacological effects in vertebrates and humans. *Stud Nat Prod Chem.* 2015; 45: 121-145. doi: 10.1016/B978-0-444-63473-3.00005-8
30. Khobrakova VB, Olennikov DN. Immunomodulatory properties of plant glucans in experimental immunosuppression. *Acta biomedica scientifica.* 2012; 6(88): 103-104. (In Russ.).

31. Budayeva YeR, Khobrakova VB. Influence of fractions obtained from the aerial part of *Gentiana algida* Pall. On the state of the cellular and humoral links of the immune response. *Acta biomedica scientifica*. 2015; 2: 70-72. (In Russ.).
32. Yu J, Cong L, Wang C, Li H, Zhang C, Guan X, et al. Immunomodulatory effect of *Schisandra* polysaccharides in cyclophosphamideinduced immunocompromised mice. *Exp Ther Med*. 2018; 15(6): 4755-4762. doi: 10.3892/etm.2018.6073
33. Li M, Yan YX, Yu QT, Deng Y, Wu DT, Wang Y, et al. Comparison of immunomodulatory effects of fresh garlic and black garlic polysaccharides on RAW 264.7 macrophages. *J Food Sci*. 2017; 82(3): 765-771. doi: 10.1111/1750-3841.13589
34. Ueno M, Cho K, Hirata N, Yamashita K, Yamaguchi K, Kim D, Oda T. Macrophage-stimulating activities of newly isolated complex polysaccharides from *Parachlorella kessleri* strain KNK-A001. *Int J Biol Macromol*. 2017; 104(Pt A): 400-406. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.014
35. Yin M, Zhang Y, Li H. Advances in research on immunoregulation of macrophages by plant polysaccharides. *Front Immunol*. 2019; 10: 145. doi: 10.3389/fimmu.2019.00145

Сведения об авторах

Хобракова Валентина Бимбаевна – доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией экспериментальной фармакологии, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН; профессор кафедры общей патологии человека Медицинского института, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова», e-mail: val0808@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4689-5706>

Халзанова Антонида Валерьевна – аспирант кафедры фармакологии и традиционной медицины медицинского института, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова», e-mail: halzanova-79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9562-3109>

Олеников Даниил Николаевич – доктор фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: olennikovdn@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8194-1061>

Абидуева Лыгжима Ранжурновна – кандидат биологических наук, доцент кафедры инфекционных болезней медицинского института, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова», e-mail: abidueva75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4450-6049>

Information about the authors

Valentina B. Khobrakova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Institute of General and Experimental Biology SB RAS; Professor at the Department of General Human Pathology, Medical Institute, Buryat State University named after D. Banzarov, e-mail: val0808@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4689-5706>

Antonida V. Khalzanova – Postgraduate, Department of Pharmacology and Traditional Medicine, Medical Institute, Buryat State University named after D. Banzarov, e-mail: halzanova-79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9562-3109>

Daniil N. Olenikov – Dr. Sc. (Pharm.), Leading Research Officer at the Laboratory of Biomedical Research, Institute of General and Experimental Biology SB RAS, e-mail: olennikovdn@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8194-1061>

Lygzhima R. Abidueva – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Infectious Diseases, Medical Institute, Buryat State University named after D. Banzarov, e-mail: abidueva75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4450-6049>

ХИРУРГИЯ SURGERY

ОДНОМОМЕНТНАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ УРЕТРОПЛАСТИКА ПРИ ПРОТЯЖЁННЫХ СТРИКТУРАХ ПЕРЕДНЕГО ОТДЕЛА УРЕТРЫ ТУБЕРКУЛЁЗНОГО ГЕНЕЗА

РЕЗЮМЕ

Волков А.А.^{1,2},
Будник Н.В.²,
Зубань О.Н.¹,
Решетников М.Н.¹,
Плоткин Д.В.¹,
Богородская Е.М.¹,
Яровая Е.В.³

¹ ГБУ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулёзом Департамента здравоохранения города Москвы» (107014, г. Москва, ул. Стромынка, 10, Россия)

² ГБУ «Госпиталь для ветеранов войн» Ростовской области (344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 26-я Линия, 27, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Волков Андрей Александрович,
e-mail: volkov73a@bk.ru

Обоснование. Стриктуры уретры на сегодняшний день являются одной из самых сложных патологий в реконструктивной урологии. Наиболее перспективным направлением в этой области является разработка одноэтапных вмешательств, что отвечает современным требованиям качества жизни пациентов.

Цель исследования. Оценить возможность и эффективность хирургического лечения протяжённых рецидивных туберкулёзных структур уретры у мужчин с использованием комбинации кожного лоскута и буккального гrafta. В литературе отсутствует описание применения данной методики у пациентов с туберкулёзом уретры.

Материалы и методы. Мы наблюдали 44 пациентов с туберкулёзом уретры. Из этой группы больных 3 мужчинам с диагнозом: туберкулёзная (посттуберкулёзная) протяжённая рецидивная структура передней уретры выполнена комбинированная одномоментная уретропластика с использованием центрального кожного-фасциального лоскута и буккального гrafta по методике «inlay» в пенильном отделе и буккального гrafta по методике «ventral onlay» в бульбозном отделе мочеиспускательного канала. Ультразвуковое исследование уретры служило методом, определяющим возможность выполнения данной операции в случае сохранения достаточной ширины уретральной пластиинки при умеренно выраженной степени спонгиофиброза.

Результаты. Пациенты находятся под наблюдением в течение 34, 50 и 54 мес. с хорошими отдалёнными функциональными результатами – у всех имеется самостоятельное мочеиспускание, отсутствует остаточная моча. У 1 пациента сохраняется постмикционный дриблинг. Общая эффективность лечения данных структур с учётом лечения повторных случаев рецидива заболевания высокая.

Заключение. Данная методика демонстрирует возможность выполнения одномоментной реконструкции передней уретры у пациентов с протяжёнными рецидивными туберкулёзными (посттуберкулёзными) структурами уретры и применима для хирургического лечения структур мочеиспускательного канала другого генеза.

Ключевые слова: туберкулёз уретры, структура уретры, буккальный гraft, кожный лоскут, облитерация уретры

SINGLE-STAGE COMBINED URETHROPLASTY FOR EXTENDED STRICTURES OF THE ANTERIOR URETHRA OF TUBERCULOUS ORIGIN

ABSTRACT

Volkov A.A.^{1,2},
Budnik N.V.²,
Zuban O.N.¹,
Reshetnikov M.N.¹,
Plotkin D.V.¹,
Bogorodskaya E.M.¹,
Yarovaya E.V.³

¹ Moscow Scientific and Clinical Center for TB Control, Moscow Healthcare Department (Stromynka str. 10, Moscow 107014, Russian Federation)

² Hospital of War Veterans of the Rostov Region (26ya Liniya str. 27, Rostov-on-Don 344025, Russian Federation)

³ Rostov State Medical University (Nakhichevansky lane 29, Rostov-on-Don 344022, Russian Federation)

Corresponding author:

Andrey A. Volkov,
e-mail: volkov73a@bk.ru

Background. Urethral strictures are currently one of the most complex pathologies in reconstructive urology. The most promising direction in this area is the development of single-stage surgical interventions that meets modern requirements for the quality of life of patients.

The aim of the study. To evaluate the possibility and the effectiveness of surgical treatment of extended recurrent tuberculous urethral strictures in men using a combination of a skin flap and a buccal graft. In the literature, there is no description of the use of this technique in patients with urethral tuberculosis.

Materials and methods. We observed 44 patients with urethral tuberculosis. Three men from this group of patients were diagnosed with tuberculous (post-tuberculous) extended recurrent stricture of the anterior urethra and they underwent combined single-stage urethroplasty with a ventral fasciocutaneous flap and a buccal graft using the inlay method in the penile region and with a buccal graft using the ventral onlay method in the bulbous urethra. Ultrasound of the urethra served as a method that determines the possibility of performing this surgery in case of maintaining a sufficient width of the urethral plate with a moderate degree of spongiosis.

Results. Patients were under observation for 34, 50 and 54 months and have good long-term functional results – all patients have unassisted urination and no residual urine. Post-micturition dribbling persists in 1 patient. The overall effectiveness of the treatment of these strictures, taking into account the treatment of repeated cases of the disease recurrence, is high.

Conclusion. This technique demonstrates the possibility of performing a single-stage reconstruction of the anterior urethra in patients with extended recurrent tuberculous (post-tuberculous) urethral strictures and is also applicable for the surgical treatment of urethral strictures of other origins.

Key words: urethral tuberculosis, urethral stricture, buccal graft, skin flap, urethral obliteration

Received: 05.04.2022

Accepted: 29.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Volkov A.A., Budnik N.V., Zuban O.N., Reshetnikov M.N., Plotkin D.V., Bogorodskaya E.M., Yarovaya E.V. Single-stage combined urethroplasty for extended strictures of the anterior urethra of tuberculous origin. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 230-239. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.23

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулёз уретры (ТУ) является одной из форм туберкулёза мочеполовой системы (ТМПС), который на сегодняшний день остаётся хирургическим заболеванием. До 76 % пациентов с ТМПС оперируются в различные сроки от начала заболевания, часто с различными обструктивными процессами в верхних и нижних мочевых путях неизвестного генеза [1, 2]. Наиболее часто встречаются признаками ТУ являются острый уретрит и гнойные выделения из уретры, возможны сопутствующие заболеванию туберкулёз простаты или стриктура уретры (СУ), особенно осложнённая различными фистулами [3, 4]. По данным одних авторов, стриктуры уретры, связанные со специфическим поражением мочеиспускательного канала, встречаются в 1–2 % случаев от общего количества стриктур мочеиспускательного канала [5]; другие исследователи утверждают, что ТУ не является редким заболеванием и чаще всего стриктуры уретры у молодых пациентов с туберкулёзом лёгких необходимо расценивать как специфические [6, 7]. Реконструктивные вмешательства при туберкулёзном поражении уретры являются малоизученным направлением в урологии, требующим дальнейшего изучения и совершенствования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка возможности и эффективности хирургического лечения протяжённых рецидивных туберкулёзных (посттуберкулёзных) стриктур уретры у мужчин с использованием комбинации кожного лоскута и букального гraftа.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением в 2004–2020 гг. находились 44 пациента с ТУ, осложнённым формированием стриктуры уретры. Средний возраст пациентов составил 55 ± 15 лет (28–85 лет). Средняя протяжённость стриктуры уретры определена как $3 \pm 1,1$ см (0,5–17 см). Длительность симптомов заболевания до поступления пациентов в стационар в среднем составила 37 мес. (1–241 мес.).

Основным симптомом, манифестирующим данное заболевание, явилось затруднённое мочеиспускание, которое наблюдалось у 68,2 % пациентов (табл. 1).

В результате анализа данных по локализации СУ у данных пациентов установлено, что чаще всего СУ была локализована в заднем отделе мочеиспускательного канала – у 22 (50 %) человек. У 5 (11,4 %) пациентов имелась стриктура бульбозного отдела уретры, у 7 (15,9 %) СУ была диагностирована в пенильном отделе, у 7 (15,9 %) мужчин наблюдалось субтотальное поражение мочеиспускательного канала, у 3 (6,8 %) – тотальное. У 10 (22,7 %) пациентов был диагностирован микроцистис. ВИЧ-инфекция выявлена у 9 (20,5 %) пациентов с ТУ.

ТАБЛИЦА 1

СИМПТОМЫ МАНИФЕСТАЦИИ СТРИКТУР УРЕТРЫ

TABLE 1

SYMPTOMS OF THE URETHRAL STRICTURES MANIFESTATION

| Симптомы | Пациенты с ТУ (n = 44), n (%) |
|-----------------------------|----------------------------------|
| Затруднённое мочеиспускание | 30 (68,2) |
| Гнойные выделения из уретры | 21 (47,7) |
| Частое мочеиспускание | 23 (52,3) |
| Болезненное мочеиспускание | 21 (47,7) |
| Гематурия | 3 (6,8) |
| Недержание мочи | 3 (6,8) |
| Боль в промежности | 1 (2,3) |

У части пациентов были выявлены различные осложнения данного заболевания (табл. 2). Преобладающим осложнением был свищ уретры – в 7 (15,9 %) случаях.

ТАБЛИЦА 2

ОСЛОЖНЕНИЯ ТУБЕРКУЛЁЗА УРЕТРЫ

TABLE 2

COMPLICATIONS OF URETHRAL TUBERCULOSIS

| Осложнения | Пациенты с ТУ (n = 44), n (%) |
|----------------------------|----------------------------------|
| Свищ уретры | 7 (15,9) |
| Свищ промежности | 3 (6,8) |
| Флегмона мошонки | 3 (6,8) |
| Некроз кожи полового члена | 3 (6,8) |
| Абсцесс простаты | 2 (4,5) |
| Абсцесс мошонки | 2 (4,5) |
| Парауретральный абсцесс | 1 (2,3) |
| Дивертикул мочевого пузыря | 1 (2,3) |

Всем пациентам проводилась противотуберкулёзная терапия. 4 (9,1 %) больных отказались от дальнейшего хирургического лечения, остальным оно было выполнено в различные сроки на фоне осуществляющейся терапии. Варианты хирургического лечения у больных ТУ представлены в таблице 3.

Из этой группы пациентов 3 мужчинам выполнено хирургическое лечение протяжённой рецидивной стриктуры передней уретры туберкулёзного (посттуберкулёзного) генеза с использованием комбинированной кожно-букальной пластики уретры. Пациентам предварительно проведён курс специфической либо неспецифической терапии до ликвидации воспалительного процесса в мочеиспускательном канале.

ТАБЛИЦА 3
ВИДЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ
С ТУБЕРКУЛЁЗОМ УРЕТРЫ

TABLE 3
TYPES OF SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS
WITH URETHRAL TUBERCULOSIS

| Виды оперативных вмешательств | Пациенты с ТУ (n = 44), n (%) |
|---|-------------------------------|
| Постоянная цистостомия | 8 (18,2) |
| Внутренняя оптическая уретротомия | 6 (13,6) |
| Периодическое бужирование уретры | 5 (11,4) |
| Установка постоянной нефростомы ед. почки | 5 (11,4) |
| Анастомотическая уретропластика | 3 (6,8) |
| Буккальная уретропластика | 2 (4,5) |
| Кожно-буккальная пластика уретры | 3 (6,8) |
| Ортоптическая энтеропластика | 3 (6,8) |
| Трансуретральная резекция простаты | 2 (4,5) |
| Иссечение свища уретры | 2 (4,5) |
| Операция Митрофанова | 2 (4,5) |
| Вскрытие и дренирование абсцесса мошонки | 2 (4,5) |
| Некрэктомия ткани полового члена | 2 (4,5) |
| Резекция некротизированного участка уретры | 2 (4,5) |
| Вскрытие и дренирование флегмоны мошонки | 2 (4,5) |
| Уретеросигмоанастомоз | 1 (2,3) |
| Кожная пластика уретры | 1 (2,3) |
| Пластика уретрокишечного свища | 1 (2,3) |
| Вскрытие и дренирование парауретрального абсцесса | 1 (2,3) |

Перед операцией выполнялись комбинированная ретроградная уретрограмма и миционная цистоуретрограмма с уточнения протяжённости структуры уретры, а также ультразвуковое исследование (УЗИ) уретры с целью определения степени спонгиофиброза.

УЗИ уретры проводили с использованием ультразвукового сканера EPIQ 5 (Philips, Нидерланды). После получения информационного согласия пациента в асептических условиях после обработки головки полового члена в мочеиспускательный канал вводили баллонный уретральный катетер Фолея 12Fr, после чего баллон катетера раздували в ладьевидной ямке до 2 мл. Растигая половой член над поверхностью живота, наносили ультразвуковой гель на его центральную поверхность, затем по катетеру вводили 40–60 мл физиологического раствора. Оценку состояния мочеиспускательного канала проводили по центральной поверхности полового члена до пеноскротального соединения, после чего датчик перемещали на мошонку и затем для оценки проксимального бульбозного отдела уретры располагали его в области промежности. Локализация структуры уретры определялась при УЗИ как сегмент с пониженной растяжимостью при введении физиологического раствора; участки спонгиофиброза проявлялись как области повы-

шенной эхогенности в губчатом теле. Степень спонгиофиброза классифицировалась согласно классификации C.J. Devine и соавт. [8]. При выявлении умеренной степени спонгиофиброза (стадии C и D согласно указанной классификации), а также при получении данных о наличии протяжённой структуры передней уретры было показано выполнение данной операции.

Техника операции

Оперативное вмешательство проводится под общей анестезией. В уретру проводят уретральный катетер № 22Ch до места её сужения. От этого участка по центральной поверхности полового члена производят разрез кожи, подкожных тканей и стенки уретры на всём протяжении её пенильного отдела под контролем проведённого зонда (рис. 1).

Затем выполняют второй разрез в промежности с рассечением бульбозного отдела уретры. Растигивают половой член, чтобы уточнить длину структуры. С одной стороны разреза пенильного отдела уретры выделяют продольный центральный кожный лоскут полового члена шириной 1,0 см, ограниченный проксимально линией роста волос; его длина определяется протяжённостью структуры пенильного отдела уретры. Затем выполняют разрез вну-

тренней поверхности пенильного отдела уретры на протяжении поражённого участка, измеряют длину дефекта.



РИС. 1.

Протяжённая структура пенильного отдела уретры

FIG. 1.

Extended stricture of the penile urethra

Выполняют по общепринятым правилам забор букального трансплантата шириной 1,0–1,5 см; его длина соответствует сумме протяжённости структуры пенильного отдела и структуры бульбозного отдела уретры. Первый букальный трансплантат укладывают в дорсальный дефект пенильного отдела уретры, фиксируют узловыми швами полигликонатом 5/0 к уретре в дистальном и проксимальных его участках и непрерывным швом полигликонатом 5/0 – к уретре по боковым стенкам. Затем фиксируют букальный трансплантат по всей его площади к нижележащим кавернозным телам узловыми швами полигликонатом 5/0, обеспечивая его плотное прилегание. Проводят уретральный катетер № 22Ch до мочевого пузыря. Второй букальный трансплантат слизистой внутрь фиксируют на вентральной поверхности бульбозного отдела уретры, используя непрерывный шов полигликонатом 5/0. Кожно-фасциальный лоскут полового члена ротируют и укладывают продольно оси полового члена эпидермисом в просвет уретры на катетер. Затем фиксируют кожно-фасциальный лоскут к вентральному разрезу уретры (сначала правую, затем левую боковые стенки), используя непрерывный шов полигликонатом 5/0 (рис. 2).

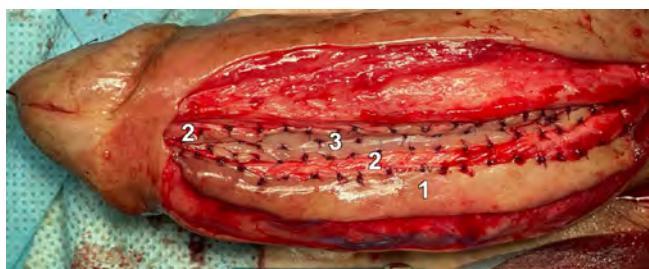


РИС. 2.

Реконструкция передней уретры – пенильный этап: 1 – кожно-фасциальный лоскут; 2 – уретральная пластинка; 3 – букальный гraft

FIG. 2.

Reconstruction of the anterior urethra – penile stage: 1 – fasciocutaneous flap; 2 – urethral plate; 3 – buccal graft

Соединяют кожно-фасциальный лоскут дистально с тканью здоровой уретры, а проксимально – с вентральным букальным трансплантатом бульбозной уретры, выводя для этого лоскут в промежностный разрез. Затем производят замену уретрального катетера на металлический буж № 20Ch; края тканей спонгиозного тела над букальным трансплантатом сопоставляют и ушивают отдельными узловыми швами полигликонатом 4/0 с захватом букального трансплантата с частотой шага 5 мм и с обеих сторон, параллельно линии швов, производят прошивание тканей спонгиозного тела с подхватом букального трансплантата с частотой шага 5 мм, продольно по отношению к линии разреза спонгиозного тела (рис. 3).

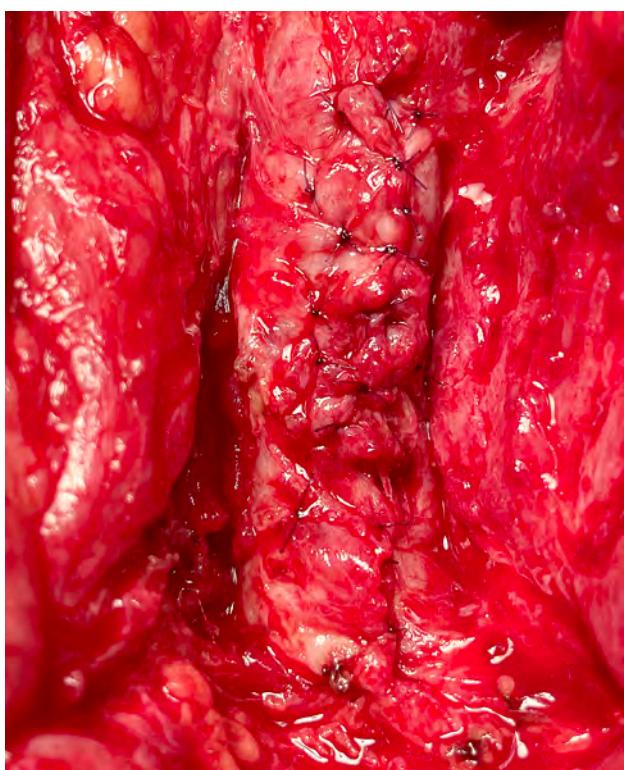


РИС. 3.

Фиксация букального гraftа к спонгиозному телу

FIG. 3.

Fixation of the buccal graft to the spongy body

Используя контралатеральный участок мясистой фасции полового члена, покрывают дополнительным слоем ткани область кожно-фасциального лоскута в пенильном отделе и подшивают её, избегая предыдущей линии швов. На кожу накладывают одиночные узловые швы полигликонатом 3/0.

Меняют буж на катетер Фолея № 14Ch. Осуществляют контроль гемостаза. Производят сведение бульбоспонгиозных мышц, на которые накладывают одиночные узловые швы полигликонатом 3/0. Фасцию, жировую клетчатку и кожу ушивают послойно одиночными узловыми швами полигликонатом 3/0. Накладывают давящую повязку. Катетер удаляют на 21-е сутки с обязательным выполнением перикатетерной уретрографии. При вос-

становлении самостоятельного мочеиспускания удаляют цистостомический дренаж.

Представляем три клинических случая хирургического лечения протяжённой стриктуры передней уретры у больных с ТУ.

Клинический пример 1

Пациент, 37 лет. С 2012 г. наблюдался у невролога по поводу грыжи межпозвоночных дисков L5–S1 с выраженным болевым синдромом. В мае 2015 г. пациент заметил плотное образование в области правого грудино-ключичного сочленения. Выполнена пункция образования, эвакуировано около 20 мл гнойного содержимого. В марте 2016 г. стал отмечать ежедневное гектическое повышение температуры тела до 39 °C, усилились боли в пояснице, появилось снижение мышечной силы и онемение правой ноги. С этого же времени пациент заметил гнойные выделения из мочеиспускательного канала. 20.03.2017 мужчина поступил в одну из клиник города с диагнозом: острый живот. Выполнена диагностическая лапаротомия, однако причина болевого синдрома не была установлена. При дальнейшем обследовании пациента выявлен туберкулёзный спондилит L5–S1 позвонков. В специализированном отделении 24.05.2017 пациент был прооперирован: выполнены нижнесрединная лапаротомия, резекция тел L5–S1 позвонков, передняя декомпрессия дурального мешка, центрального опорного спондилодеза никелидом титана. Во время операции в связи с невозможностью катетеризации мочевого пузыря пациенту выполнена троакарная цистостомия. Результат гистологического исследования ткани позвонка показал хронический продуктивный гранулематозный спондилит с обилием многоядерных клеток, некоторые из них типа Пирогова – Ланханса, что подтвердило туберкулёзную этиологию заболевания.

09.08.2017 в связи с нарастанием симптомов обструктивного мочеиспускания пациенту выполнена уретроцистоскопия, диагностирована стриктура уретры, произведена внутренняя оптическая уретротомия (ВОУТ) в бульбозном отделе уретры, уретральный катетер удален через 2 недели. Однако у пациента нарастали явления хронической неполной задержки мочи, вновь появились гнойные выделения из мочеиспускательного канала. Бактериологическое исследование отделяемого из уретры на микробактерии туберкулёза показало положительный результат. 01.10.2017 была повторно установлена троакарная цистостома в связи с острой задержкой мочи.

После завершения длительного курса специфической противотуберкулёзной терапии выделения из мочеиспускательного канала прекратились, но самостоятельное мочеиспускание у пациента отсутствовало. При выполнении ретроградной уретрограммы и микционной цистоуретрограммы была выявлена протяжённая стриктура передней уретры. Проведённое УЗИ уретры установило умеренную степень спонгиофиброза (стадия D).

19.12.2018 выполнено хирургическое лечение туберкулёзной протяжённой рецидивной стриктуры переднего отдела уретры. Дистальный конец стриктуры локализован через 3 см от наружного отверстия уретры.

После растяжения полового члена общая длина стриктуры определена как 16 см, из них 11 см составила протяжённость стриктуры пенильной уретры и 5 см – протяжённость стриктуры бульбозного отдела уретры. Выполнено оперативное лечение по заявленной технике.

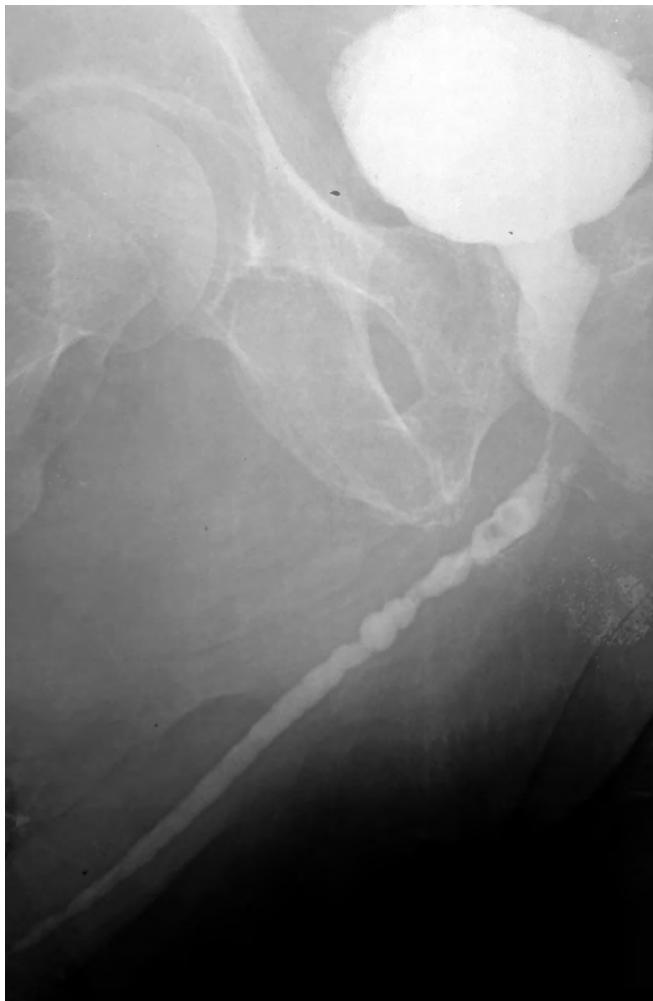
Послеоперационный период у пациента протекал гладко. Уретральный катетер удален на 21-е сутки. Было восстановлено самостоятельное мочеиспускание, после чего удалена цистостома. При контрольном обследовании через год: мочеиспускание самостоятельное, свободное; имеется периодическое подкапывание мочи после акта мочеиспускания. Урофлоуметрия (УФМ): максимальная скорость мочеиспускания (V_{max}) – 21 мл/с; средняя скорость мочеиспускания (V_{avg}) – 12 мл/с; объём остаточной мочи (ООМ) – 0 см³; оценка по шкале выраженности симптомов у пациентов с нарушением мочеиспускания (IPSS, International Prostate Symptom Score) – 8 баллов; качество жизни, связанное с мочеиспусканием (QoL) – 2 балла (удовлетворительно).

Клинический пример 2

Пациент, 67 лет. В течение длительного времени отмечал частое, затруднённое мочеиспускание. В 2016 г. по месту жительства выполнена чрезпузырная аденомэктомия по поводу доброкачественной гиперплазии предстательной железы. При морфологическом исследовании препаратов установлен диагноз: туберкулэз простаты. Больному проводилась специфическая противотуберкулёзная терапия. Через 4 месяца после операции у пациента диагностирована протяжённая стриктура переднего отдела уретры. Установлена эпцистостома. Пациент продолжил специфическое лечение. В феврале 2017 г. пациенту выполнялась ВОУТ – операция была неэффективной. Несмотря на проведение нескольких сеансов бужирования уретры, цистостома была восстановлена по причине нарастания ООМ. При выполнении ретроградной уретрограммы и микционной цистоуретрограммы выявлена протяжённая стриктура передней уретры (рис. 4). Проведённое УЗИ уретры установило умеренную степень спонгиофиброза (стадия D).

02.08.2017 пациенту выполнена операция – комбинированная одномоментная пластика передней уретры: буккальная пластика по методике «inlay» и кожно-фасциальная пластика пенильного отдела по методике «ventral onlay», пластика бульбозного отдела уретры по методике «ventral onlay».

Послеоперационный период у пациента протекал без особенностей. Уретральный катетер удален на 21-е сутки. У пациента восстановлено самостоятельное мочеиспускание, затем был удален цистостомический дренаж. Через 17 месяцев после операции появилось затруднённое мочеиспускание, при обследовании выявлена контрактура шейки мочевого пузыря. В феврале 2019 г. проведена трансуретральная резекция шейки мочевого пузыря. На контрольном обследовании в феврале 2021 г.: пациент предъявляет жалобы на частое мочеиспускание; данные УФМ: V_{max} – 17 мл/с; V_{avg} – 11 мл/с; ООМ – 40 см³; оценка по IPSS – 9 баллов; QoL – 1 балл (хорошо). На контрольной ретроградной уретрографии обструкции уретры не выявлено (рис. 5).

**РИС. 4.**

Пациент, 67 лет: уретrogramма до оперативного лечения

FIG. 4.

Patient, 67 years old: urethrogram before surgery

**РИС. 5.**

Пациент Б., 67 лет: уретrogramма через 54 мес. после оперативного лечения

FIG. 5.

Patient, 67 years old: urethrogram 54 months after surgery

Клинический пример 3

Пациент, 57 лет. Мужчина 15 лет назад перенёс туберкулёз лёгких. В 2012 г. диагностирован туберкулёз мочевой системы; в течение 4 лет проводились курсы специфической противотуберкулёзной терапии. С 2015 г. мужчина отмечал затруднённое мочеиспускание, периодически прерывистое, вялой струёй, мутные выделения из мочеиспускательного канала. В 2018 г. установлен диагноз стриктуры уретры. Пациенту неоднократно проводились курсы бужирования мочеиспускательного канала по месту жительства без выраженного эффекта. В ноябре 2018 г. выполнена внутренняя оптическая уретротомия в бульбозном отделе уретры, через 3 месяца диагностирован рецидив заболевания. Повторная ВОУТ произведена в июне 2019 г. 11.11.2019 развилась острая задержка мочи, по поводу чего установлена троакарная цистостома.

Пациенту проведён длительный курс противовоспалительной, антибактериальной терапии. Дальнейшее обследование в объёме комбинированной ретроград-

ной уретrogramмы и миционной цистоуретrogramмы установило наличие протяжённой стриктуры переднего отдела уретры. Выполнено УЗИ уретры, которое выявило умеренную степень спонгиофиброза в степени D. 17.03.2020 пациенту выполнено хирургическое лечение посттуберкулёзной протяжённой рецидивной стриктуры переднего отдела уретры. Интраоперационно в уретру проведён уретральный катетер № 22Ch, встретивший через 3 см непреодолимое препятствие. После лёгкой тракции полового члена установлена общая длина стриктуры – 14 см. Выполнено оперативное лечение по предложенной методике.

Послеоперационный период у пациента протекал гладко. Уретральный катетер удалён на 21-е сутки. Восстановлено самостоятельное мочеиспускание, удалена цистостома. При контрольном обследовании через год: мочеиспускание самостоятельное, свободное, периодически учащённое. УФМ: V_{max} – 16 мл/с; V_{avg} – 11 мл/с; ООМ – 50 см³; оценка по IPSS – 9 баллов; QoL – 1 балл (хорошо).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов описанной группы возникли 4 (10,0 %) рецидива. 1 (2,5 %) пациенту установлена постоянная цистостома, 1 (2,5 %) выполнена внутренняя оптическая уретротомия, 1 (2,5 %) – трансуретральная резекция шейки мочевого пузыря, в 1 (2,5 %) случае установлена постоянная нефростома. Возникший второй рецидив на фоне прогрессирования СУ был причиной выполнения в дальнейшем операции Митрофанова (аппендицистостомия) у 1 (2,5 %) пациента.

В целом из 44 пациентов с ТУ самостоятельное мочеиспускание было восстановлено только у 28 (63,6 %), что, прежде всего, обусловлено тяжёлой деструкцией уретры на фоне общего тяжёлого соматического состояния пациентов, а также низкой приверженностью данных больных к лечению и отказом от второго этапа хирургического лечения. Ещё одним фактором является то, что сложные реконструктивные операции у пациентов с ТУ начали применяться сравнительно недавно. Несомненно, использование одномоментных вмешательств при протяжённых структурах уретры в данной группе больных улучшит отдалённые результаты лечения.

Обычно туберкулёзные структуры уретры сопровождают специфическое поражение мочевого пузыря со снижением его резервуарной функции, однако при сохранённом объёме мочевого пузыря встаёт вопрос о восстановлении проходимости мочеиспускательного канала. В настоящее время большинство авторов придерживаются мнения о том, что предпочтительным методом хирургического лечения ТУ, осложнённого структурой мочеиспускательного канала, является уретропластика, сроки и характер которой не определены, но в любом случае ей должна предшествовать противотуберкулёзная терапия, проводимая в течение не менее 4–6 недель [8]. Применение боккального гraftа в хирургии ТУ представлено единичными наблюдениями в которых не отражены отдалённые результаты этих операций [9–11].

В настоящее время большинство структур уретры могут быть устраниены в результате одномоментного вмешательства с использованием различных гraftов, лоскутов либо резекции поражённого участка уретры и анастомоза конец в конец [12]. Идея о том, что практически любую пануретральную структуру можно ликвидировать таким образом, комбинируя различные методики, была выдвинута достаточно давно [13].

Однако в случае наличия рецидивной протяжённой, а именно пануретральной, структуры уретры во многих случаях проводится не только второй этап операции, но часто три и более реконструктивных вмешательств. Проводимые манипуляции между этапами, такие как бужирование, уретроскопия, возможная ВОУТ, также влияют на выбор пациента в сторону отказа от дальнейшего хирургического лечения [14]. Большинство пациентов с посттуберкулёзной структурой уретры, в основе которой лежит длительный воспалительный процесс, вынуждены жить с цистостомическим дренажём, на фоне низкого качества жизни, с перманентной инфекцией низ-

ких мочевых путей и прогрессирующим снижением ёмкости мочевого пузыря [15].

Применённая нами методика показала возможность оперативного лечения при этой тяжёлой патологии.

B.A. Erickson и соавт. выполнили 14 пациентам комбинированную уретропластику при протяжённой облитерации передней, в основном висячей, уретры с использованием центрального кожного лоскута и дорсального боккального гraftа, из них у 11 больных успешно. При данной операции авторы полностью удаляли все ткани передней уретры. Необходимость одномоментного замещения мочеиспускательного канала они обосновывали нежеланием многих пациентов жить с перинеостомой в течение длительного срока. Успешность операции расценивалась авторами первично как отсутствие уретральной обструкции в течение более 6 месяцев; вторичный успех определялся как необходимость однократного эндоскопического послеоперационного вмешательства. Эффективность реконструкции, по мнению авторов, объяснялась тем, что каждый лоскут питался от различных источников кровоснабжения, дополнительно фиксировался к боковым стенкам кавернозных тел, и само отсутствие тубулярности даёт лучшую устойчивость неуретры [16].

J. Gelman и W. Sohn выполнили 12 пациентам одномоментную пластику уретры в пенильной её части с реконструкцией ладьевидной ямки, используя центральный кожный лоскут и дорсальный боккальный гraft. Срок наблюдения за пациентами составил от 7 до 96 мес. Боккальный гraft дополнительно фиксировался к кавернозным телам. У 2 пациентов возникли уретрокожные fistулы, которые в дальнейшем были успешно ликвидированы [17].

C.R. Giudice и соавт. наблюдали 21 пациента; средний срок наблюдения составил 25 мес. Мужчинам выполнена комбинированная одномоментная уретропластика с использованием центрального пенильного лоскута и дорсального боккального гraftа при протяжённой облитерации передней уретры. У трёх пациентов операция была расценена как неудачная: двоим выполнялось бужирование и одному – повторная реконструкция уретры. Таким образом, успешность этих операций была расценена как 85,7 % [18].

S. Chodisetti и соавт. для реконструкции пануретральных структур использовали (при сохранной уретральной пластинке шириной не менее 3 мм) два боккальных гraftа: один располагался центрально в проксимальном отделе бульбозного отдела уретры, второй – по типу «dorsal onlay» в дистальной части бульбозного отдела и на протяжении пенильного отдела передней уретры. Авторы прооперировали 38 пациентов с окончательным уровнем успеха 84,2 % [19].

В нашем небольшом наблюдении мы использовали комбинацию аутотрансплантатов – кожно-фасциальный лоскут и два боккальных гraftа.

Преимуществами данной методики, по нашему мнению, являются:

- отсутствие дорсальной мобилизации бульбозного отдела уретры и её рекрутинга (разворачивания),

что профилактирует повреждение артериальных сосудов, идущих вдоль уретры;

- вакуляризация лоскутов из различных участков;
- сохранение части ткани уретры, которая обеспечивает опорную функцию для лоскутов, их дополнительную вакуляризацию и возможность регенерации уретелия;
- отказ от использования кругового лоскута кожи полового члена, что даёт возможность выполнения данной операции больным после ранее выполненного обрезания крайней плоти;
- забор одного букального аутотрансплантата длиной, соответствующей сумме протяжённости стриктуры пенильного отдела и стриктуры бульбозного отдела, что является хирургически более простым, а для пациента – менее травматичным, методом, чем взятие двух разных трансплантатов;
- разделение букального трансплантата на два соответствующих дефекту фрагмента, что позволяет восстановить два поражённых участка уретры – пенильный и бульбозный отделы уретры;
- использование букальных трансплантатов небольшой ширины, что снижает риск некроза трансплантатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По нашему мнению, данные клинические случаи демонстрируют возможность восстановления проходимости уретры при её туберкулёзной (посттуберкулёзной) стриктуре, даже при протяжённом поражении мочеиспускательного канала, и достижения приемлемого качества жизни у пациентов с этой сложной патологией.

Финансирование

Статья не имела финансирования.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии у них конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mittal A, Ranjan S, Narain T, Panwar V. Surgical management of genitourinary tuberculosis: Our experience and review of literature. *Pol Przegl Chir.* 2020; 92(6): 1-6. doi: 10.5604/01.3001.0014.3669
2. Волков А.А., Зубань О.Н. Обструктивная уропатия при нефротуберкулёзе и результаты ее хирургической коррекции. *Проблемы туберкулёза и болезней лёгких.* 2009; 86(4): 59-61.
3. Figueiredo AA, Lucon AM, Srougi M. Urogenital tuberculosis. *Microbiol Spectr.* 2017 Jan; 5(1). doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0015-2016
4. Wise GJ, Shteynshlyuger A. An update on lower urinary tract tuberculosis. *Curr Urol Rep.* 2008; 9(4): 305-313. doi: 10.1007/s11934-008-0053-9
5. Symes JM, Blandy JP. Tuberculosis of the male urethra. *Br J Urol.* 1973; 45(4): 432-436. doi: 10.1111/j.1464-410x.1973.tb12184.x

6. Фрейдович А.И. *Клиническая фтизиоурология.* М.: Медицина; 2002.

7. Мочалова Т.П. *Туберкулез мочевых путей (диагностика, клиника, лечение).* Ташкент: Медицина УзССР; 1976.

8. Devine CJ, Devine PD, Felderman TP, Burns CN. Classification and standardization of urethral strictures. *American Urological Association: 78th Annual Meeting.* 1983; Abstract 325.

9. Gupta N, Mandal AK, Singh SK. Tuberculosis of the prostate and urethra: A review. *Indian J Urol.* 2008; 24(3): 388-391. doi: 10.4103/0970-1591.42623

10. Singh O, Gupta SS, Arvind NK. A case of extensive genitourinary tuberculosis: Combined augmentation ileo-cystoplasty, ureteric ileal replacement and buccal mucosal graft urethroplasty. *Updates Surg.* 2013; 65(3): 245-248. doi: 10.1007/s13304-012-0141-8

11. Волков А.А., Зубань О.Н., Будник Н.В. Туберкулезные стриктуры и облитерации уретры. *Урология.* 2021; 55: 108.

12. Levy ME, Elliott SP. Graft use in bulbar urethroplasty. *Urol Clin North Am.* 2017; 44(1): 39-47. doi: 10.1016/j.ucl.2016.08.009

13. Wessells H, Morey AF, McAninch JW. Single stage reconstruction of complex anterior urethral strictures: Combined tissue transfer techniques. *J Urol.* 1997; 157(4): 1271-1274.

14. Andrich DE, Greenwell TJ, Mundy AR. The problems of penile urethroplasty with particular reference to 2-stage reconstructions. *J Urol.* 2003; 170(1): 87-89. doi: 10.1097/01.ju.0000069721.20193.fd

15. Волков А.А., Зубань О.Н., Решетников М.Н., Плоткин Д.В., Богородская Е.М. Хирургическое лечение туберкулёза уретры у мужчин – история и современность (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(4): 220-229. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.20

16. Erickson BA, Breyer BN, McAninch JW. Single-stage segmental urethral replacement using combined ventral onlay fasciocutaneous flap with dorsal onlay buccal grafting for long segment strictures. *BJU Int.* 2012; 109(9): 1392-1396. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10483.x

17. Gelman J, Sohn W. 1-stage repair of obliterative distal urethral strictures with buccal graft urethral plate reconstruction and simultaneous onlay penile skin flap. *J Urol.* 2011; 186(3): 935-938. doi: 10.1016/j.juro.2011.04.056

18. Giudice CR, Becher E, Olivares AM, Tobía I, Favre GA. Dorsal oral mucosa graft in combination with ventral penile flap as an alternative to repair obliterative stenosis of the anterior urethra in a single surgical time. *Int Braz J Urol.* 2020; 46(1): 83-89. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2019.0299

19. Chodisetti S, Boddepalli Y, Kota M. Repair of panurethral stricture: Proximal ventral and distal dorsal onlay technique of buccal mucosal graft urethroplasty. *Arab J Urol.* 2017; 16(2): 211-216. doi: 10.1016/j.aju.2017.11.007

REFERENCES

1. Mittal A, Ranjan S, Narain T, Panwar V. Surgical management of genitourinary tuberculosis: Our experience and review of literature. *Pol Przegl Chir.* 2020; 92(6): 1-6. doi: 10.5604/01.3001.0014.3669
2. Volkov AA, Zuban ON. Obstructive uropathy in nephrotuberculosis and the results of its surgical correction. *Problems of Tuberculosis and Lung Diseases.* 2009; 86(4): 59-61. (In Russ.).
3. Figueiredo AA, Lucon AM, Srougi M. Urogenital tuberculosis. *Microbiol Spectr.* 2017 Jan; 5(1). doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0015-2016

4. Wise GJ, Shteynshlyuger A. An update on lower urinary tract tuberculosis. *Curr Urol Rep.* 2008; 9(4): 305-313. doi: 10.1007/s11934-008-0053-9
5. Symes JM, Blandy JP. Tuberculosis of the male urethra. *Br J Urol.* 1973; 45(4): 432-436. doi: 10.1111/j.1464-410x.1973.tb12184.x
6. Freidovich AI. *Clinical phthisiourology*. Moscow: Meditsina; 2002. (In Russ.).
7. Mochalova TP. *Tuberculosis of the urinary tract (diagnosis, clinic, treatment)*. Tashkent: Meditsina UzSSR; 1976. (In Russ.).
8. Devine CJ, Devine PD, Felderman TP, Burns CN. Classification and standardization of urethral strictures. *American Urological Association: 78th Annual Meeting*. 1983; Abstract 325.
9. Gupta N, Mandal AK, Singh SK. Tuberculosis of the prostate and urethra: A review. *Indian J Urol.* 2008; 24(3): 388-391. doi: 10.4103/0970-1591.42623
10. Singh O, Gupta SS, Arvind NK. A case of extensive genitourinary tuberculosis: Combined augmentation ileo-cystoplasty, ureteric ileal replacement and buccal mucosal graft urethroplasty. *Updates Surg.* 2013; 65(3): 245-248. doi: 10.1007/s13304-012-0141-8
11. Volkov AA, Zuban ON, Budnik NV. Tuberculous strictures and obliterations of the urethra. *Urologiia.* 2021; 55: 108. (In Russ.).
12. Levy ME, Elliott SP. Graft use in bulbar urethroplasty. *Urol Clin North Am.* 2017; 44(1): 39-47. doi: 10.1016/j.ucl.2016.08.009
13. Wessells H, Morey AF, McAninch JW. Single stage reconstruction of complex anterior urethral strictures: Combined tissue transfer techniques. *J Urol.* 1997; 157(4): 1271-1274.
14. Andrich DE, Greenwell TJ, Mundy AR. The problems of penile urethroplasty with particular reference to 2-stage reconstructions. *J Urol.* 2003; 170(1): 87-89. doi: 10.1097/01.ju.0000069721.20193.fd
15. Volkov AA, Zuban ON, Reshetnikov MN, Plotkin DV, Bogorodskaya EM. Surgical treatment of urethral tuberculosis in men – history and present (literature review). *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(4): 220-229. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.20
16. Erickson BA, Breyer BN, McAninch JW. Single-stage segmental urethral replacement using combined ventral onlay fasciocutaneous flap with dorsal onlay buccal grafting for long segment strictures. *BJU Int.* 2012; 109(9): 1392-1396. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10483.x
17. Gelman J, Sohn W. 1-stage repair of obliterative distal urethral strictures with buccal graft urethral plate reconstruction and simultaneous onlay penile skin flap. *J Urol.* 2011; 186(3): 935-938. doi: 10.1016/j.juro.2011.04.056
18. Giudice CR, Becher E, Olivares AM, Tobía I, Favre GA. Dorsal oral mucosa graft in combination with ventral penile flap as an alternative to repair obliterative stenosis of the anterior urethra in a single surgical time. *Int Braz J Urol.* 2020; 46(1): 83-89. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2019.0299
19. Chodisetti S, Boddepalli Y, Kota M. Repair of panurethral stricture: Proximal ventral and distal dorsal onlay technique of buccal mucosal graft urethroplasty. *Arab J Urol.* 2017; 16(2): 211-216. doi: 10.1016/j.aju.2017.11.007

Сведения об авторах

Волков Андрей Александрович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»; начальник хирургического центра, ГБУ «Госпиталь для ветеранов войн» Ростовской области, e-mail: volkov73a@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8374-191X>

Будник Николай Валерьевич – кандидат медицинских наук, начальник, ГБУ «Госпиталь для ветеранов войн» Ростовской области, e-mail: budnik@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9672-2571>

Зубан Олег Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача, ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: pan_zuban@msn.com, <https://orcid.org/0000-0003-4459-0244>

Решетников Михаил Николаевич – кандидат медицинских наук, врач-хирург, ведущий научный сотрудник, ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: taxol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4418-4601>

Плоткин Дмитрий Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, врач-хирург, ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: kn13@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6659-7888>

Богородская Елена Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, директор, ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: BogorodskayaEM@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4552-5022>

Яровая Елена Владимировна – студентка 5-го курса педиатрического факультета, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: yarovayaev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5958-6761>

Information about authors

Andrey A. Volkov – Cand. Sc. (Med.), Research Officer, Moscow Scientific and Clinical Center for TB Control, Moscow Healthcare Department; Head of Surgical Center, Hospital of War Veterans of the Rostov Region, e-mail: volkov73a@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8374-191X>

Nikolay V. Budnik – Cand. Sc. (Med.), Head, Hospital of War Veterans of the Rostov Region, e-mail: budnik@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9672-2571>

Oleg N. Zuban – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Head Physician, Moscow Scientific and Clinical Center for TB Control, Moscow Healthcare Department, e-mail: pan_zuban@msn.com, <https://orcid.org/0000-0003-4459-0244>

Mikhail N. Reshetnikov – Cand. Sc. (Med.), Surgeon, Leading Research Officer, Moscow Scientific and Clinical Center for TB Control, Moscow Healthcare Department, e-mail: taxol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4418-4601>

Dmitry V. Plotkin – Cand. Sc. (Med.), Docent, Surgeon, Moscow Scientific and Clinical Center for TB Control, Moscow Healthcare Department, e-mail: kn13@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6659-7888>

Elena M. Bogorodskaya – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Moscow Scientific and Clinical Center for TB Control, Moscow Healthcare Department, e-mail: BogorodskayaEM@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4552-5022>

Elena V. Yarovaya – 5th year Student, Pediatric Faculty, Rostov State Medical University, e-mail: yarovayaev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5958-6761>

ЭТАПНОЕ ЛЕЧЕНИЕ АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА У РОДИЛЬНИЦЫ С COVID-19 И ПАНКРЕОНЭКРОЗОМ ПОСЛЕ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ: КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

РЕЗЮМЕ

Григорьев Е.Г.^{1,2},
Середа Л.В.²,
Аюшинова Н.И.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)
² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Григорьев Евгений Георгиевич,
e-mail: egg@iokb.ru

Цель работы. Описание истории болезни и обсуждение лечебной тактики уродильницы после кесарева сечения на фоне панкреонекроза, панмитрита, абдоминального сепсиса, COVID-19.

Материал и методы. Беременная 30 лет (30–31-я неделя) госпитализирована в перинатальный центр через 5 суток после появления опоясывающих болей в животе и неукротимой рвоты, которая не приносила облегчения. В анамнезе – кесаревы сечения 10 и 5 лет назад. Диагностирован стерильный панкреонекроз. Успешное кесарево сечение. При ревизии брюшной полости в верхнем этаже обнаружены множественные бляшки жирового некроза, оментобурсит. Выполнены абдоминизация поджелудочной железы, холецистостомия, дренирование живота. На основании клинико-рентгенологического исследования и ПЦР-теста установлен COVID-19. Развился инфицированный панкреонекроз, осложнившийся некротическим оментитом, абсцессом сальниковой сумки (*Enterococcus faecalis* 10⁷ КОЕ, *Acinobacter baumannii* 10⁶ КОЕ), абдоминальным сепсисом, успешное лечение. При влагалищном исследовании появилось геморрагическое отделяемое (*Klebsiella pneumoniae* 10⁵ КОЕ, *Pseudomonas aeruginosa* 10⁵ КОЕ). Экстирпация матки – дефект передней стенки, тромбоз маточных артерий и вен, периферических сосудов. Наступило выздоровление. При поступлении индекс массы тела был 26,03 кг/м², при выписке – 18,22 кг/м², через 3 месяца – 23,61 кг/м².

Заключение. В период пандемии COVID-19 беременные нередко становятся мишенью для SARS-CoV-2. Профилактика, диагностика и лечение коронавирусной инфекции должны проводиться согласно методическим рекомендациям Минздрава России. В приведённом наблюдении в патогенезе осложнений стерильного панкреонекроза, кесарева сечения, абдоминального сепсиса большое значение имеют изменения, вызванные ишемией органов в результате повреждения эндотелия и тромбообразования в периферических сосудах. Тяжесть состояния, безусловно, определял и разнообразный микробный пейзаж – ассоциации четырёх представителей агрессивной госпитальной инфекции в высокой концентрации.

Ключевые слова: беременность, COVID-19, панкреонекроз, кесарево сечение, абдоминальный сепсис, экстирпация матки

Статья получена: 28.03.2022
Статья принята: 29.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Григорьев Е.Г., Середа Л.В., Аюшинова Н.И. Этапное лечение абдоминального сепсиса у родильницы с COVID-19 и панкреонекрозом после кесарева сечения: клиническое наблюдение. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 240-246. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.24

STAGED TREATMENT OF ABDOMINAL SEPSIS IN A PUEPERA WITH COVID-19 AND PANCREATONECROSIS AFTER CESAREAN SECTION: CASE REPORT

ABSTRACT

Grigoryev E.G.^{1,2},
Sereda L.V.¹,
Ayushinova N.I.^{1,2}

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State Medical University
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Evgeny G. Grigoryev,
e-mail: egg@iokb.ru

The aim of the study. Description of the medical history and discussion of treatment tactics in a puerperal woman after a caesarean section against the background of pancreatic necrosis, panmetritis, abdominal sepsis, COVID-19.

Material and methods. A 30-year-old pregnant woman (30–31 weeks) was hospitalized in a perinatal center 5 days after the onset of girdle pain in the abdomen and uncontrollable vomiting, which did not bring relief. She had a history of caesarean sections 10 and 5 years ago. Sterile pancreatic necrosis was diagnosed. Successful caesarean section was performed. During the revision of the abdominal cavity, multiple plaques of fatty necrosis, omentobursitis were found in the upper abdomen. The treatment included pancreatic abdominization, cholecystostomy, abdominal drainage. Clinical roentgenologic examination and PCR-test verified COVID-19. Infected pancreatonecrosis developed, complicated with necrotic omentitis, abscess of the omental bursa (*Enterococcus faecalis* 10^7 CFU, *Acinobacter baumani* 10^6 CFU), abdominal sepsis, successfully treated. During vaginal examination, hemorrhagic discharge appeared (*Klebsiella pneumoniae* 10^5 CFU, *Pseudomonas aeruginosa* 10^5 CFU). Extirpation of the uterus revealed the defect of the anterior wall, thrombosis of the uterine arteries and veins, peripheral vessels. The patient recovered. The body build index was 26.03 kg/m^2 at admission, 18.22 kg/m^2 – at discharge, 23.61 kg/m^2 – 3 months later.

Conclusion. 1. During the COVID-19 pandemic, pregnant women are often targeted by SARS-CoV-2. Prevention, diagnosis and treatment of coronavirus infection should be carried out according to the recommendations approved by the authorized health organ. 2. In the presented case report, the pathogenesis of complicated sterile pancreatonecrosis, cesarean section, abdominal sepsis were significantly influenced by changes due to organ ischemia in the result of peripheral vessels thrombosis. 3. The severity of the patient's condition was certainly determined by the miscellaneous microbial profile – association of four agents of aggressive in-hospital infection in high concentration.

Key words: pregnancy, COVID-19, pancreatonecrosis, cesarean section, abdominal sepsis, uterine extirpation

Received: 28.03.2022

Accepted: 29.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Grigoryev E.G., Sereda L.V., Ayushinova N.I. Staged treatment of abdominal sepsis in a puerpera with COVID-19 and pancreatonecrosis after cesarean section: case report. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 240-246. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.24

ВВЕДЕНИЕ

В течение последних трёх лет SARS-CoV-2 нередко инфицирует беременных и, безусловно, негативно влияет на течение перинатального периода [1], фоновых и сопутствующих заболеваний.

Это связано с тем, что основной мишенью вируса оказывается эндотелий сосудов. Его повреждение обуславливает тромбообразование в артериоло-капиллярном сегменте сосудистого русла, нарушение органного кровотока. После родоразрешения кесаревым сечением на фоне COVID-19 заживление матки очевидно также страдает. В условиях ишемии (периферические тромбозы) создаются благоприятные условия для развития госпитальной инфекции родовых путей. Усугубляют ситуацию связанные с COVID-19 вирусная пневмония, дыхательная недостаточность [1, 2], выраженность которых связана с объёмом поражения лёгких.

Частота развития острого панкреатита (ОП) у беременных составляет 1 на 4000 женщин. Обычно ОП развивается во II–III триместрах и серьёзно осложняет перинатальный период [2, 3, 4]. При инфицированном панкреонекрозе летальность варьирует в пределах 25–65% [5], достигая 73 % при панкреатическом (абдоминальном) сепсисе [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Обсуждение лечебной тактики у родильницы после кесарева сечения на фоне панкреонекроза, панметрита, абдоминального сепсиса и COVID-19.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациентка 30 лет доставлена в областной перинатальный центр 16.11.2021, через 5 суток после появления опоясывающих болей в животе и неукротимой рвоты, которая не приносила облегчения. Беременность 30–31 неделя. В анамнезе – успешные кесаревы сечения 10 и 5 лет назад. Осмотрена хирургом, диагностирован ОП. ПЦР-тест на COVID-19 при поступлении отрицательный.

Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) подтвердила диагноз: стерильный панкреонекроз, центрально-левый тип (рис. 1).

Выполнено кесарево сечение. Мальчик, вес 1400 г, рост 42 см, по шкале Апгар – 6–7 баллов. Плацента: масса 280 г, диаметр 12 см. Пуповина 15 см. Оболочка синюшная, материнская поверхность слажена. Гистологическое заключение: преждевременное созревание ворсинчатого дерева на уровне зрелых терминальных ворсин; плодные оболочки и пуповина без особенностей. Заключение: хроническая плацентарная недостаточность 2–3-й степени, плацентарная форма.

После акушерского этапа операции проведена ревизия брюшной полости: множественные очаговые стеатонекрозы на париетальной и висцеральной брюшинах верхнего этажа живота. До 200 мл геморрагической

жидкости под диафрагмой слева. Рассечена желудочно-поперечно-ободочная связка. В сальниковой сумке – до 100 мл геморрагической жидкости, фибрин. В отёчной парапанкреальной клетчатке поджелудочная железа визуально не дифференцируется. Выполнена её абдоминизация. Желчный пузырь увеличен в размерах, напряжён. Холецистостомия. Дренирование сальниковой сумки, левого поддиафрагмального пространства, малого таза.

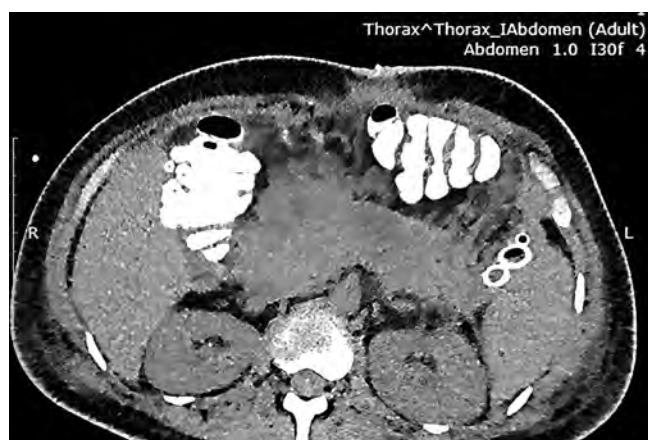


РИС. 1.

МСКТ: стерильный панкреонекроз, центрально-левый тип

FIG. 1.

Computed tomogram scan: sterile pancreatonecrosis of central-left type

Через 5 часов переведена в отделение интенсивной терапии хирургического стационара. Рост – 154 см, вес – 70 кг, индекс массы тела (ИМТ) – 26,03 кг/м². Состояние тяжёлое, по шкале комы Глазго – 15 баллов, по SOFA – 2. Сознание ясное. Кожа и слизистые оболочки обычной окраски. Периферическая температура тела 37,6 °C. Самостоятельное дыхание. Ингаляция кислорода через лицевую маску. SpO₂ = 99%. Систолическое АД – 136 мм рт. ст., диастолическое – 89 мм рт. ст., среднее – 104,7 мм рт. ст. Пульс – 86/мин, ритмичный. При аусcultации лёгких дыхание симметричное, заметно ослаблено в нижних отделах сзади с обеих сторон. Немногочисленные сухие хрипы. Тоны сердца обычные, шумов нет. Язык чистый, влажный. Брюшная стенка болезненна при пальпации. По дренажам выделилось до 100 мл геморрагической жидкости (амилаза не обнаружена). Из желчного пузыря – тёмная желчь до 150 мл. Диурез нормальный, моча обычного цвета.

В общем анализе крови (ОАК): лейкоциты – 12,6 × 10⁹/л, нейтрофилы – 89,3 %, лимфоциты – 5,6 %. Прокальцитонин – 1,4 нг/мл; С-реактивный белок (СРБ) – 289 г/л. Лактат крови – 1,5 ммоль/л. Протромбиновое время – 14,1 с, фибриноген – 4,62 г/л.

Бактериологическое исследование аспириата из матки – *Enterococcus faecalis* 10² КОЕ. Антибактериальная терапия: меронем 3 г/сут., метронидазол 1,5 г/сут. Назначен клексан 40 мг 1 раз/сут.

Через 2 суток на фоне субфебрильной температуры, несмотря на адекватную инфузционную терапию, состояние ухудшилось: постоянная жажда, боли в животе, одышка, нехватка воздуха. Язык сухой, брюшная стенка в дыхании не участвует, умеренно болезненна во всех отделах. Перистальтика кишечника не выслушивается. Холецистостома не функционирует. Появилась желчь в дренаже, установленном в малый таз. Из сальниковой сумки отделяется непрозрачная жидкость с фибрином (микробиологическое исследование – *Acinetobacter baumannii* 10^6 КОЕ).

ОАК: лейкоциты – $17,1 \times 10^9$ /л, нейтрофилы – 92,6 %, лимфоциты – 3,3 %. Прокальцитонин – 1,9 нг/мл; СРБ – 234 г/л; SOFA – 2.

18.11.2021 выполнена релапаротомия. В брюшной полости серозно-геморрагический выпот с незначительной примесью желчи по правому фланку. Дефект стенки желчного пузыря до 2 мм. Кисетный шов. В сальниковой сумке небольшое количество геморрагической жидкости, фибрин. Санация брюшной полости.

В послеоперационном периоде – фебрильная и гектическая температура. Учитывая, что тяжесть клинических проявлений не соответствовала обнаруженным изменениям в брюшной полости, нарастила интоксикация, заподозрена новая коронавирусная инфекция. Эту версию 21.11.2021 подтвердил ПЦР-тест. Переведена в хирургическое отделение ковидного госпиталя. На МСКТ органов грудной клетки в дорзальных отделах правого лёгкого – перибронхиальная инфильтрация (–1 Ед. Н.). Нижняя доля левого лёгкого уменьшена в объёме, безвоздушна. Заключение: обнаруженные изменения характерны для COVID-19 (объём поражения – до 15%, КТ – 1).

Лечение коронавирусной инфекции назначено согласно 14-й версии методических рекомендаций Минздрава России: ремдесивир 200 мг/сут. с 21.11.2021, затем по 100 мг/сут. с 22.11.2021 по 01.12.2021. Продолжалась искусственная вентиляция лёгких. Сформирована трахеостома.

В течение последующих 5 суток проводилась интенсивная терапия, продолжены инъекции меронема, пропточно-промывная санация парапанкреальной области. Из плевральной полости слева функционно эвакуировано 600 мл серозной жидкости без признаков инфицирования. Амилаза не обнаружена. ОАК: лейкоциты – $14,31 \times 10^9$ /л, нейтрофилы – 89,4 %, лимфоциты – 6,3 %, эритроциты – $2,84 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин – 87,0 г/л. СРБ – 256,3 г/л; прокальцитонин – 2,5 нг/мл.

Сохранился парез кишечника, увеличилось отделяемое по дренажам. В течение суток гектическая температура. Состояние расценено как абдоминальный сепсис на фоне COVID-19.

23.11.2021 выполнена релапаротомия. Вскрыт абсцесс малого сальника до 50 мл, этапная некрэктомия с удалением парапанкреальной и параколярной жировой клетчатки в зоне левого изгиба поперечной ободочной кишки. Гистологическое заключение: жировая ткань с очагами некроза, полиморфно-клеточной воспалительной инфильтрацией, полнокровны-

ми расширенными сосудами, в просветах которых фибриновые тромбы.

Большой сальник тёмно-багрового цвета, покрыт бляшками жирового некроза. Субтотальная резекция. Санация брюшной полости. Швы на матке внешне состоятельны. Для профилактики компартмент-синдрома живот герметизирован кожным швом над силиконовой пластиной с аспиратором-ирригатором.

Гистологическое заключение (большой сальник): жировая ткань с продуктивным компонентом гнойно-некротического воспаления, множественные венозные тромбы.

Микробиологическое исследование: *Enterococcus faecalis* 10^7 КОЕ, *Acinetobacter baumannii* 10^6 КОЕ. Назначены максиктам 2 г/сут., амикацин 1 г/сут.. Постепенное улучшение состояния, восстановилась перистальтика. Сохранилась одышка: 22–24 дыхания в минуту.

На МСКТ грудной клетки от 07.12.2021 – двухсторонняя интерстициальная пневмония (COVID-19). Объём поражения – 15–20 %, КТ – 1 (рис. 2). УЗИ живота от 10.12.2021, 13.12.2021: диффузные изменения в поджелудочной железе. Послеоперационные изменения в брюшной полости. Матка не увеличена, полость не расширена, содержимое минимально. Послеоперационный рубец с мелкими жидкостными включениями.

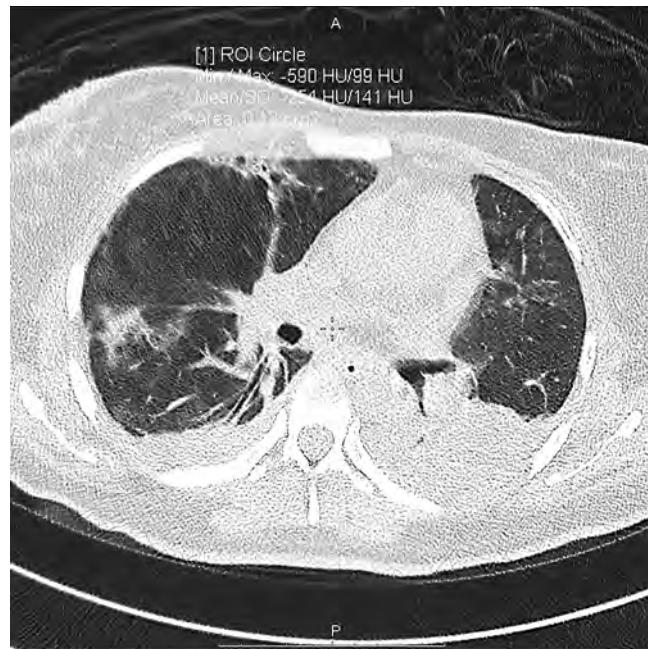


РИС. 2.
МСКТ грудной клетки: двухсторонняя интерстициальная пневмония; объём поражения – 15–20 %, КТ – 1

FIG. 2.
Computed tomogram scan of the chest: bilateral interstitial pneumonia with lesion area up to 15–20 %, CT – 1

Вновь появилась фебрильная температура, лейкоцитоз. Прокальцитонин – 1,9 нг/мл, СРБ – 288 г/л, Д-димер –

5025,4 мкг/л. Из влагалища во время пальцевого исследования выделилось до 50 мл геморрагической жидкости. Бактериологическое исследование: *Klebsiella pneumoniae* 10⁵ КОЕ, *Pseudomonas aeruginosa* 10⁵ КОЕ, ESBL-бета-лактамаза расширенного спектра. *Klebsiella pneumoniae* – продуцирование карбапенемазы. Показана экстирпация матки.

15.12.2021 – релапаротомия. В верхнем этаже воспалительный процесс купирован. Дехолецистостомия. В малом тазу выражено спайкообразование. Тело матки до 7 недель. К задней стенке на уровне крестцово-маточных связок фиксирован ректосигмоидный отдел толстой кишки. Адгезиолизис, энтеролиз, сальпинго-вариолизис. Экстирпация матки без придатков. Маточные артерии и вены тромбированы. Дренирование малого таза по Старовойтову. Макропрепарат: тело матки 8 × 7 × 4 см. Линейный дефект стенки выше линии швов на протяжении 2 см. Полость расширена. Слизистая оболочка и плацентарная площадка бурого цвета (рис. 3).

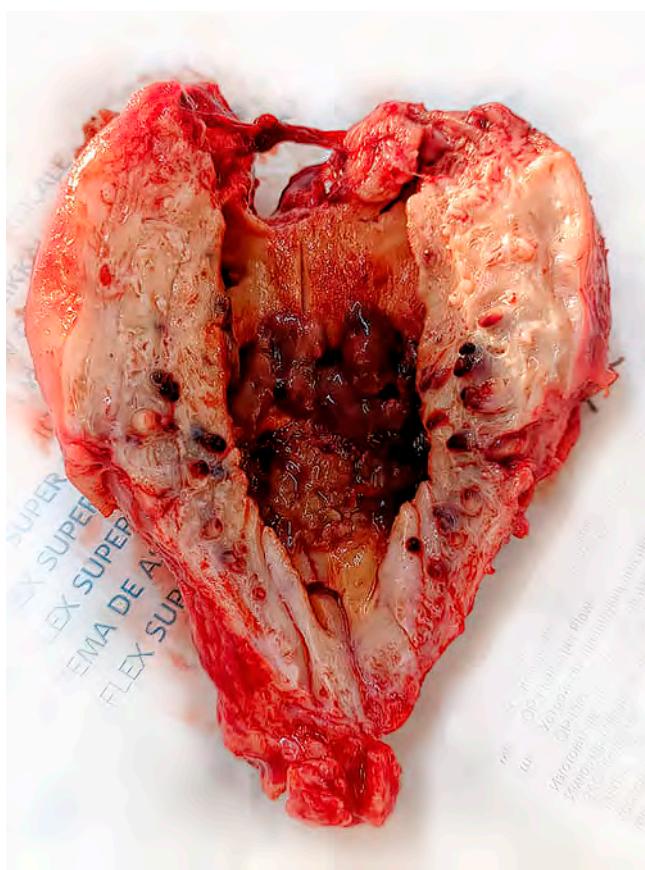


РИС. 3.

Макропрепарат матки

FIG. 3.

Macroscopic specimen of the uterus

Гистологическое исследование: тромбоз сосудов матки в фазе организации; некроз стенки в зоне шва; обратное развитие эндометрия; очаговый фибринозно-продуктивный периметрит (рис. 4).

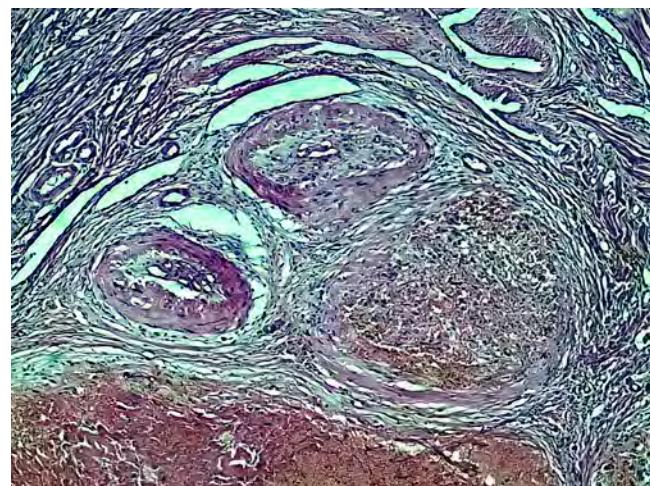


РИС. 4.

Тромбоз сосудов матки в фазе организации; некроз стенки в зоне шва; очаговый фибринозно-продуктивный периметрит. Окуляр 10, объектив 10. Окраска гематоксилином и эозином

FIG. 4.

Thrombosis of the uterine vessels in the formation phase; wall necrosis in the suture area; focal fibrinous-productive perimetritis. Ocular 10, lens 10. Staining with hematoxylin and eosin

Назначен бактопенем (имипенем + циластин) 3 г/сут. Продолжены флуконазол 150 мг/сут., полимиксин В 50 мг/сут.

Уже в раннем послеоперационном периоде состояние заметно улучшилось. Нормализовались температура, показатели общего анализа крови, СРБ, прокальцитонин. D-димер – 901,7 мкг/л. Восстановился пассаж по желудочно-кишечному тракту. Сохранилась одышка при ходьбе (20–22 дыханий в минуту).

Обзорная рентгенограмма грудной клетки: в задне-базальных отделах нижних долей лёгких определяется снижение воздушности за счёт тяжистых фиброзных изменений паренхимы. В остальных отделах лёгкие с нормальным рисунком. ПЦР-тест на COVID-19 отрицательный.

На 52-е сутки выписана в удовлетворительном состоянии. Масса тела – 49 кг, ИМТ – 18,22 кг/м². Ребёнок весом 2600 г, ростом 49 см передан матери с этапа выхаживания 10.01.2022 (находился на ИВЛ 26 суток).

Анкетирована через 3 месяца. Самочувствие удовлетворительное. Ретроградная амнезия. Аппетит обычный, стул ежедневный. Температура тела нормальная. Вес – 56 кг, ИМТ – 23,61 кг/м².

Информированное согласие пациентки на публикацию своих медицинских данных в журнале получено.

ОБСУЖДЕНИЕ

В течение последних трёх лет инфицирование SARS-CoV-2 беременных встречается также часто, как и в других группах населения. COVID-19 существенно осложняет течение перинатального, послеоперационного пери-

одов, сопутствующей патологии. Примером служит обсуждаемое наблюдение.

При нормально протекающей беременности у социально благополучной роженицы без пищевых эксцессов развился острый панкреатит с быстрым инфицированием парапанкреальных тканей. Нехарактерное для острого панкреатита быстро развившееся изменение большого сальника – распространённый некротический оментит – обусловлено, очевидно, ишемией в результате множественных артериальных и венозных тромбов и стало показанием для его субтотальной резекции. Не исключено, что вторичная контаминация половых путей ассоциацией агрессивных представителей госпитальной флоры также связана с ишемией матки в результате периферического и магистрального тромбоза в бассейнах маточных артерий. Это же обстоятельство, вероятно, определило позднюю несостоятельность швов после кесарева сечения на фоне развивающегося панметрита, по поводу чего выполнена экстирпация матки без придатков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период пандемии беременные нередко становятся мишенью для SARS-CoV-2. Профилактика, диагностика и лечение коронавирусной инфекции должны проводиться согласно методическим рекомендациям Минздрава России. В приведённом наблюдении в патогенезе осложнений стерильного панкреонекроза (парапанкреальная флегмона, некротический оментит), кесарева сечения (послеоперационный панметрит, несостоятельность шва матки), абдоминального сепсиса, большое значение имеют изменения, вызванные ишемией органов в результате повреждения эндотелия и тромбообразования в периферических сосудах. Тяжесть состояния, безусловно, определял и разнообразный микробный пейзаж – ассоциация четырёх представителей агрессивной госпитальной инфекции в высокой концентрации, динамическая идентификация которых обусловила эффективность адресной антибактериальной терапии. Своевременная хирургическая санация инфицированных органов и тканей – главное условие успешного лечения генерализованной инфекции, что подтверждается приведённым наблюдением.

Финансирование

Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Григорьев Евгений Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: egg@iokb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5082-7028>

Середа Лариса Вячеславовна – ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: katnatlove@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамян Л.В., Вечорко В.И., Конышева О.В., Харченко Э.И. Беременность и COVID-19: актуальные вопросы (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2021; 27(3): 70-77. doi: 10.17116/repro20212703170
2. Исмагамбетова Б.А., Фурсов А.Б., Коваленко Т.Ф., Алатаев Б.Б., Волчкова И.С., Куспаев Е.Н., и др. Опыт одномоментного оперативного лечения панкреонекроза и кесарева сечения у беременной с COVID-19. *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2021; 6: 60-65. doi: 10.17513/srms.1218
3. Андреева М.В., Попов А.С., Шевцова Е.П., Веровская Т.А., Шкляр А.Л., Цыбизов С.И. Междисциплинарный подход в лечении и родоразрешении беременной с острым панкреатитом, осложнённым панкреонекрозом. *Акушерство и гинекология*. 2020; 12: 218-222. doi: 10.18565/aig.2020.12.218-222
4. Убайдуллаева В.У., Вервекина Т.А., Магрупов Б.А. Панкреонекроз у беременных (по данным аутопсийных исследований). *Вестник экстренной медицины*. 2009; 3: 68-72.
5. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.З. *Панкреонекрозы*. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008.
6. Гельфанд Б.Р. (ред.). *Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение*. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2017.

REFERENCES

1. Adamyan LV, Vechorko VI, Konysheva OV, Kharchenko EI. Pregnancy and COVID-19: Current issues (literature review). *Russian Journal of Human Reproduction*. 2021; 27(3): 70-77. (In Russ.). doi: 10.17116/repro20212703170
2. Ismagambetova BA, Fursov AB, Kovalenko TF, Alataev BB, Volchkova IS, Kuspaev EN, et al. Experience of one-time surgical treatment of pancreonecrosis and caesarian section in a pregnant woman with COVID-19. *Nauchnoe obozrenie. Meditsinskie nauki*. 2021; 6: 60-65. (In Russ.). doi: 10.17513/srms.1218
3. Andreeva MV, Popov AS, Shevtsova EP, Verovskaya TA, Shklyar AL, Tsybizov SI. Interdisciplinary approach to treatment and delivery in a pregnant woman with acute pancreatitis complicated by pancreonecrosis. *Obstetrics and Gynecology*. 2020; 12: 218-222. (In Russ.). doi: 10.18565/aig.2020.12.218-222
4. Ubaydullaeva VU, Vervekina TA, Magrupov BA. Pancreonecrosis in pregnant women (data of autopsy studies). *The Bulletin of Emergency Medicine*. 2009; 3: 68-72 (In Russ.).
5. Savelyev BC, Filimonov MI, Burnevich SZ. *Pancreatic necrosis*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2008. (In Russ.).
6. Gelfand BR (ed.). *Sepsis: Classification, clinical and diagnostic concept and treatment*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2017. (In Russ.).

Аюшинова Наталья Ильинична – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: katnatlove@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5200-3962>

Information about the authors

Evgeny G. Grigoryev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Academic Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Advanced-Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: egg@iokb.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5082-7028>

Larisa V. Sereda – Teaching Assistant at the Department of Advanced-Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: katnatlove@mail.ru

Natalia I. Ayushinova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Teaching Assistant at the Department of Advanced-Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: katnatlove@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5200-3962>

Вклад авторов

Григорьев Е.Г. – разработка дизайна исследования, определение цели и задач исследования, научное редактирование, утверждение рукописи для публикации.

Середа Л.В. – сбор клинического материала, обработка, анализ и интерпретация данных.

Аюшинова Н.И. – написание текста, поиск литературных источников, обработка клинического материала, анализ и интерпретация данных.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL RESEARCHES

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОБЕЛКОВОЙ И ВЫСОКОУГЛЕВОДНОЙ ДИЕТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ D-ЛАКТАТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И КИШЕЧНИКЕ МОДЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА – РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

РЕЗЮМЕ

Васильева А.В.¹,
Морозов А.А.²,
Матросова С.В.¹,
Чечкова Н.А.¹,
Арнаутов М.В.³,
Артемов Р.В.³,
Биндюков С.В.³,
Жидко А.В.¹,
Суховская И.В.⁴

¹ ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» (185910, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33, Россия)

² ФГБУН Лимнологический институт СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, Россия)

³ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (107140, г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17, Россия)

⁴ ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук» (185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, Россия)

Стереоизомер D-молочной кислоты (D-лактат) производится кишечной микрофлорой и может проникать в кровь, в некоторых случаях вызывая состояние острой D-молочной ацидемии, известное как синдром короткой кишки. Уровень D-лактата в крови и в содержимом кишечника рассматривается как перспективный маркер развития воспаления, ассоциированного с нарушением работы микрофлоры, а также с развитием бактериальной инфекции. При этом детально механизм его поступления в кровь позвоночных из кишечника практически не изучен.

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи между уровнем D-лактата в крови и в кишечнике с учётом проницаемости кишечного эпителия.

Материалы и методы. В качестве модельного объекта исследования использовали молодь радужной форели *O. mykiss*, которая в течение 54 дней получала корм с высоким содержанием углеводов или белков. С помощью различной диеты удалось получить две группы рыб с разным содержанием D-лактата в кишечнике и разной проницаемостью кишечного эпителия. Выявленные различия по количеству D-лактата в кишечнике и по уровню проницаемости кишечника между экспериментальными группами не оказали влияния на уровень D-лактата в крови рыб.

Анализ состава микробиома кишечника методом метабаркодинга по гену 16S rРНК выявил отсутствие участия лактобактерий в производстве D-лактата у рыб.

Результаты. Согласно полученным результатам, уровень D-лактата в плазме крови в меньшей степени определяется проницаемостью кишечника или гиперпродукцией этого метаболита кишечной микрофлорой и в большей степени зависит от утилизации D-лактата ферментными системами в организме.

Ключевые слова: D-лактат, форель, проницаемость кишечника, микрофлора

Автор, ответственный за переписку:
Васильева Алина Валерьевна,
e-mail: kennard@inbox.ru

Статья поступила: 03.06.2022
Статья принята: 14.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Васильева А.В., Морозов А.А., Матросова С.В., Чечкова Н.А., Арнаутов М.В., Артемов Р.В., Биндюков С.В., Жидко А.В., Суховская И.В. Влияние высокобелковой и высокоуглеводной диеты на содержание D-лактата в плазме крови и кишечнике модельного организма – радужной форели. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 247-258. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.25

THE EFFECT OF A HIGH-PROTEIN AND HIGH-CARBOHYDRATE DIET ON THE CONTENT OF D-LACTATE IN THE BLOOD PLASMA AND INTESTINES OF A MODEL ORGANISM – RAINBOW TROUT

ABSTRACT

Vasileva A.V.¹,
 Morozov A.A.²,
 Matrosova S.V.¹,
 Chechkova N.A.¹,
 Arnautov M.V.³,
 Artemov R.V.³,
 Bindyukov S.V.³,
 Zhidko A.V.¹,
 Sukhovskaya I.V.⁴

¹ Petrozavodsk State University
 (Lenina ave. 33, Petrozavodsk 185910,
 Russian Federation)

² Limnological Institute, Siberian Branch
 of the Russian Academy of Sciences
 (Ulan-Batorskaya str. 3, Irkutsk 664033,
 Russian Federation)

³ Russian Federal Research Institute
 of Fisheries and Oceanography
 (Verkhnyaya Krasnoselskaya str. 17,
 Moscow 107140, Russian Federation)

⁴ Karelian Research Centre,
 Russian Academy of Sciences
 (Pushkinskaya str. 11, Petrozavodsk
 185910, Russian Federation)

Corresponding author:

Alina V. Vasileva,
 e-mail: kennard@inbox.ru

D-lactic acid stereoisomer (D-lactate) is produced by the intestinal microflora and can enter the bloodstream and cause in some cases a condition of acute D-lactic acidemia known as short gut syndrome. The level of D-lactate in blood and in the contents of the intestine is considered as a promising marker of the development of inflammation associated with microflora disorders, as well as with the development of a bacterial infection, while the mechanism of its entry into the blood of vertebrates from the intestine has not been studied in detail.

The aim of the study. *To investigate the relationship between the level of D-lactate in blood and in the intestine, taking into account the permeability of the intestinal epithelium.*

Materials and methods. *As a model object of the study, we used juvenile rainbow trout *O. mykiss*. For 54 days, they were high-carbohydrate or high-protein fed. Since different types of bacteria prefer different substrates, it was expected that at the end of the experiment, the composition of the intestinal microflora would be significantly different in fish fed with different diets. The content of D-lactate in blood plasma in vitro was assessed by the Larsen method with modifications; intestinal permeability was assessed by the intensity of fluorescence of the FITC-Dextran stain in the blood of fish. The analysis of the metagenome of samples of the contents and epithelium of the fore and hind intestine was carried out. The hematological profile was partially characterized using blood smears taken immediately after fish blood sampling. By the means of a different diet, it was possible to obtain two groups of fish that differ significantly in the permeability of the intestinal epithelium and in the content of D-lactate in the intestine. At the same time, despite the differences between the experimental groups in the content of D-lactate in the intestine and in intestinal permeability, no significant differences in D-lactate level in blood were found between them.*

Analysis of the composition of the intestinal microbiome by metabarcoding for the 16S rRNA gene revealed the absence of lactobacilli in the production of D-lactate in fish.

Results. *It was shown that the mechanism of accumulation of D-lactate in the blood plasma in fish is less associated with increased intestinal permeability or hyper-production of this metabolite by the intestinal microflora and is more associated with the utilization of D-lactate in the body.*

In the experiment, it was not possible to achieve a significant change in the species composition of the intestinal microflora of trout under the influence of a high-carbohydrate diet for 54 days compared to fish that received high-protein diet. Some tendencies towards changes in the composition of the microflora were found in the contents of the hindgut, and perhaps with a longer exposure, these changes could reach a statistically significant level.

Key words: *D-lactate, trout, intestinal permeability, microflora*

For citation: Vasileva A.V., Morozov A.A., Matrosova S.V., Chechkova N.A., Arnautov M.V., Artemov R.V., Bindyukov S.V., Zhidko A.V., Sukhovskaya I.V. The effect of a high-protein and high-carbohydrate diet on the content of D-lactate in the blood plasma and intestines of a model organism – rainbow trout. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 247-258. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.25

Received: 03.06.2022

Accepted: 14.10.2022

Published: 08.12.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Стереоизомер D-молочной кислоты (D-лактат) в организме позвоночных, в отличие от L-изомера, в основном производится микрофлорой кишечника, тогда как сами позвоночные производят его в пренебрежимо малом количестве [1, 2]. Поэтому в крови млекопитающих D-лактат обычно присутствует в наномолярных концентрациях, а его накопление в плазме крови свидетельствует о серьёзных нарушениях и вызывает состояния, опасные для жизни. Синдром короткой кишки у человека может привести к глубокой D-молочной ацидемии с выраженным неврологическими проявлениями [1]. Также появляется все больше литературы, описывающей субклиническое повышение уровня D-лактата как индикатор сепсиса, травмы и ишемии. Субклиническое повышение уровня D-лактата в крови также отмечается при диабете [1]. В одном из исследований измерение концентрации D-лактата в венозной крови в качестве предиктора при диагностике аппендицита дало более низкий уровень ложноотрицательных результатов, чем измерение уровня C-реактивного белка или числа лейкоцитов [3]. Отмечалось, что D-лактат плазмы является чувствительным маркером кишечной недостаточности и эндотоксемии у пациентов с циррозом – предполагается, что из-за нарушения барьерной функции кишечника [4]. Таким образом, уровень D-лактата в крови и в содержимом кишечника рассматривается как перспективный маркер развития воспаления, ассоциированного с нарушением работы микрофлоры, а также развития бактериальной инфекции [5].

При этом, несмотря на то, что накопление D-лактата в крови связано с развитием патологических состояний у человека и животных, детально механизм поступления D-лактата в кровь позвоночных из кишечника практически не изучен.

Рассматриваются три основные гипотезы накопления D-лактата в крови и внутренних средах позвоночных.

1. D-лактат микробного происхождения накапливается в кишечнике, свободно проникает в кровь через кишечный эпителий и затем распространяется по внутренним средам организма [2, 6]. Таким образом, уровень этого метаболита в крови определяется качественным и количественным составом микробной экосистемы кишечника (в особенности численностью продуцентов D-лактата, в число которых входят лактобактерии [7]).

2. D-лактат, произведённый микробной микрофлорой кишечника, в норме не проникает во внутренние среды организма, однако при увеличении проницаемости кишечника, вызванной воспалительным процессом, может попадать в кровь [4].

3. Согласно третьей точке зрения, у позвоночных животных ведущую роль в контроле уровня данного бактериального метаболита в крови играет ферментная система утилизации D-лактата. На это указывает сохранение в геноме позвоночных фермента D-лактатдегидрогеназы, несмотря на ослабление метаболических путей производства собственного D-лактата. В пользу этой точки зрения

говорит то, что от D-молочной ацидемии страдают люди, мутантные по гену данного фермента [8].

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи между уровнем D-лактата в крови и в кишечнике с учётом проницаемости кишечного эпителия. В качестве модельного объекта исследования использовали радужную форель, которую в течение долгого времени кормили кормом с высоким содержанием углеводов, а также более характерным для хищного вида рыб кормом с высоким содержанием белка. Так как разные виды бактерий предпочитают разные субстраты, ожидалось, что по окончании эксперимента состав микрофлоры кишечника будет значительно отличаться у рыб, получавших разную диету. Задачей эксперимента было сдвинуть видовой состав микрофлоры экспериментальной группы рыб в сторону продуцентов D-лактата (лактобактерии) и таким образом смоделировать ситуацию накопления данного метаболита в кишечнике.

МЕТОДЫ

Состав кормов

Опытные партии продукционных комбикормов были изготовлены на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ВНИРО). Анализ состава доступного сырья (табл. 1) позволил рассчитать биологическую ценность кормовых компонентов и на основании этого создать рецептуру комбикормов с учётом физиологической потребности радужной форели (табл. 2). Опытные партии экструдированных кормов были изготовлены на полупромышленной автоматической линии фирмы Amandus Kahl (Германия).

Для контроля качества полученного комбикорма определяли его химический состав и питательную ценность путём расчёта валовой энергии. В результате оба корма были высокобелковыми и имели одинаковую энергетическую ценность. В высокобелковом комбикорме основная энергия была представлена жиром и протеином, доля углеводов составляла 10 %. Высокоуглеводный комбикорм состоял на 30 % из безазотистых экстрактивных веществ, доля белка составляла 42,6 %, что соответствует расчётным данным и требованиям к комбикормам для форели.

Анализ также показал, что оба комбикорма содержат полный набор аминокислот в количестве, соответствующем потребностям форели, в том числе по незаменимым аминокислотам (табл. 3). Из-за большого содержания белка высокобелковый корм значительно превышал потребности форели по лизину, аргинину, фенилаланину, изолейцину и по сумме серосодержащих аминокислот. Так как избыток аминокислот может приводить к расходованию энергии на переработку излишков белка и выделение токсических продуктов его разрушения, то по аминокислотному составу высокоуглеводный корм является более сбалансированным.

В качестве дополнительного источника углеводов в высокоуглеводном корме использовали модифицированный кукурузный крахмал, содержащий сахара в до-

ТАБЛИЦА 1
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СЫРЬЯ ДЛЯ КОМБИКОРМА (%)

| Наименование компонента | Влага | Сырой протеин | Сырой жир | БЭВ | Зола | Клетчатка |
|-------------------------------------|-------|---------------|-----------|-------|-------|-----------|
| Мука рыбная кормовая | 3,8 | 74,72 | 7,63 | 2,21 | 11,64 | – |
| Пшеница | 12,39 | 13,22 | 1,6 | 71,69 | 0,8 | 0,3 |
| Премикс* | 6,79 | 14,62 | 3,98 | 21,01 | 48,7 | 4,9 |
| Монокальцийфосфат | 1 | – | – | – | – | – |
| Жир рыбный | – | – | 100 | – | – | – |
| Крахмал кукурузный модифицированный | 8,15 | – | – | 91,85 | 91,85 | 0 |

Примечание. * – состав премикса: витамин А – 200 млн МЕ/т, витамин Е – 40 000 г/т, витамин D3 – 600 млн МЕ/т, витамин К – 2000 г/т, витамин В1 – 3000 г/т, витамин В2 – 4000 г/т, пантотеновая кислота – 10 000 г/т, витамин В4 – 200 000 г/т, ниацин – 20 000 г/т, витамин В6 – 3000 г/т, витамин В9 – 1000 г/т, витамин С – 80 000 г/т, Mn – 3000 г/т, Zn – 20 000 г/т, Fe – 20000 г/т, Cu – 800 г/т, Co – 20 г/т, Se – 30 г/т; БЭВ – безазотистые экстрактивные вещества.

ТАБЛИЦА 2
**РЕЦЕПТЫ ВЫСОКОБЕЛКОВОГО
И ВЫСОКОУГЛЕВОДНОГО КОМБИКОРМА
ДЛЯ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (%)**

| Наименование компонентов | Низкоуглеводный корм | Высокоуглеводный корм |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Пшеничная мука | 12 | – |
| Крахмал кукурузный модифицированный | – | 31,1 |
| Мука рыбная кормовая | 74,7 | 53,8 |
| Жир рыбий | 11,3 | 13,1 |
| Монокальцийфосфат | 1 | 1 |
| Премикс* | 1 | 1 |

Примечание. * – состав премикса: витамин А – 200 млн МЕ/т, витамин Е – 40 000 г/т, витамин D3 – 600 млн МЕ/т, витамин К – 2000 г/т, витамин В1 – 3000 г/т, витамин В2 – 4000 г/т, пантотеновая кислота – 10 000 г/т, витамин В4 – 200 000 г/т, ниацин – 20 000 г/т, витамин В6 – 3000 г/т, витамин В9 – 1000 г/т, витамин С – 80 000 г/т, Mn – 3000 г/т, Zn – 20 000 г/т, Fe – 20000 г/т, Cu – 800 г/т, Co – 20 г/т, Se – 30 г/т.

ТАБЛИЦА 3
**АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ СЫРЬЯ
ДЛЯ КОМБИКОРМА**

| Наименование аминокислоты | Содержание, г/100 г продукта | | |
|---------------------------|------------------------------|---------|---------|
| | мука рыбная | пшеница | премикс |
| Аспарагиновая | 7,34 | 0,53 | 0 |
| Тreonин | 3,25 | 0,41 | 0,06 |
| Серин | 3,14 | 0,52 | 0,06 |
| Глутаминовая | 10,35 | 3,96 | 0 |
| Глицин | 3,71 | 0,5 | 0 |
| Аланин | 4,46 | 0,43 | 0,08 |
| Цистин + цистеин | 0,94 | 0,44 | 0 |
| Валин | 3,33 | 0,86 | 0,71 |
| Метионин | 2,18 | 0,44 | 0 |
| Изолейцин | 3,11 | 0,55 | 0,1 |
| Лейцин | 5,48 | 0,88 | 0,16 |
| Тирозин | 2,67 | 0,3 | 0 |
| Фенилаланин | 3,2 | 0,44 | 0,07 |
| Гистидин | 1,8 | 0,26 | 0 |
| Лизин | 6,06 | 0,31 | 0,05 |
| Аргинин | 4,44 | 0,48 | 0,06 |
| Пролин | 2,64 | 1,32 | 0 |
| Сумма НАК | 29,25 | 4,58 | 1,15 |
| Сумма ЗАК | 38,75 | 8,04 | 0,2 |

Примечание. НАК – незаменимые аминокислоты; ЗАК – заменимые аминокислоты.

TABLE 1
**CHEMICAL COMPOSITION OF RAW MATERIALS
FOR ANIMAL FEED (%)**

ступной для лососевых рыб форме. Рекомендуемая норма углеводов в корме для лососевых не должна превышать 15% [9], таким образом, высокоуглеводный корм является несбалансированным по содержанию углеводов.

Высокий уровень содержания омега-3 жирных кислот, представленных эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислотами (табл. 4), в низкоуглеводном и высокоуглеводном комбикормах был сопоставим с жирно-

кислотным составом рыбьего жира, что свидетельствует о высоком качестве жировой составляющей в обоих комбикормах, которые полностью покрывают физиологические потребности форели.

Схема эксперимента

Для эксперимента по оценке влияния микрофлоры кишечника на продукцию D-лактата использовали мо-

ТАБЛИЦА 4
ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ СЫРЬЯ
ДЛЯ КОМБИКОРМА (% К МАССЕ ЖИРА)

TABLE 4
FATTY ACID COMPOSITION OF RAW MATERIALS LIPIDS
FOR ANIMAL FEED (% BY WEIGHT OF FAT)

| Наименование кислоты | Мука рыбная кормовая | Жир рыбный |
|-------------------------|----------------------|------------|
| C14:0 Миристиновая | 0,12 | 7,48 |
| C16:0 Пальмитиновая | 0,7 | 16,49 |
| C16:1 Пальмитолеиновая | 0,15 | 8,13 |
| C17:1 Маргаринолеиновая | 0 | 0,36 |
| C18:0 Стеариновая | 0,16 | 2,8 |
| C18:1 Олеиновая | 1,59 | 11,15 |
| C18:2 Линолевая | 0,96 | 2,32 |
| C18:3 гамма-Линоленовая | 0 | 0,22 |
| C18:3 альфа-Линоленовая | 0,18 | 1,8 |
| C20:0 Арахиновая | 0,01 | 0,15 |
| C20:1 Гондоиновая | 0,28 | 11,44 |
| C21:0 Генейкозановая | 0 | 0,46 |
| C20:3 Эйкозатриеновая | 0,03 | 0,01 |
| C20:4 Арахидоновая | 0,01 | 0,56 |
| C20:3 Эйкозатриеновая | 0,04 | 0,25 |
| C22:0 Бегеновая | 0,01 | 0,01 |
| C22:1 Эруковая | 0,06 | 2,8 |
| C20:3 Эйкозапантаеновая | 0,16 | 19,37 |
| C23:0 Трикозановая | 0,01 | 0,05 |
| C24:0 Лигноцериновая | 0,02 | 0,06 |
| C22:6 Докозагексаеновая | 0,25 | 11,33 |
| Сумма НЖК | 1,05 | 28,93 |
| Сумма МНЖК | 2,12 | 35,1 |
| Сумма ПНЖК | 1,66 | 35,97 |
| Сумма Омега-3 | 0,63 | 37,75 |
| Сумма Омега-6 | 1 | 3,15 |
| Сумма Омега-9 | 1,65 | 14,08 |
| Сумма ЭПК + ДГК | 0,41 | 30,7 |

Примечание. НЖК – насыщенные жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; ЭПК – эйкозапентаеновая кислота; ДГК – докозагексаеновая кислота.

лодь (0+) радужной форели *O. mykiss* массой 70–76 г, приобретённую в одном из форелевых хозяйств на Онежском озере в Республике Карелия. Перед началом эксперимента сеголетки форели были случайным образом разделены на две группы (по 16 шт.) и распределены в две установки с системой замкнутого водоснабжения. Каждая система состояла из двух аквариумов (в каждом по 8 рыб) объёмом по 280 л с общим биофильтром. Перед началом эксперимента рыбу акклиматизировали к условиям аквариальной системы в течение 14 дней. Ежедневно в аквариумах вели контроль гидрохимических параметров с помощью универсальных тест систем «Нилпаст» (НИЛПА, Россия), pH-метра pH-150МИ (ГК «ТеплоПрибор», Россия) и оксиметра HI9147 (Hanna Instruments, Россия) для определения содержания растворённого кислорода в воде. Поддержание оптимальных гидрохимических параметров на одном уровне обеспечивалось ежедневной подменой до 30 % воды. В аквариумах поддерживалась постоянная температура воды 12 °C и концентрация растворённого кислорода 9–12 мг/мл. Раз в три недели рыб подвергали лёгкой анестезии (гвоздичное масло 0,1 мл/л, 30 с) для замера их массы.

В первую неделю акклиматизации рыб не кормили, на второй неделе рыбу кормили кормом для форели Biomar № 3 в расчёте 0,8 % от массы тела в сутки, привезённым с хозяйства. После акклиматации первая группа рыб стала получать экспериментальный высокобелковый корм, вторая – высокоуглеводный корм. Длительность эксперимента составила 54 дня.

За 5 часов до окончания эксперимента рыб подвергли лёгкому наркозу (гвоздичное масло 0,1 мл/л, 30 с), после чего в желудочно-кишечный тракт рыб с помощью зонда вводили маркер проницаемости кишечника – раствор флуоресцентного красителя флуоресцина, сшитого с полимером декстраном массой 10 кДа (FITC-Dextran). Через 5 часов каждую рыбу усыпляли гвоздичным маслом в течение 3–4 мин до остановки дыхания, после чего отбирали биологические образцы. Для этого рыбам отрезали хвост и с помощью микрокапиллярных пробирок, обработанных этилендиаминетрауксусной кислотой (Microvette 100, Sarstedt AG&Co, Германия), отбирали кровь из хвостовой вены. Часть крови центрифугировали в течение 10 мин на центрифуге Eppendorf 5804R (Eppendorf, Германия) при 5000 г и +4 °C для получения сыворотки. Полученную сыворотку аккуратно отбирали микропипеткой и переносили в стерильные пробирки, замораживали при –80 °C и использовали в дальнейшем для определения уровня D-лактата в крови.

Далее рыбу вскрывали, соблюдая стерильность зоны сбора образцов, используя для работы стерильный одноразовый инструмент либо инструмент, обработанный путём прокаливания его на спиртовке или в гласперлевом стерилизаторе. После вскрытия рыбам нитками перевязывали кишечник, чтобы разделить содержимое переднего и заднего отделов. Каждый отдел кишечника вскрывали поочерёдно и стерильными палочками извлекали из него пищевой комок, а также скальпелем делали соскоб слизистой. Материал помещали в стерильные криопробирки, замораживали в жидким азоте

и хранили при –80 °C до анализа. Часть пищевого комка разбавляли стерильным 0,9%-м раствором NaCl в 3 раза, центрифугировали в течение 3 мин при 5000 г и +4 °C; полученный надосадок хранили при –20 °C до определения в нём концентрации D-лактата.

Гематологические показатели

Гематологический профиль частично характеризовали с помощью мазков крови, сделанных сразу после забора крови рыб. Окрашивание по Романовскому применяли для дифференциации клеток при микроскопическом исследовании. Высушенные на воздухе и фиксированные в этаноле (5 мин) мазки погружали в раствор Мэя – Грюнвальда (МиниМед, Россия) на 3 мин, промывали водой, сушили и погружали на 45 мин в раствор ДиаХим-Гемистейн-Р (НПФ АБРИС+, Россия) в буфере PBS, pH = 6,8–7,2. Затем мазки промывали в дистиллированной воде, сушили и исследовали с помощью микроскопа Motic с цифровой камерой Moticam с прибором MI Devices (Motic, Гонконг). Типы клеток крови определяли по гематологическим атласам рыб [10, 11]. Дифференциальный подсчёт клеток крови проводили на однородных участках путём подсчёта 500 клеток в каждом мазке. Относительное количество эритроцитов и тромбоцитов выражали в процентах от всех подсчитанных клеток. Относительное количество лейкоцитов получали путём вычитания процентного содержания тромбоцитов из общего количества лейкоцитов. Относительное количество лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов выражали в процентах от общего числа лейкоцитов.

Анализ содержания D-лактата в биологических средах

Для определения D-лактата в биологических жидкостях применяли метод, основанный на распознавании D-лактата стерео-специфичным ферментом D-лактатдегидрогеназой [12]. Метод чувствителен к фоновому содержанию в среде восстановленного NADH+H+, а также различных дегидрогеназ, поэтому образцы предварительно нагревали для денатурации белков при +80 °C в течение 10 мин, затем осаждали денатурированный белок центрифугированием при 3500 г в течение 10 мин. Полученный супернатант использовали для дальнейшего анализа.

Для осуществления реакции предварительно в пробирке готовили исходную реакционную смесь. В расчёте на 1 образец смешивали 3 мкл раствора диафразы 110 ед./мл, 81 мкл Tris-HCl буфера (pH = 8,9; содержит 0,07 % Triton X-100 и 0,59 % Tween-80), 7 мкл 75 мМ NAD+, 3 мкл 7,5-резазурина и 7 мкл раствора D-лактатдегидрогеназы 42 ед./мл. Затем в лунки 96-лучиного планшета для измерения флуоресценции вносили 55 мкл готовой реакционной смеси и 20 мкл образца. Параллельно для каждого образца готовили холостую пробу, содержащую те же компоненты, за исключением D-лактатдегидрогеназы. Далее флуоресценцию измеряли в планшетном ридере ClarioStar (BMG Labtech, Германия) при +37 °C в течение 50 мин с настройками длины

волны возбуждения 544 нм и испускания 590 нм. Каждое измерение выполняли в трёх технических повторах.

Далее вычисляли разницу интенсивности флуоресценции в рабочей и холостой пробе. Количество D-лактата вычисляли по калибровочной кривой, приготовленной путём смешения в лунках планшета 55 мкл готовой реакционной смеси и 20 мкл калибрующих растворов, содержащих 0, 0,01, 0,05, 0,5 и 5 мМ D-лактата.

Оценка проницаемости кишечника

Проницаемость кишечника оценивали по интенсивности флуоресценции красителя FITC-Dextran в крови рыб. В норме флуоресцеин, сшитый с полимером декстраном массой 10 кДа, не проходит через эпителий кишечника; таким образом, появление флуоресценции в крови свидетельствует о нарушении барьерных функций кишечного эпителия. Флуоресценцию FITC-Dextran в образцах плазмы рыб измеряли в планшетном ридере ClarioStar (BMG Labtech, Германия) при +25 °С с настройками длины волны возбуждения 460 нм и испускания 512 нм.

Определение видового состава микробиоты содержимого кишечника культивируемой форели

Тотальную ДНК выделяли из образцов содержимого разных отделов кишечника, соскобов эпителия кишечника, а также корма и воды (собранных с помощью фильтра 0,22 микрон) с использованием набора для выделения ДНК из животных тканей DiaGene (ДиаЭм, Россия). Для этого 50 мг образца растирали в лизирующем буфере LBT с добавлением 8 мкл протеиназы K. Образцы лизировали в течение 16 ч при температуре +37 °С. Лизат центрифугировали на центрифуге Eppendorf (Германия) при 12 000 г в течение 20 мин, после чего отбирали надосадочную жидкость. К надосадочной жидкости добавляли буфер для сорбции (1:1.4 об./об.) и хлороформ, равный объёму надосадочной жидкости. Образцы центрифугировали при 12 000 г в течение 20 мин. Затем отбирали водную фазу, содержащую ДНК, и переносили на микрополонки DiaGene (ДиаЭм, Россия). Колонки дважды промывали в промывочном буфере WB1 и дважды в буфере WB2. ДНК с колонок элюировали стерильной дейонизованной водой. Качество и количество ДНК измеряли на спектрофотометре SmartSpec (BioRad, США) при длине волн 260 и 280 нм.

Подготовка библиотек к секвенированию проводилась в соответствии с протоколом, описанным в руководстве «16S metagenomic sequencing library preparation» (Part # 1504423 Rev. B; Illumina). Качество полученных образцов геномной ДНК было предварительно проверено на электрофорезе в агарозном геле. Амплификация вариабельных регионов V3–V4 гена 16S рРНК осуществлялась с помощью универсальных праймеров. После получения ампликонов библиотеки были очищены и смешаны эквимолярно с помощью SequalPrep™ Normalization Plate Kit (ThermoFisher, США). Контроль качества полученных пулов библиотек был проведён с помощью системы Fragment Analyzer (Agilent Technologies, США), количественный анализ – при помощи qPCR. Пул полу-

ченных библиотек был секвенирован на Illumina MiSeq (США) с использованием реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycles), длина прочтений – 300 п. о. с двух сторон фрагментов. Результирующие файлы FASTQ были получены с помощью ПО bcl2fastq v 2.17.1.14 Conversion Software (Illumina, США). Для контроля параметров секвенирования использовалась библиотека фага PhiX. Большая часть прочтений, относящаяся к фаговой ДНК, была удалена в процессе демультиплексирования.

Полученные парные чтения были собраны в контиги. Низкокачественные считывания, несобранные пары (производят контиги длиной свыше 470 нуклеотидов) и химерные считывания были удалены из анализа. Оставшиеся контиги были сопоставлены с эталонным выравниванием SSU rRNA (SILVA v 138.1, база данных). Последовательности, которые были правильно выровнены, были использованы для создания операционных таксономических единиц (OTU, operational taxonomic unit) с порогом идентичности 97 %. Все анализы прочтений были выполнены в программе mothur 1.44.11 (США). OTU, которые присутствовали только в одной из выборок или имели не более одного чтения на выборку, были исключены как одиночные. Для определения таксономии отдельных OTU с точностью до вида консенсусные последовательности были сгенерированы в mothur (отсечка не менее 95 % идентичности) и сопоставлены с NCBI nr с использованием веб-сервера megaBLAST. Сравнительный анализ количества прочтений в экспериментальных группах производили, используя линейную модель в пакете «limma» программной среды R.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После 54-дневного питания высокоуглеводной и высокобелковой диетой рыбы из опытной и контрольной групп демонстрировали одинаковый прирост (рис. 1) и нормальный внешний вид покровов и внутренних органов. Однако у рыб из экспериментальной группы, питавшихся высокоуглеводным кормом, был отмечен увеличенный размер печени (рис. 1). Данный результат является закономерным, так как известно, что переизбыток углеводов в пище (рекомендуемая норма для форели – не более 15 %) в течение длительного периода приводит к жировому перерождению печени и другим метаболическим нарушениям [9]. При этом маркеры системного воспаления, такие как индекс селезёнки и лейкоцитарная формула, у рыб из экспериментальных групп не отличались и были в пределах нормы. Таким образом, у рыб, длительное время питавшихся несбалансированной диетой, были отмечены негативные изменения, которые, тем не менее, не достигли критического уровня.

В кишечнике рыб, питавшихся разным кормом, нами не было обнаружено внешних признаков воспалительных процессов. При визуальном осмотре только в двух случаях была отмечена гиперемия кишечника у рыб, питавшихся высокоуглеводным кормом. При этом анализ проникновения флуоресцентного полимера массой 10 кДа в кровь рыб показал, что повышенная проница-

емость кишечника, которая является признаком воспалительного процесса, была отмечена у рыб, питавшихся высокобелковым кормом (рис. 1). В норме молекула такого размера не проходит кишечный барьер, поэтому появление флуоресценции в крови свидетельствует о нарушении его проницаемости [13]. Данный результат является неожиданным, так как питание кормом с содержанием белка более 90 % является нормальным для диких лососевых рыб.

После завершения эксперимента статистически значимые различия содержания D-лактата у рыб, питавшихся разной диетой, были обнаружены в толстом кишечнике (рис. 2). В тонком кишечнике рыб, питавшихся разной диетой, уровень D-лактата не различается и в целом был ниже, чем в толстом кишечнике, что подтверждает его продукцию кишечной анаэробной микрофлорой [6]. Уровень D-лактата в толстом кишечнике был статистически значимо выше у форели, получавшей корм с высоким содержанием белка. Данный результат также был неожи-

данным, так как, согласно литературе, основными продуцентами D-лактата являются лактобактерии, в качестве субстрата предпочитающие углеводы [7].

Несмотря на повышенное содержание D-лактата в толстом кишечнике и повышенную проницаемости кишечника у рыб, получавших высокобелковый корм, уровень D-лактата в крови этих рыб не отличался от такого у форели, получавшей высокоуглеводный корм, хотя оба этих фактора должны были способствовать поступлению D-лактата во внутреннюю среду организма. Отсутствие заметного повышения уровня D-лактата в крови может указывать на его эффективное метаболизирование ферментами печени и других тканей у форели.

Анализ видового состава микрофлоры содержимого заднего кишечника радужной форели, питавшейся разным кормом, показал, что статистически значимо по обилию различались только представители семейства *Vacillaceae* (роды *Bacillus* и *Virgibacillus*), которых было статистически значимо больше среди рыб, полу-

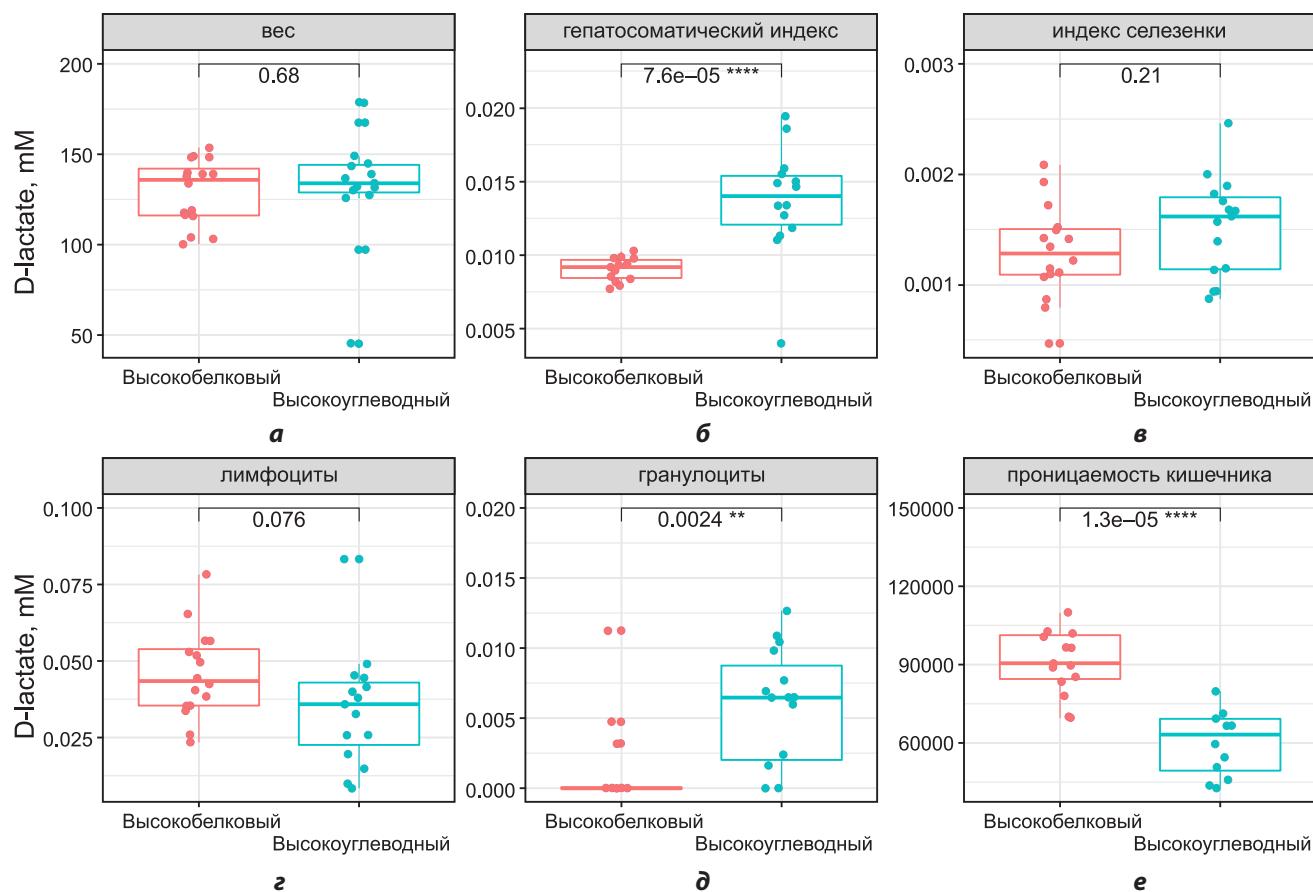


Рис. 1.

Сравнительный анализ физиологических показателей радужных форелей, питавшихся высокобелковым и высокоуглеводным кормом: **а** – вес рыб; **б** – гепатосоматический индекс; **в** – индекс селезёнки; **г** – процентное содержание лимфоцитов в крови рыб; **д** – процентное содержание гранулоцитов в крови рыб; **е** – проницаемость кишечника оцененная по уровню проникновение флуоресцентного красителя FITC-Dextran 10 кДа из кишечника в кровь рыб

FIG. 1.
Comparative analysis of the physiological parameters of rainbow trout high-protein and high-carbohydrate fed: **a** – fish weight; **б** – hepatosomatic index; **в** – spleen index; **г** – percentage of lymphocytes in the fish blood; **д** – percentage of granulocytes in the fish blood; **е** – intestinal permeability estimated by the level of penetration of the FITC-Dextran 10 kDa fluorescent stain from the intestine in the fish blood

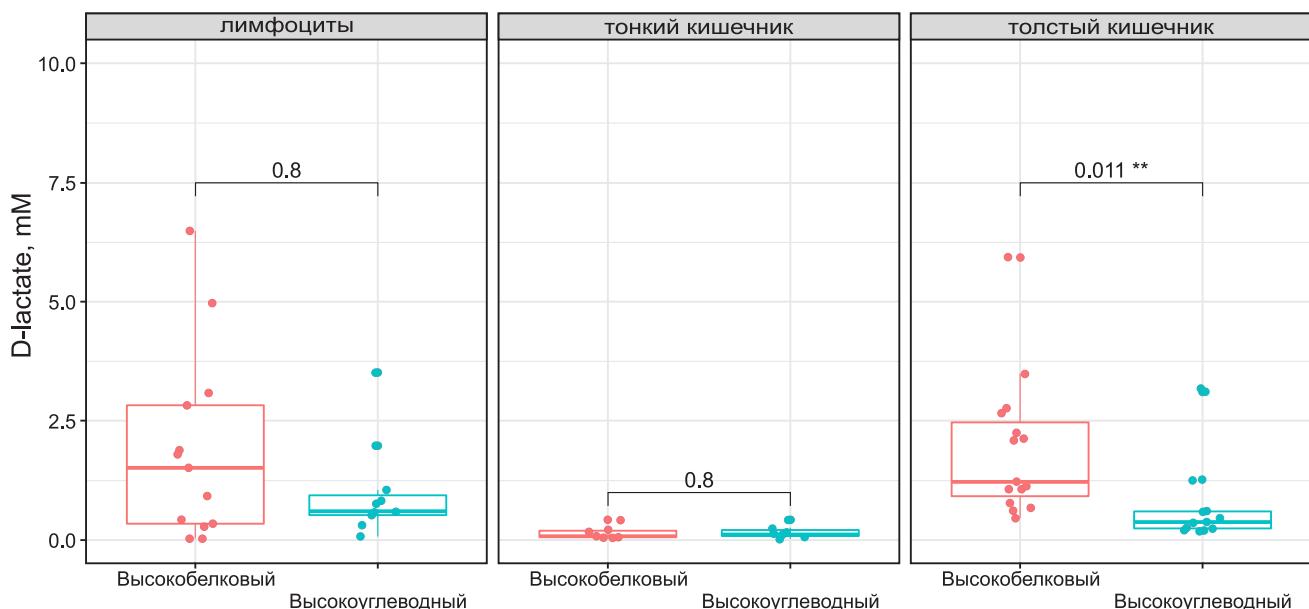


РИС. 2.

Сравнительный анализ содержания D-лактата в плазме крови, в тонком кишечнике и в толстом кишечнике рыб, получавших высокобелковый и высокоуглеводный корм

FIG. 2.

Comparative analysis of the content of D-lactate in the blood plasma, small intestine and large intestine of fish high-protein and high-carbohydrate fed

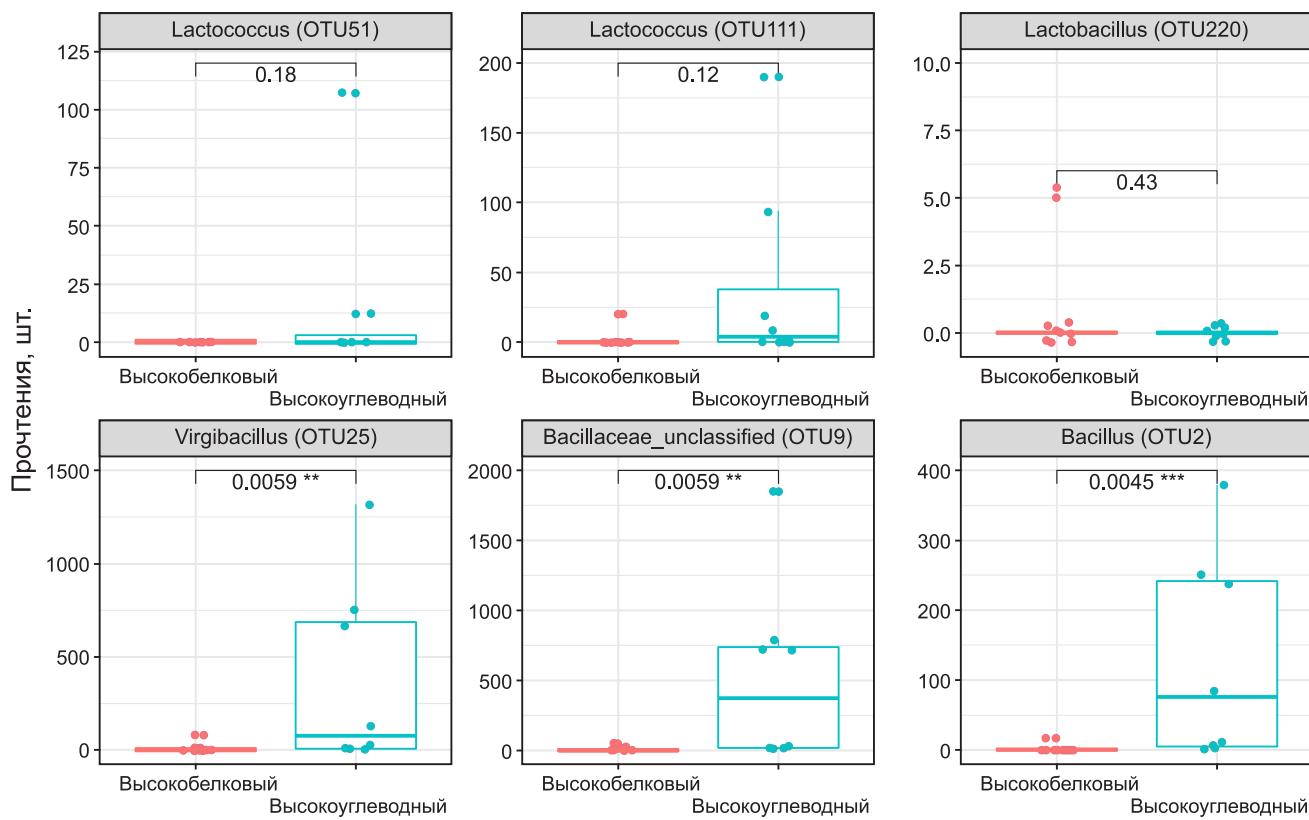


РИС. 3.

Сравнительный анализ количества прочтений оперативных некоторых таксономических единиц (OTU) в содержимом заднего кишечника радужной форели, получавшей высокобелковый или высокоуглеводный корм

FIG. 3.

Comparative analysis of the number of reads of some operational taxonomic units (OTU) in the contents of the hindgut of a rainbow trout high-protein or high-carbohydrate fed

чавших высокоуглеводную диету (рис. 3). Такие предполагаемые продуценты D-лактата, как лактобактерии *Lactococcus* и *Lactobacillus*, были обильно представлены в микрофлоре содержимого переднего кишечника рыб, питавшихся обеими диетами, реже были обнаружены в содержимом заднего кишечника рыб (рис. 3), питавшихся высокоуглеводной диетой, и практически отсутствовали в содержимом заднего кишечника рыб, питавшихся кормом, содержащим большое количество белка. Также бактерии *Lactococcus* и *Lactobacillus* не встречались в пристеночной микрофлоре форели [14], то есть данные микроорганизмы являются представителями транзиторной микрофлоры. Таким образом, нами было показано, что лактобактерии не являются ведущим продуцентом D-лактата у рыб.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существенные отличия по содержанию D-лактата у рыб, питавшихся разными кормами, были обнаружены нами только в толстом кишечнике. Это согласуется с одной из выдвинутых гипотез, а именно: D-лактат производится микробиотой кишечника. Меньшее количество микробной флоры в тонком кишечнике объясняет низкие показатели содержания D-лактата. Отсутствие статистически значимых различий в плазме крови рыб с разной диетой не позволяет подтвердить гипотезу относительно влияния проницаемости кишечника и его содержания в кишечнике на уровень D-лактата в крови. Возможно, в концентрациях, обнаруженных в кишечнике форели (до 7 мМ), этот бактериальный метаболит эффективно перерабатывается D-лактатдегидрогеназой рыб, что препятствует его накоплению во внутренних средах. Таким образом, наши данные косвенно подтверждают гипотезу о том, что дефицит по данному ферменту может повышать риски развития состояний ацидоза, вызванного D-лактатом [8].

В эксперименте проницаемость кишечника оказалась выше у рыб, получавших высокобелковый корм. Рецептура корма считается сбалансированной для хищных рыб и применяется для выращивания малька, очень требовательного к качеству кормов. Однако, возможно, переизбыток некоторых аминокислот, например, лизина, аргинина, фенилаланина и изолейцина, из-за большого количества белка мог оказать негативные эффекты на работу кишечника и вызвать развитие воспалительного процесса.

Разнообразие микроорганизмов, которые так или иначе метаболизируют D-лактат, довольно велико, поэтому выделить специфическую группу, присутствие которой позволяло бы точно спрогнозировать уровень продукции данного метаболита в кишечнике, также представляется затруднительным. Предполагалось, что у рыб D-лактат в основном производится представителями рода *Lactobacillus* [7], тогда как наши данные не подтверждают данное предположение. Известно, что лактобактерии предпочитают углеводы в качестве субстратов для роста и активно развиваются в кишечнике при переизбытке са-

харов. Действительно, в заднем кишечнике рыб, питавшихся высокобелковым кормом, лактобактерии практически отсутствовали, в отличие от рыб, питавшихся высокоуглеводным кормом. В свою очередь в содержимом переднего кишечника рыб представители *Lactobacillus* и *Lactococcus* встречались независимо от диеты. В заднем кишечнике форели статистически значимо было меньше бактерий семейства *Bacillaceae*, которые так же, как и лактобактерии, являются грамположительными факультативными анаэробами, способными расти на углеводных субстратах с образованием L-изомера молочной кислоты в качестве конечного продукта [15]. Можно предположить, что пониженная продукция D-лактата в кишечнике рыб, получавших высокоуглеводную диету, связана с тем, что на такой диете преимущественно развивались штаммы продуценты L-изомера, которые подавляли прочую микрофлору. Также следует отметить, что ранее было показано [16], что присутствие бактерий вида *Bacillus subtilis* препятствует развитию воспаления и уменьшает проницаемость кишечника. Это подтверждается нашими данными о низкой проницаемости кишечника рыб, долгое время питавшихся высокоуглеводным кормом.

ВЫВОДЫ

В модельном эксперименте нами была изучена взаимосвязь между уровнем D-лактата в крови и в кишечнике позвоночных на примере радужной форели. С помощью различной диеты удалось получить две группы рыб, статистически значимо различающихся по проницаемости кишечного эпителия и по содержанию D-лактата в кишечнике. При этом, несмотря на различия по количеству D-лактата и по проницаемости кишечника между экспериментальными группами, в крови рыб статистически значимых различий по содержанию D-лактата между ними обнаружено не было. Таким образом, было показано, что у рыб механизм накопления D-лактата в плазме крови в меньшей степени связан с повышенной проницаемостью кишечника или гиперпродукцией этого метаболита кишечной микрофлорой и в большей степени – с утилизацией D-лактата в организме.

Помимо этого, мы не обнаружили изменений видового состава микрофлоры содержимого кишечника форели под действием корма с высоким содержанием углеводов по сравнению с рыбами, получившими высокобелковый корм. Возможно, более долгая экспозиция позволила бы лучше проявить тенденции к изменению состава микрофлоры содержимого кишечника в зависимости от питания. Таким образом, по крайней мере у рыб ведущая роль лактобактерий в производстве D-лактата нами не была подтверждена.

Учитывая сходство организации геномов [17] и, как следствие, базовых механизмов развития, иммунитета, физиологии и биохимии всех позвоночных животных, результаты исследований, выполненных на рыбах, могут быть с осторожностью экстраполированы на млекопитающих. Применительно к человеку полу-

ченные нами данные могут означать, что наиболее существенным фактором риска развития состояний, связанных с повышенным уровнем D-лактата, является генетическая предрасположенность, выявление которой возможно с помощью генетического скрининга. Диета и состав микрофлоры кишечника, как показано в эксперименте с участием модельного организма, в меньшей степени являются факторами риска развития D-лактат-ассоциированного ацидоза.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-lactate in human and ruminant metabolism. *J Nutr.* 2005; 135(7): 1619-1625. doi: 10.1093/jn/135.7.1619
2. Lorenz I, Gentile A. D-lactic acidosis in neonatal ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2014; 30(2): 317-331. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.03.004
3. Caglayan F, Cakmak M, Caglayan O, Cavusoglu T. Plasma D-lactate levels in diagnosis of appendicitis. *J Invest Surg.* 2003; 16(4): 233-237.
4. Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004; 3(1): 58-61.
5. Smith SM, Eng RH, Buccini F. Use of D-lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections. *J Infect Dis.* 1986; 154(4): 658-664. doi: 10.1093/infdis/154.4.658
6. Yilmaz B, Schibli S, Macpherson AJ, Sokolluk C. D-lactic acidosis: Successful suppression of D-lactate-producing *Lactobacillus* by probiotics. *Pediatrics.* 2018; 142(3): e20180337. doi: 10.1542/peds.2018-0337
7. Stuivenberg G, Daisley B, Akouris P, Reid G. *In vitro* assessment of histamine and lactate production by a multi-strain probiotic. *J Food Sci Technol.* 2021; 59(9): 3419-3427. doi: 10.1007/s13197-021-05327-7
8. Monroe GR, van Eerde AM, Tessadori F, Duran KJ, Savelberg SMC, van Alfen JC, et al. Identification of human D-lactate dehydrogenase deficiency. *Nat Commun.* 2019; 10: 1477. doi: 10.1038/s41467-019-09458-6
9. Krogdahl A, Gro-Ingunn H, Mommsen TP. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutr.* 2005; 11(2): 103-122. doi: 10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x
10. Изергина Е.Е., Изергин И.Л., Изергин Л.И. Атлас клеток крови лососевых рыб материкового побережья северной части Охотского моря. Магадан: Кордис; 2014.
11. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб: Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. М.: Лёгкая и пищевая промышленность; 1983.
12. Larsen T. Fluorometric determination of d-lactate in biological fluids. *Anal Biochem.* 2017; 539: 152-157. doi: 10.1016/j.ab.2017.10.026
13. Woting A, Blaut M. Small intestinal permeability and gut-transit time determined with low and high molecular weight

fluorescein isothiocyanate-dextran in C3H mice. *Nutrients.* 2018; 10(6): 685. doi: 10.3390/nu10060685

14. Terova G, Gini E, Gasco L, Moroni F, Antonini M, Rimoldi S. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. *J Animal Sci Biotechnol.* 2021; 12(1): 30. doi: 10.1186/s40104-021-00551-9

15. Poudel P, Tashiro Yu, Sakai K. New application of *Bacillus* strains for optically pure L-lactic acid production: General overview and future prospects. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016; 80(4): 642-654. doi: 10.1080/09168451.2015.1095069

16. Kong W, Huang C, Tang Y, Zhang D, Wu Z. Effect of *Bacillus subtilis* on *Aeromonas hydrophila*-induced intestinal mucosal barrier function damage and inflammation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *J Sci Rep.* 2017; 7: 1588-1598. doi: 10.1038/s41598-017-01336-9

17. Kettleborough RN, Busch-Nentwich EM, Harvey SA, Dooley CM, de Bruijn E, van Eeden F, et al. A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function. *Nature.* 2013; 496(7446): 494-497. doi: 10.1038/nature11992

REFERENCES

1. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-lactate in human and ruminant metabolism. *J Nutr.* 2005; 135(7): 1619-1625. doi: 10.1093/jn/135.7.1619
2. Lorenz I, Gentile A. D-lactic acidosis in neonatal ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2014; 30(2): 317-331. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.03.004
3. Caglayan F, Cakmak M, Caglayan O, Cavusoglu T. Plasma D-lactate levels in diagnosis of appendicitis. *J Invest Surg.* 2003; 16(4): 233-237.
4. Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004; 3(1): 58-61.
5. Smith SM, Eng RH, Buccini F. Use of D-lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections. *J Infect Dis.* 1986; 154(4): 658-664. doi: 10.1093/infdis/154.4.658
6. Yilmaz B, Schibli S, Macpherson AJ, Sokolluk C. D-lactic acidosis: Successful suppression of D-lactate-producing *Lactobacillus* by probiotics. *Pediatrics.* 2018; 142(3): e20180337. doi: 10.1542/peds.2018-0337
7. Stuivenberg G, Daisley B, Akouris P, Reid G. *In vitro* assessment of histamine and lactate production by a multi-strain probiotic. *J Food Sci Technol.* 2021; 59(9): 3419-3427. doi: 10.1007/s13197-021-05327-7
8. Monroe GR, van Eerde AM, Tessadori F, Duran KJ, Savelberg SMC, van Alfen JC, et al. Identification of human D-lactate dehydrogenase deficiency. *Nat Commun.* 2019; 10: 1477. doi: 10.1038/s41467-019-09458-6
9. Krogdahl A, Gro-Ingunn H, Mommsen TP. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutr.* 2005; 11(2): 103-122. doi: 10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x
10. Izergina EE, Izergin IL, Izergin LI. *Atlas of blood cells salmon continental coast of the northern part of the Okhotsk Sea.* Magadan: Kordis; 2014. (In Russ.).
11. Ivanova NT. *Atlas of fish blood cells: Comparative morphology and classification of the formed elements of fish blood.* Moscow: Legkaya and pishchevaya promyshlennost; 1983. (In Russ.).

12. Larsen T. Fluorometric determination of d-lactate in biological fluids. *Anal Biochem*. 2017; 539: 152-157. doi: 10.1016/j.ab.2017.10.026
13. Woting A, Blaut M. Small intestinal permeability and gut-transit time determined with low and high molecular weight fluorescein isothiocyanate-dextrans in C3H mice. *Nutrients*. 2018; 10(6): 685. doi: 10.3390/nu10060685
14. Terova G, Gini E, Gasco L, Moroni F, Antonini M, Rimoldi S. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. *J Animal Sci Biotechnol*. 2021; 12(1): 30. doi: 10.1186/s40104-021-00551-9
15. Poudel P, Tashiro Yu, Sakai K. New application of *Bacillus* strains for optically pure L-lactic acid production: General overview and future prospects. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2016; 80(4): 642-654. doi: 10.1080/09168451.2015.1095069
16. Kong W, Huang C, Tang Y, Zhang D, Wu Z. Effect of *Bacillus subtilis* on *Aeromonas hydrophila*-induced intestinal mucosal barrier function damage and inflammation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *J Sci Rep*. 2017; 7: 1588-1598. doi: 10.1038/s41598-017-01336-9
17. Kettleborough RN, Busch-Nentwich EM, Harvey SA, Dooley CM, de Bruijn E, van Eeden F, et al. A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function. *Nature*. 2013; 496(7446): 494-497. doi: 10.1038/nature11992

Сведения об авторах

Васильева Алина Валерьевна – студентка 2-го курса магистратуры, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», e-mail: kennard@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3849-6796>

Морозов Алексей Анатольевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник, ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, e-mail: alexeymorozov1991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1925-0045>

Матросова Светлана Владимировна – заведующая лабораторией научно-исследовательского центра по аквакультуре, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», e-mail: matrosovasv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0093-704X>

Чечкова Наталья Александровна – студентка 2-го курса магистратуры, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», <https://orcid.org/0000-0002-6995-7738>

Арнаутов Максим Владимирович – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник отдела кормов и кормовых компонентов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», <https://orcid.org/0000-0003-3699-1451>

Артемов Роман Викторович – кандидат технических наук, доцент, начальник отдела кормов и кормовых компонентов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», <https://orcid.org/0000-0001-5085-4459>

Биндуков Сергей Викторович – аспирант, специалист отдела кормов и кормовых компонентов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», <https://orcid.org/0000-0003-4231-1571>

Жидко Аглайя Васильевна – студентка 4-го курса Института биологии, экологии и агротехнологий бакалавриата, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», <https://orcid.org/0000-0003-0958-3110>

Суховская Ирина Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической биохимии Института биологии, ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук», e-mail: sukhovskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1073-2769>

Information about the authors

Alina V. Vasileva – 2nd year Master's Degree Student, Petrozavodsk State University, e-mail: kennard@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3849-6796>

Alexey A. Morozov – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer, Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: lexeymorozov1991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1925-0045>

Svetlana V. Matrosova – Head of the Laboratory of the Research Center for Aquaculture, Petrozavodsk State University, e-mail: matrosovasv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0093-704X>

Natalia A. Chechkova – 2nd year Master's Degree Student, Petrozavodsk State University, <https://orcid.org/0000-0002-6995-7738>

Maksim V. Arnautov – Cand. Sc. (Tech.), Leading Research Officer at the Department of Feed and Feed Components, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, <https://orcid.org/0000-0003-3699-1451>

Roman V. Artemov – Cand. Sc. (Tech.), Docent, Head of the Department of Feed and Feed Components, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, <https://orcid.org/0000-0001-5085-4459>

Sergey V. Bindyukov – Postgraduate, Specialist at the Department of Feed and Feed Components, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, <https://orcid.org/0000-0003-4231-1571>

Aglaya V. Zhidko – 4th year Student at the Institute of Biology, Ecology and Agrotechnologies, Petrozavodsk State University, <https://orcid.org/0000-0003-0958-3110>

Irina V. Sukhovskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecological Biochemistry, Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, e-mail: sukhovskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1073-2769>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГИПОКСИИ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

РЕЗЮМЕ

Ким А.Е.¹,
Шустов Е.Б.²,
Ганапольский В.П.¹,
Зайцева И.П.³,
Лемещенко А.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

Минобороны России
(194044, г. Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, 6, Россия)

² ФГБУ «Научно-клинический центр
токсикологии имени академика
С.Н. Голикова» ФМБА России
(192019, г. Санкт-Петербург,
ул. Бехтерева, 1, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Ярославский
государственный университет
имени П.Г. Демидова»
(150003, г. Ярославль, ул. Советская, 14,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ким Алексей Евгеньевич,
e-mail: alexpann@mail.ru

Обоснование. Типовым экстремальным фактором является гипоксия, которая существенно влияет на возможность выполнения задач профессиональной деятельности, в частности – физических нагрузок различной интенсивности. Физические и нервно-эмоциональные нагрузки в условиях гипоксии могут приводить к срыву компенсаторно-приспособительных механизмов с развитием экстремальных и критических состояний.

Цель исследования. Количественная оценка влияния гипоксии на физическую работоспособность лабораторных животных на разных уровнях их естественной резистентности.

Методы исследования. Моделирование гипоксии осуществлялось методами барокамерного подъёма лабораторных животных и введения метгемоглобинобразователя. Устойчивость к гипоксической гипоксии оценивалась по критерию высотного порога, к гемической – по времени жизни. Критерием функционального состояния лабораторных животных была их способность к выполнению физических нагрузок, которая создавалась бегом животных на тредбене или предельным плаванием с грузом.

Результаты исследования. Высота 3500 м вызывает снижение физической работоспособности крыс-самцов на треть от уровня нормоксии, высота 5000 м – снижение в 2 раза, высота 6500 м – снижение в 4 раза, а на высоте 8000 м выполнение беговых физических нагрузок крысами становится невозможным. Лёгкая степень гемической гипоксии вызывает снижение времени плавания практически в 2 раза, что соответствует влиянию на работоспособность высоты 5000 м, а гемическая гипоксия умеренной степени снижает время плавания более чем в 3 раза, что примерно соответствует влиянию высоты 6000 м.

Уровень устойчивости к гипоксии оказывает умеренное влияние на физическую работоспособность, а фактор низкого уровня физической работоспособности практически не оказывает влияние на устойчивость к гипоксии (28 % и 7 % вариативности признака соответственно). У животных с исходно низким уровнем устойчивости к гипоксии отмечается также снижение работоспособности в среднем на 20 %.

Заключение. Гемическая гипоксия является адекватной моделью в исследованиях с комплексным воздействием различных экстремальных факторов. Оптимальным является моделирование гипоксии лёгкой степени, вызванной введением нитрита натрия в дозе 30 мг/кг.

Ключевые слова: гипоксия, биомоделирование, лабораторные животные, резистентность к гипоксии, физические нагрузки

Статья поступила: 13.04.2022

Статья принята: 13.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Ким А.Е., Шустов Е.Б., Ганапольский В.П., Зайцева И.П., Лемещенко А.В. Патофизиологические аспекты взаимодействия гипоксии и физической нагрузки (экспериментальное исследование). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 259-267. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.26

PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF THE INTERACTION OF HYPOXIA AND PHYSICAL LOAD (EXPERIMENTAL STUDY)

ABSTRACT

Kim A.E.¹,
Shustov E.B.²,
Ganapolsky V.P.¹,
Zaitseva I.P.³,
Lemeshchenko A.V.¹

¹ Kirov Military Medical Academy
(Akademika Lebedeva str. 6,
Saint Petersburg 194044,
Russian Federation)

² Golikov Research Clinical Center
of Toxicology (Bekhtereva str. 1,
Saint Petersburg 192019,
Russian Federation)

³ P.G. Demidov Yaroslavl State University
(150003, Yaroslavl, Sovetskaya str. 14,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexey E. Kim,
e-mail: alexpann@mail.ru

Background. A typical extreme factor is hypoxia, which significantly affects the ability to perform tasks of professional activity, in particular, physical activity of various intensity. Physical and neuro-emotional stress under conditions of hypoxia can cause the breakdown of compensatory and adaptive mechanisms with the development of extreme and critical conditions.

The aim of the study. Quantitative assessment of the effect of hypoxia on the physical performance of laboratory animals at different levels of their natural resistance.

Research methods. Modeling of hypoxia was carried out by the methods of pressure chamber rise of laboratory animals and the administration of a methemoglobin former. Resistance to hypoxic hypoxia was assessed by the criterion of the threshold elevation, to hemic hypoxia – by the lifetime. The criterion for the functional state of laboratory animals was their ability to perform physical activity, which was created by treadmill run or swimming with a load.

Results of the study. An altitude of 3500 m causes a decrease in the physical performance of male rats by a third of normoxia level; an altitude of 5000 m – decrease by two times; an altitude of 6500 m – decrease by four times, and at an altitude of 8000 m makes running physical activity by rats impossible. A mild degree of hemic hypoxia causes a decrease in swimming time by almost 2 times, which corresponds to the effect of an altitude of 5000 m on the working capacity; and a moderate degree of hemic hypoxia causes a decrease in swimming time by more than 3 times, which approximately corresponds to the effect of an altitude of 6000 m.

The level of resistance to hypoxia has a moderate effect on physical performance, and the factor of a low level of physical performance has almost no effect on the resistance to hypoxia (28 % and 7 % of the trait variability respectively). In animals with an initially low level of resistance to hypoxia, there is also a decrease in working capacity by an average of 20 %.

Conclusion. Hemic hypoxia is an adequate model in studies with a complex effect of various extreme factors. Simulation of mild hypoxia caused by the administration of 30 mg/kg of sodium nitrite is an optimal method.

Keywords: hypoxia, biomodeling, laboratory animals, resistance to hypoxia, physical activity

Received: 13.04.2022

Accepted: 13.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Kim A.E., Shustov E.B., Ganapolsky V.P., Zaitseva I.P., Lemeshchenko A.V. Pathophysiological aspects of the interaction of hypoxia and physical load (experimental study). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 259-267. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.26

ОБОСНОВАНИЕ

Характерное для XXI века вовлечение в интенсивную промышленную деятельность регионов Крайнего Севера, полярных акваторий и морских глубин, высокогорья, разработка проектов лунных и марсианских баз делают актуальной проблему медицинского сопровождения профессиональной деятельности в экстремальных условиях. Типовым экстремальным фактором является гипоксия, которая существенно влияет на возможность выполнения человеком задач профессиональной деятельности, в частности физических нагрузок различной интенсивности. Выполнение в условиях гипоксии задач, связанных с физическими и нервно-эмоциональными нагрузками, может приводить к предельному напряжению и срыву компенсаторно-приспособительных механизмов с развитием экстремальных и критических состояний. Переносимость подобных нагрузок определяется индивидуальным уровнем врождённой и приобретённой резистентности организма к гипоксическому воздействию. Очевидно, что разработка средств повышения физической работоспособности в условиях гипоксического воздействия требует изучения взаимодействия механизмов, определяющих индивидуальную резистентность к гипоксии с механизмами снижения физической работоспособности в условиях утомления, что требует количественной оценки взаимовлияния этих факторов друг на друга, в том числе на разных уровнях резистентности к гипоксии и физической работоспособности [1]. Важным фактором такого взаимодействия является то, что физическая нагрузка сама по себе вызывает в организме комплекс изменений гипоксического характера (формирование кислородного долга, накопление лактата, метаболический ацидоз, истощение запасов гликогена в скелетных мышцах, печени и миокарде, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина, изменения проницаемости аэрогематического барьера и газообменной функции лёгких и др.), которые принято называть гипоксией физической нагрузки [2–4].

Всё вышеуказанное подчёркивает необходимость разработки методов оценки комплексного действия гипоксии на организм человека и моделирования такого воздействия на лабораторных животных в ходе доклинической оценки эффективности различных методов и средств коррекции функционального состояния. Однако при этом возникает ряд трудностей методического и технического характера. В исследованиях с добровольцами основной метод создания гипоксии – барокамерный подъём или вдыхание гипоксических газовых смесей, т. е. при этом у человека формируется гипоксическая гипоксия, нормобарическая или гипобарическая. Оба этих метода совместимы с наиболее распространёнными методиками оценки работоспособности (VELOЭРГОМЕТРИЯ, тестирование на бегущей дорожке, степ-тест и др.). Принципиально иная картина отмечается в исследованиях на животных, изучение работоспособности которых осуществляется в беговых или плавательных нагрузочных тестах. При этом ни лабораторные барокамеры для животных, ни лабораторные гипоксикаторы для животных техниче-

ски не приспособлены для выполнения в них ни беговых, ни плавательных нагрузочных проб. В нашем исследовании была использована барокамера для людей, в которой размещался тредбан для животных, а проводящий тестирование исследователь при этом сам подвергался воздействию гипобарической гипоксии. Поэтому в биомедицинских исследованиях возникает необходимость использовать другие методы формирования у животных гипоксических состояний, к наиболее простым из которых относится гемическая с введением метгемоглобинобразователей. При этом тестирование работоспособности может осуществляться стандартными плавательными нагрузочными тестами. Необходимо учитывать, что в практике биомедицинских исследований известно сочетанное изучение физической работоспособности и температурного экстремального фактора (гипертермии или гипотермии, задаваемой температурой воды, в которой плавают животные), но нам не удалось найти валидизированную методику изучения сочетанного воздействия гипоксии и физических нагрузок на лабораторных животных.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Количественная оценка влияния гипоксии на физическую работоспособность лабораторных животных на разных уровнях их естественной резистентности к гипоксии.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования. В ходе исследования в отдельных сериях последовательно решались следующие задачи (табл. 1):

Условия проведения. Воздействие гипоксии осуществлялось разными способами в зависимости от конкретных задач серии исследования. В серии 1 исследований использовалась модель бега животных на тредбане в условиях барокамерного подъёма белых крыс на хорошо переносимые для этого вида животных высоты (3500, 5000, 6500 и 8000 м). Подъём осуществлялся со скоростью 50 м/с в соответствии с рекомендациями Н.Н. Каркищенко и соавт. [5].

В серии 2 использована гемическая гипоксия. В основе острой гемической гипоксии лежит уменьшение кислородной ёмкости крови (например, при метгемоглобинемии). Для этого животным вводят внутрибрюшинно натрия нитрит (200 или 300 мг/кг для мышей или крыс соответственно). При внутрибрюшинном пути введения в этих дозах 100%-я гибель животного наступает через 13–17 мин, при подкожном пути введения – через 27–30 мин. При необходимости моделирования лёгкой степени гемической гипоксии (метгемоглобин крови 18–20 %) животным подкожно вводят нитрит натрия ($NaNO_2$) в дозе 3 мг/100 г массы тела, для моделирования средней степени гипоксии (метгемоглобин крови 35–36 %) используется введение нитрита натрия в дозе 5 мг/100 г массы тела [6].

ТАБЛИЦА 1
СЕРИИ ИССЛЕДОВАНИЯ И РЕШАЕМЫЕ В НИХ ЗАДАЧИ

TABLE 1
RESEARCH SERIES AND TASKS SOLVED IN THEM

| № серии | Группы животных | Используемые методики | Кол-во животных |
|-----------------------|--|---|--------------------|
| 1 | Недифференцированные по уровню устойчивости к гипоксии животных | Бег животных на тредбане в барокамере | 60 |
| 2 | Животные с высоким или низким уровнем устойчивости к гипоксии | Вынужденное плавание с грузом 5 % на фоне гемической гипоксии | 20 |
| 3 | Животные с высоким и низким уровнем физической работоспособности | Вынужденное плавание с грузом 10 % от массы тела | 60 |
| 4 | | Определение высотного порога | 60 |
| Итого животных | | | 200 |

В серии 3 для разделения животных по уровню устойчивости к гипоксии, а в серии 4 – для оценки уровня устойчивости к гипоксии – использована методика определения высотного порога животных. Для этого лабораторные животные поднимались в барокамере со скоростью 165 м/с до начальной площадки 9000 м, пребывали на этой высоте в течение 5 мин и вновь поднимались с той же скоростью до следующей площадки на 1000 м выше. Данный цикл осуществлялся до фиксирования у животного агонального дыхания. Высота, на площадке которой было зафиксировано агональное дыхание, и является индивидуальным высотным порогом для данного животного. Для перевода дискретной шкалы в непрерывную использовалась дробная высотная шкала, при которой целая часть равна высоте площадки в километрах, а дробная – отношению длительности жизни на этой высоте в секундах к длительности площадки (300 с). Животные, высотный порог которых менее 12 км, будут относиться к низкоустойчивым к гипоксии, с высотным порогом от 12 до 13,5 км – к среднеустойчивым, с высотным порогом более 13,5 км – к высокоустойчивым [7].

Оценка физической работоспособности проводится по времени выполнения животными физической нагрузки до отказа. Нагрузка при этом может создаваться или бегом на тредбане, или плаванием с грузом. Максимальные скорости потребления кислорода у крыс достигаются при скорости бега 43–53 м/мин [5], при этом максимальная длительность бега крыс не превышает 30 минут. Для оценки физической работоспособности при гипобарической гипоксии использован тест бега животных на тредбане до отказа со следующими параметрами: угол подъёма ленты дорожки составлял 10°, скорость движения ленты – 40 м/мин. Важным условием стандартизации исследования является предварительный отбор животных по массе тела с исключением из исследования избыточно агрессивных животных, а также предварительная тренировка животных по 5–10 мин на небольшой скорости на протяжении 2–3 дней.

Для проведения теста предельного плавания лабораторным животным в области крестца к шкуре прикрепляется груз, пропорциональный весу животного. В се-

рии 2 с учётом одновременного воздействия гемической гипоксии и физической нагрузки использовался груз, равный 5 % от массы тела; в серии 3 – груз, равный 10 % от массы тела. Предварительно животные проходят ознакомление с выполнением теста (как минимум трёхкратно, с интервалом в 2–3 дня). Животные, при предварительном тестировании физической работоспособности которых полученные результаты более чем на 35 % отличаются от средних значений, при рандомизации исключаются из исследования.

В серии 4 для оценки уровня физической работоспособности животных и их разделения на подгруппы использовалась методика трёхкратного предъявления плавательного теста с грузом 10 % от массы тела с 5-минутным интервалом. При этом параметром разделения является коэффициент утомляемости животных (КУ), отражающий отношение времени плавания в третьей попытке (T3) к времени в первом выполнении (T1) теста ($KU = 1 - T3/T1$). При $KU < 0,6$ животные могут быть отнесены к группе с низкой утомляемостью (высокой работоспособностью), при KU в диапазоне от 0,61 до 0,8 – к группе со средней утомляемостью, при $KU > 0,8$ – к группе с высокой утомляемостью (низкой работоспособностью) [8].

Исходы исследования. Организация исследования позволила всесторонне на уровне конечных точек переносимости экстремальных воздействий (время жизни, летальность, время выполнения физической нагрузки до отказа) оценить комплексное воздействие экстремальных факторов.

Требования к животным, их содержанию, порядку обращения. Исследование проводилось на белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская обл.) и прошедших 14-дневный карантин. Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствовали требованиям приказа Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Животные содержались в вентилируемых клетках при температуре воздуха 20–22 °C, относительной влажности 40–60 %, световом режиме 12:12 с включением света в 8.00. Использовался полноценный корм ПК-120 (ООО «Лабораторкорм», Москва),

при свободном доступе к водопроводной питьевой воде. После завершения эксперимента животные выводились из исследования в соответствии с утвержденным Протоколом. Биоматериал утилизировался в соответствии с «Ветеринарно-санитарными правилами сбора, утилизации и уничтожения биологических отходов» (в ред. Приказа Минсельхоза РФ от 16.08.2007 № 400). Протокол исследования был разработан в соответствии с требованиями Национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» и одобрен биоэтической комиссией ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова» ФМБА России.

Статистический анализ. Полученные экспериментальные материалы были сведены в аналитическую базу данных в процессоре электронных таблиц Excel (Microsoft Corp., США) и обрабатывались с помощью пакета прикладных программ «Анализ данных». Статистическая значимость различий между группами оценивалась для параметрических показателей методом ANOVA, для непараметрических показателей типа времени жизни – по критерию Вилкоксона – Манна – Уитни. Для оценки статистической значимости контролируемых факторов и их взаимодействия использовались

процедуры однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки влияния контролируемого фактора «уровень гипоксии» был выполнен однофакторный дисперсионный анализ, результаты которого представлены в таблице 2.

Установлено, что 94 % вариации показателя длительности бега при гипоксической гипоксии определяется именно уровнем гипоксии, и только 6 % – другими факторами. Анализ динамики центроидов групп показывает, что 50 %-е снижение уровня физической работоспособности соответствует подъёму лабораторных животных на высоту 5000 м, а на высоте 8000 м выполнение физических нагрузок для лабораторных животных становится невозможным.

В серии 2 с учетом того, что на животных будет оказывать воздействие предельно переносимая физическая нагрузка, гемическая гипоксия моделировалась на двух уровнях метгемоглобинемии – лёгкая (доза нитрита натрия – 30 мг/кг) и умеренная (доза нитрита натрия – 50 мг/кг). Интенсивность нагрузки обеспечивалась фиксацией груза, равного 5 % от массы тела. Ре-

ТАБЛИЦА 2
ВЛИЯНИЕ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ЖИВОТНЫХ, ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОСТЬ БЕГА НА ТРЕДБАНЕ: РЕЗУЛЬТАТЫ ДИСПЕРСИОННОГО ОДНОФАКТОРНОГО АНАЛИЗА

| Центроиды групп по высотам, мин | | | | | F-критерий | Коэффициент детерминации D | Статистическая значимость p |
|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|------------|----------------------------|-----------------------------|
| 0 м | 3500 м | 5000 м | 6500 м | 8000 м | | | |
| 23,2 | 14,8 | 12 | 6 | 0,4 | 463 | 0,94 | 6×10^{-70} |
| 100 % | 63,9 % | 51,8 % | 24,7 % | 2,0 % | – | – | – |

TABLE 2
THE EFFECT OF HYPOBARIC HYPOXIA ON THE PHYSICAL PERFORMANCE OF ANIMALS, THE DURATION OF TREADMILL RUN: THE RESULTS OF ONE-WAY ANOVA ANALYSIS

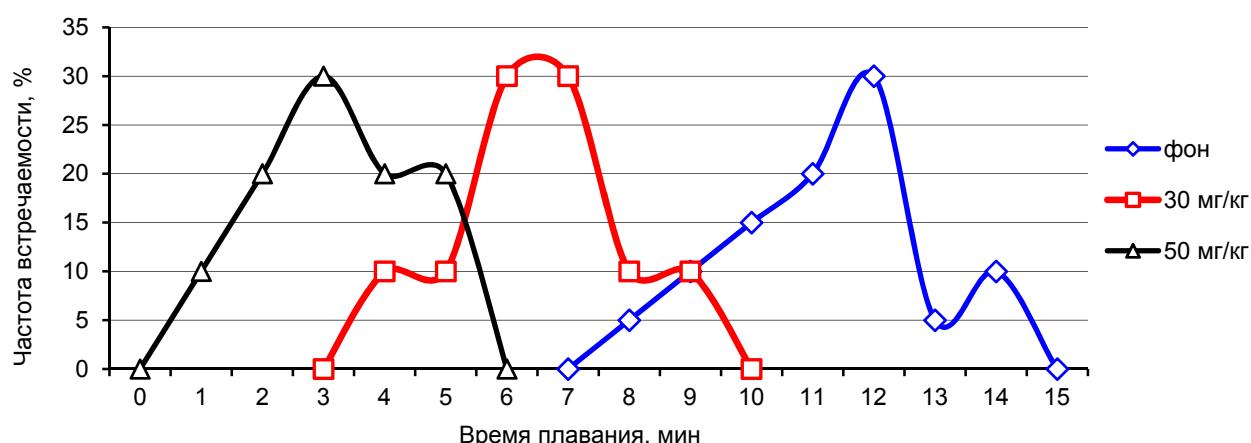


РИС. 1.

Частотные кривые встречаемости значений времени предельного плавания животных с грузом 5 % от массы тела в воде термoneutralной температуры

FIG. 1.

Frequency curves of the occurrence of the time values of extreme swimming of animals with a load of 5 % of body weight in thermoneutral water

зультаты данного исследования представлены на рисунке 1 и в таблице 3.

Анализ рисунка 1 показал, что время плавания животных с грузом 5 % от массы тела (фоновое исследование) не может быть охарактеризовано как близкое к нормальному статистическому распределению, что требует применения непараметрических методов статистического анализа. Влияние гемической гипоксии существенно сказывается на физической работоспособности животных (табл. 3).

Так, в проведённом исследовании 85 % всей вариации показателя времени плавания может быть отнесено к действию гемической гипоксии на организм животных ($p = 7 \times 10^{-16}$), причём даже лёгкая степень гемической гипоксии вызывает снижение времени плавания практически в 2,5 раза, а гемическая гипоксия умеренной степени – более чем в 3 раза.

В серии 3 животные были разделены на три подгруппы по уровню высотного порога с последующим тестированием физической работоспособности животных в teste предельного плавания с грузом 10 % от массы тела. Проведение факторного дисперсионного анализа показало, что уровень устойчивости животных к гипоксии оказывает существенное и статистически значимое влияние на их физическую работоспособность (табл. 4).

Как показало проведённое исследование, 28 % всей вариации показателя времени предельного плавания может быть отнесено к действию механизмов, определяющих уровень устойчивости животных к гипоксии –

в большей степени это может быть отнесено к низкому уровню устойчивости к гипоксии. Так, по сравнению с животными, устойчивость к гипоксии которых является средней, в группе низкоустойчивых животных время выполнения предельно переносимой смешанной аэробно-анаэробной физической нагрузки было ниже на 22 %, и эти отличия были статистически значимыми ($p = 0,03$). В то же время группа высокоустойчивых к гипоксии животных практически не отличалась от среднеустойчивых (+5 %; $p = 0,23$).

В серии 4 исследований оценивалось влияние уровня выносливости как показателя физической работоспособности животных на их устойчивость к гипобарической гипоксии. Результаты этой серии исследований представлены в таблице 5.

Проведённое исследование показало, что высотный порог, а следовательно, и уровень устойчивости к гипоксии у животных мало зависят от уровня их физической работоспособности. В целом только 7 % вариативности показателя высотного порога может быть объяснено разным уровнем выносливости животных. Анализ в полярных группах показывает, что животные с высоким уровнем выносливости характеризуются и более высоким уровнем устойчивости к гипоксии, однако это не отражается на группе животных со средним уровнем физической работоспособности. Полученные данные показывают, что механизмы физической работоспособности и устойчивости к гипоксии существенно различаются для основной массы животных.

ТАБЛИЦА 3
РЕЗУЛЬТАТЫ ОДНОФАКТОРНОГО ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА ВЛИЯНИЯ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ ЛЁГКОЙ И УМЕРЕННОЙ СТЕПЕНИ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

| Центроиды групп (время плавания, мин) | | | F-критерий | Коэффициент детерминации D | Статистическая значимость p |
|---------------------------------------|----------|----------|------------|----------------------------|-------------------------------|
| фон | 30 мг/кг | 50 мг/кг | | | |
| 11,2 | 6,5 | 3,2 | 104,1 | 0,85 | 7×10^{-16} |
| 100 % | 58 % | 29 % | – | – | – |

ТАБЛИЦА 4
РЕЗУЛЬТАТЫ ОДНОФАКТОРНОГО ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА ВЛИЯНИЯ УРОВНЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ НОРМОКСИИ (ТЕСТ ПРЕДЕЛЬНОГО ПЛАВАНИЯ С ГРУЗОМ 10 % ОТ МАССЫ ТЕЛА)

| Центроиды групп по устойчивости к гипоксии (время плавания, с) | | | | Коэффициент детерминации D | Статистическая значимость p |
|--|----------------------|------------------------|------|----------------------------|-------------------------------|
| низкая ($n = 18$) | средняя ($n = 26$) | высокая ($n = 16$) | | | |
| 92 | 118 | 124 | 0,28 | 6×10^{-5} | |
| 78 % ($p = 0,03^*$) | 100 % | 105 % ($p = 0,23^*$) | – | – | – |

Примечание. * – статистическая значимость различий с группой среднеустойчивых к гипоксии животных.

ТАБЛИЦА 3
THE RESULTS OF A ONE-WAY ANOVA ANALYSIS OF THE EFFECT OF MILD AND MODERATE HEMIC HYPOXIA ON THE PHYSICAL PERFORMANCE OF ANIMALS

ТАБЛИЦА 4
THE RESULTS OF A ONE-WAY ANOVA ANALYSIS OF THE EFFECT OF THE LEVEL OF INDIVIDUAL RESISTANCE TO HYPOXIA ON THE PHYSICAL PERFORMANCE OF ANIMALS IN NORMOXIA CONDITIONS (EXTREME SWIMMING TEST WITH A LOAD OF 10 % OF BODY WEIGHT)

ТАБЛИЦА 5

РЕЗУЛЬТАТЫ ОДНОФАКТОРНОГО ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА ВЛИЯНИЯ УРОВНЯ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ ЖИВОТНЫХ НА ИХ ИНДИВИДУАЛЬНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ К ГИПОКСИИ (МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЫСОТНОГО ПОРОГА)

TABLE 5

THE RESULTS OF ONE-WAY ANOVA ANALYSIS OF THE EFFECT OF THE LEVEL OF PHYSICAL PERFORMANCE OF ANIMALS ON THEIR INDIVIDUAL RESISTANCE TO HYPOXIA (METHOD FOR DETERMINING THE THRESHOLD ELEVATION)

| Центроиды групп по уровню физической работоспособности (высотный порог, км) | | | Коэффициент детерминации D | Статистическая значимость p |
|---|------------------|-------------------|----------------------------|-----------------------------|
| низкая (n = 14) | средняя (n = 31) | высокая (n = 15) | | |
| 11,5 | 12,4 | 13,8 | 0,07 | 0,04 |
| 93 % (p = 0,36*) | 100 % | 111 % (p = 0,17*) | – | – |

Примечание. * – статистическая значимость различий с группой животных со средним уровнем физической работоспособности.

ОБСУЖДЕНИЕ

Причиной остановки выполнения физической нагрузки максимальной и субмаксимальной мощностью может быть возникающее по ГАМК-ergicическому механизму ограничение интенсивности потока импульсов, следовой деполяризации электровозбудимых нейрональных мембран, а также формирование специфического состояния парабиоза при сверхэкстремальной работе нейронов [9]. Физические нагрузки субмаксимальной мощности вызывают некомпенсируемое изменение гомеостаза, вызванного лактацидозом, накоплением в крови аммиака, снижением уровня глюкозы в крови и запасов гликогена в мышцах и печени, метаболическим ограничением сократительной функции миокарда. Аналогичные по своим метаболическим последствиям и снижению нервно-мышечной регуляции изменения могут формироваться в скелетных мышцах. В совокупности при работе максимальной и субмаксимальной мощности можно констатировать, что ограничения в возможности выполнения физической нагрузки будут характеризовать нарушения центральных механизмов системы организации и координации движений заданного темпа и интенсивности.

Возможность выполнения физических нагрузок большой мощности в условиях развития утомления определяется резервными возможностями системы обеспечения дыхания и кровообращения по компенсации нарастающих сдвигов кислотно-основного баланса, снижению уровня глюкозы в крови, повышению температуры ядра тела.

Развитие утомления при длительных физических нагрузках умеренной мощности сопряжено с истощением углеводного резерва в скелетных мышцах, миокарде и печени, нарушением питания нейронов, накоплением недоокисленных метаболитов и снижением энергогенерирующих возможностей митохондрий. С истощением резервов терморегуляции и гомеостатического регулирования, замыкающихся на циркуляцию крови и функцию внешнего дыхания, во многом связана невозможность продолжения выполнения физических нагрузок [10–13]. Снижение энергетических возможностей мито-

хондрий по генерации аденоинтрифосфата (АТФ) является ключевым моментом для гипоксии любого генеза. При этом в организме отмечается снижение концентрации креатинфосфата и АТФ в головном мозге при увеличении содержания продуктов его деградации (аденоинтрифосфата, аденоинмонофосфата, неорганического фосфата). Это приводит к нарушениям мембранных транспорта, процессов биосинтеза и других функций клетки [14], а также к внутриклеточному лактацидозу, увеличению внутриклеточной концентрации свободного кальция и активации перекисного окисления липидов.

При формировании гипоксии физической нагрузки центральным звеном снижения работоспособности становится дефицит макроэргов в клетках. Основным источником энергии на короткое время становится анаэробный гликолиз. Необходимо учитывать, что и в условиях гипоксии, и в условиях интенсивных физических нагрузок доставка кислорода в организм зависит от разнообразных условий [15, 16]. Отклонения от оптимального уровня работы кислородтранспортных механизмов организма, ведущих к дефициту кислорода в тканях, могут стать причиной тканевого энергодефицита и основой негативного взаимодействия при одновременном воздействии гипоксии и физических нагрузок.

Несмотря на разные молекулярные механизмы формирования гипоксической и гемической гипоксии, взаимодействие гипоксического фактора и предельно переносимой физической нагрузки, вероятнее всего, осуществляется на более глубоком, с точки зрения внутриклеточных процессов, уровне – митохондриальных процессов генерации АТФ и его повышенного расходования на физическую работу [1, 17, 18]. Это позволяет считать предлагаемую экспериментальную модель изучения совместного воздействия гипоксии и физических нагрузок корректной с точки зрения единого механизма обеспечения энергопродукции клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наиболее вероятным механизмом развития синдрома взаимного отягощения при воздействии гипоксии

и физической нагрузки является нарушение генерации АТФ в процессе фосфорилирующего митохондриального окисления, который является общим звеном патогенеза различных экстремальных состояний.

В условиях нормобарической гипоксии высота 3500 м вызывает снижение физической работоспособности лабораторных животных на треть от уровня нормоксии, высота 5000 м – в 2 раза, высота 6500 м – в 4 раза, а на высоте 8000 м выполнение беговых физических нагрузок крысами становится невозможным.

Гемическая гипоксия является адекватной моделью для использования в исследованиях с комплексным воздействием различных экстремальных факторов. Оптимальным может быть моделирование гипоксии лёгкой степени, вызванной введением нитрита натрия в дозе 30 мг/кг, или умеренной гипоксии (доза нитрита натрия – 50 мг/кг), если анализируемые экстремальные факторы характеризуются низким уровнем взаимодействия.

Контролируемый фактор устойчивости к гипоксии оказывает умеренное влияние на уровень физической работоспособности (28 % вариативности показателя), в то время как фактор низкого уровня физической работоспособности практически не оказывает влияние на устойчивость к гипоксии (7 % вариативности признака). У животных с исходно низким уровнем устойчивости к гипоксии отмечается также снижение работоспособности в среднем на 20 %.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Prikhodko VA, Selizarova NO, Okovityi SV. Molecular mechanisms for hypoxia development and adaptation to it. Part I. *Arkh Patol.* 2021; 83(2): 52-61. doi: 10.17116/patol20218302152
- Меерсон Ф.З. Основные закономерности индивидуальной адаптации. В: *Физиология адаптационных процессов*. М.: Наука; 1986: 10-76.
- Лукьянова Л.Д. *Сигнальные механизмы гипоксии*. М.: РАН; 2019.
- Новиков В.С., Сороко С.И., Шустов Е.Б. *Дезадаптационные состояния человека при экстремальных воздействиях и их коррекция*. 2018.
- Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Берzin И.А., Капанадзе Г.Д., Фокин Ю.В., и др. *Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность: методические рекомендации МР21.43*. М.: ФМБА России; 2017.
- Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Семенов Х.Х., и др. *Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств: методические рекомендации МР21-44-2017*. М.: ФМБА России; 2017.

7. Шустов Е.Б., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Семенов Х.Х. Анализ параметров индивидуальной устойчивости лабораторных животных к гипоксии в интересах биологического моделирования нейропротекторного и антигипоксического действия лекарственных средств. *Биомедицина*. 2013; 1(4): 149-157.

8. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., Берзин И.А., Фокин Ю.В., Алимкина О.В. Особенности интерпретации показателей работоспособности лабораторных животных по плавательным тестам с нагрузкой. *Биомедицина*. 2016; (4): 34-36.

9. Semyanov AV. GABA-ergic inhibition in the CNS: Types of GABA receptors and mechanisms of tonic GABA-mediated inhibitory action. *Neurophysiology*. 2002; 34(1): 71-80. doi: 10.1023/A:1020274226515

10. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М. Фармакологическая коррекция умственной и физической работоспособности. В: *Фармакологическая регуляция процессов утомления*. М.; 1982: 7-33.

11. Вайнштейн Х.И. *Утомление*. М.: Физкультура и спорт; 1967.

12. Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Болотова В.Ц. *Работоспособность. Утомление. Коррекция*. М.: КНОРУС; 2019.

13. Grandjean E. Fatigue: Its physiological and psychological significance. *Ergonomics*. 1968; 11(5): 427-436. doi: 10.1080/00140136808930992

14. Виноградов В.М. Поддержание жизни в экстремальных условиях. В: *Повышение резистентности организма к экстремальным воздействиям*. Кишинев: Штиинца; 1973: 105-127.

15. Рожков В.П., Трифонов М.И., Бурых Э.А., Сороко С.И. Оценка индивидуальной устойчивости человека к острой гипоксии по интегральным характеристикам структурной функции многоканальной ЭЭГ. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019; 105(7): 832-852. doi: 10.1134/S0869813919070082

16. Van Liere EJ, Stickney JC. *Hypoxia*. Chicago: Academic Medicine; 1964.

17. Зарубина И.В. Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2011; 9(3): 31-48.

18. Thomas LW, Ashcroft M. Exploring the molecular interface between hypoxia-inducible factor signalling and mitochondria. *Cell Mol Life Sci.* 2019; 76(9): 1759-1777. doi: 10.1007/s00018-019-03039-y

REFERENCES

- Prikhodko VA, Selizarova NO, Okovityi SV. Molecular mechanisms for hypoxia development and adaptation to it. Part I. *Arkh Patol.* 2021; 83(2): 52-61. doi: 10.17116/patol20218302152
- Meerzon FZ. Basic patterns of individual adaptation. In: *Physiology of adaptation processes*. Moscow: Nauka; 1986: 10-76. (In Russ.).
- Lukyanova L.D. *Signaling mechanisms of hypoxia*. Moscow: RAS; 2019. (In Russ.).
- Novikov VS, Soroko SI, Shustov EB. *Disadaptive states of a person under extreme influences and their correction*. 2018. (In Russ.).

5. Karkishchenko NN, Karkishchenko VN, Shustov EB, Berzin IA, Kapanadze GD, Fokin YuV, et al. *Biomedical (preclinical) study of drugs affecting physical performance: Guidelines MR21.43*. Moscow: FMBA of Russia; 2017. (In Russ.).
6. Karkishchenko NN, Karkishchenko VN, Shustov EB, Kapanadze GD, Revyakin AO, Semenov KhKh, et al. *Biomedical (preclinical) study of the antihypoxic activity of drugs: Guidelines MR21-44-2017*. Moscow: FMBA of Russia; 2017. (In Russ.).
7. Shustov EB, Karkischenko NN, Karkischenko VN, Semenov KK. Analysis of individual tolerance parameters of laboratory animals to hypoxia in biological modeling neuroprotective and antihypoxant action of medicines. *Journal Biomed*. 2013; 1(4): 149-157. (In Russ.).
8. Karkischenko VN, Karkischenko NN, Shustov EB, Berzin IA, Fokin YuV, Alimkina OV. Features of interpretation of laboratory animal health indicators in swimming tests with load. *Journal Biomed*. 2016; (4): 34-6. (In Russ.).
9. Semyanov AV. GABA-ergic inhibition in the CNS: Types of GABA receptors and mechanisms of tonic GABA-mediated inhibitory action. *Neurophysiology*. 2002; 34(1): 71-80. doi: 10.1023/A:1020274226515
10. Bobkov YuG, Vinogradov VM. Pharmacological correction of mental and physical performance. In: *Pharmacological regulation of fatigue processes*. Moscow; 1982: 7-33. (In Russ.).
11. Weinstein Kh.I. *Fatigue*. Moscow: Fizkultura i sport; 1967. (In Russ.).
12. Okovityi SV, Shustov EB, Bolotova VTs. *Working capacity. Fatigue. Correction*. Moscow: KNORUS; 2019. (In Russ.).
13. Grandjean E. Fatigue: Its physiological and psychological significance. *Ergonomics*. 1968; 11(5): 427-436. doi: 10.1080/00140136808930992
14. Vinogradov VM. Maintaining life in extreme conditions. In: *Increasing the body resistance to extreme influences*. Kishinev: Shtiintsa; 1973: 105-127.
15. Rozhkov VP, Trifonov MI, Burykh EA, Soroko SI. Estimation of individual human tolerance to acute hypoxia on the integral characteristics of the structure function of the multichannel EEG. *Russian Journal of Physiology*. 2019; 105(7): 832-852. (In Russ.). doi: 10.1134/S0869813919070082
16. Van Liere EJ, Stickney JC. *Hypoxia*. Chicago: Academic Medicine; 1964.
17. Zarubina IV. Modern view on pathogenesis of hypoxia and its pharmacological correction. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2011; 9(3): 31-48. (In Russ.).
18. Thomas LW, Ashcroft M. Exploring the molecular interface between hypoxia-inducible factor signalling and mitochondria. *Cell Mol Life Sci*. 2019; 76(9): 1759-1777. doi: 10.1007/s00018-019-03039-y

Сведения об авторах

Ким Алексей Евгеньевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела (обитаемости) Научно-исследовательского центра, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, e-mail: alexpann@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4591-2997>

Шустов Евгений Борисович – доктор медицинских наук, профессор, полковник медицинской службы в запасе, главный научный сотрудник, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова» ФМБА России, <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>

Ганапольский Вячеслав Павлович – доктор медицинских наук, полковник медицинской службы, научно-исследовательского отдела (обитаемости) Научно-исследовательского центра, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, <https://orcid.org/0000-0001-7685-5126>

Зайцева Ирина Петровна – доктор биологических наук, профессор кафедры физического воспитания, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет имени П.Г. Демидова», <https://orcid.org/0000-0001-8361-7409>

Лемешенко Алексей Викторович – кандидат медицинских наук, подполковник медицинской службы, докторант кафедры патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, <https://orcid.org/0000-0001-6786-2332>

Information about the authors

Alexey E. Kim – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Research Department (Habitability), Research Center, Kirov Military Medical Academy, e-mail: alexpann@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4591-2997>

Evgeny B. Shustov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Retired Colonel of the Medical Service, Chief Research Officer, Golikov Research Clinical Center of Toxicology, <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>

Vyacheslav P. Ganapolsky – Dr. Sc. (Med.), Colonel of the Medical Service, Head of the Research Department (Habitability), Research Center, Kirov Military Medical Academy, <https://orcid.org/0000-0001-7685-5126>

Irina P. Zaitseva – Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Physical Education, P.G. Demidov Yaroslavl State University, <https://orcid.org/0000-0001-8361-7409>

Alexey V. Lemeshchenko – Cand. Sc. (Med.), Lieutenant Colonel of the Medical Service, Doctoral Student at the Department of Pathological Physiology, Kirov Military Medical Academy, <https://orcid.org/0000-0001-6786-2332>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ НОРМОТРОФИЧЕСКОГО ЛОЖНОГО СУСТАВА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ КРОЛИКА

РЕЗЮМЕ

Смирнов С.С.^{1,2},
Щепкина Е.А.^{2,3},
Шиленко Л.А.^{1,2},
Самсоненко Е.К.²,
Аникин Н.А.¹,
Маметов М.В.²,
Чепурной З.И.²,
Воронин С.Е.¹,
Герко М.Д.²,
Ивкин Д.Ю.⁴,
Карпов А.А.^{1,4}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2, Россия)

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8, Россия)

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России (195427, г. Санкт-Петербург, ул. Байкова, 8, Россия)

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России (197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14а, Россия)

Обоснование. Образование ложного сустава – одно из наиболее тяжёлых осложнений переломов костей, которое возникает в результате нарушения консолидации перелома, характеризуется неблагоприятным прогнозом, требует длительного лечения и повторных операций. Небольшое количество репрезентативных моделей ложного сустава затрудняют проведение доклинических исследований перспективных фармакологических субстанций, остеозамещающих материалов и хирургических методов лечения.

Цель исследования. Разработка и валидация экспериментальной модели нормотрофического ложного сустава большеберцовой кости кролика путём создания диастаза между фрагментами, нарушения местной васкуляризации и применения нестабильной фиксации.

Методы. Исследование проводилось на кроликах породы Советская шиншилла. Животные были разделены на две группы: экспериментальная – формирование ложного сустава большеберцовой кости; контрольная – выполнение простого поперечного перелома большеберцовой кости. Ложный сустав формировался путём сегментарной резекции (5 мм) средней трети большеберцовой кости, разведения костных отломков на 5 мм, удаления надкостницы и костного мозга на протяжении 5 мм с последующей ежедневной дестабилизацией перелома в аппарате внешней фиксации. Длительность эксперимента составила 6 недель. Рентгенография области перелома выполнялась еженедельно, мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) и гистологические исследования проводились в конце эксперимента.

Результаты. Выживаемость в эксперименте составила 100 %. По данным еженедельной рентгенографии, консолидация перелома наблюдалась только в контрольной группе и происходила в среднем на $22,8 \pm 5,1$ сутки, в то время как образование ложного сустава наблюдалось только в опытной группе, и рентгенологические признаки ложного сустава отмечены в среднем на $33,6 \pm 3,5$ сутки. Формирование ложного сустава к концу эксперимента подтверждено данными МСКТ и гистологическими исследованиями.

Выводы. Разработанная модель нормотрофического ложного сустава большеберцовой кости кролика может быть использована для тестирования в эксперименте различных факторов стимуляции репаративной регенерации и способов лечения ложного сустава.

Ключевые слова: экспериментальная модель, ложный сустав, кролики, перелом, большеберцовая кость

Автор, ответственный за переписку:
Смирнов Сергей Сергеевич,
e-mail: smirnovssmd@gmail.com

Статья поступила: 19.02.2022

Статья принята: 10.11.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Смирнов С.С., Щепкина Е.А., Шиленко Л.А., Самсоненко Е.К., Аникин Н.А., Маметов М.В., Чепурной З.И., Воронин С.Е., Герко М.Д., Ивкин Д.Ю., Карпов А.А. Экспериментальная модель нормотрофического ложного сустава большеберцовой кости кролика. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 268-279. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.27

EXPERIMENTAL MODEL OF NORMOTROPHIC PSEUDARTHROSIS OF A RABBIT'S TIBIA

ABSTRACT

Smirnov S.S.^{1,2},
Shchepkina E.A.³,
Shilenko L.A.^{1,2},
Samsonenko E.K.²,
Anikin N.A.¹,
Mametov M.V.²,
Chepurnoy Z.I.²,
Voronin S.E.¹,
Gerko M.D.²,
Ivkin D.Yu.⁴,
Karpov A.A.^{1,4}

¹ Almazov National Medical Research Centre (Akkuratova str. 2, Saint Petersburg 197341, Russian Federation)

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Lva Tolstogo str. 6-8, Saint Petersburg 197022, Russian Federation)

³ Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics (Baykova str. 8, Saint Petersburg 195427, Russian Federation)

⁴ Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University (Professora Popova str. 14, Saint Petersburg 197376, Russian Federation)

Background. The formation of a pseudarthrosis is one of the most severe complications of bone fractures. Pseudarthrosis occurs as a result of a disorder in the fracture union, has a poor prognosis and requires long-term treatment and repeated surgeries. A small number of representative pseudarthrosis models makes it difficult to conduct preclinical studies of promising pharmacological substances, bone replacement materials and surgical methods of treatment.

The aim. To develop and to validate an experimental model of normotrophic pseudarthrosis of a rabbit's tibia by creating diastasis between bone fragments, forming local vascularization disturbance and using unstable fixation.

Materials and methods. The study was carried out on Soviet Chinchilla rabbits. The animals were divided into 2 groups: in experimental group, we formed tibial pseudarthrosis; in control group, we made a simple transverse tibial fracture. The pseudarthrosis was formed by segmental resection (5 mm) of the middle third of the tibia, bone fragments dilatation for 5 mm, removal of periosteum and bone marrow within 5 mm followed by daily destabilization of a fracture in an external fixation device. The duration of the experiment was 6 weeks. X-ray examination of the fracture area was carried out weekly, multi-layer spiral computed tomography (MSCT) and histological examinations were carried out at the end of the experiment.

Results. The survival value in the experiment was 100 %. According to weekly X-ray examination, fracture union was registered only in the control group and occurred on average on the $22,8 \pm 5,1$ day, while the formation of pseudarthrosis was observed only in the experimental group, and radiographic signs of a pseudarthrosis were noted on average on the $33,6 \pm 3,5$ day. The formation of a pseudarthrosis by the end of the experiment was confirmed by MSCT and histological studies.

Conclusions. The developed model of the normotrophic pseudarthrosis of a rabbit's tibia can be used for experimental tests of various factors for stimulating reparative regeneration and methods for treatment of the pseudarthrosis.

Key words: experimental model, pseudarthrosis, rabbits, fracture, tibia

Corresponding author:

Sergey S. Smirnov,

e-mail: smirnovssmd@gmail.com

Received: 19.02.2022

Accepted: 10.11.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Smirnov S.S., Shchepkina E.A., Shilenko L.A., Samsonenko E.K., Anikin N.A., Mametov M.V., Chepurnoy Z.I., Voronin S.E., Gerko M.D., Ivkin D.Yu., Karpov A.A. Experimental model of normotrophic pseudarthrosis of a rabbit's tibia. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 268-279. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.27

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образование ложного сустава (ЛС) является одним из наиболее неблагоприятных и часто встречающихся осложнений переломов длинных трубчатых костей [1–3]. По разным данным, от 5 до 10 % переломов осложняются образованием ложного сустава [1, 2]. Высокоэнергетическая травма, пороки развития, резекция опухоли костной ткани и остеомиелит могут привести к значительной потере костной массы и большим дефектам с низким регенераторным потенциалом [4–9]. Однако наличие критического дефекта костной ткани не является единственным условием формирования ЛС [10–12]. К данному патологическому состоянию предрасполагает целый ряд сопутствующих патологий: никотиновая и алкогольная зависимость; сахарный диабет; системный остеопороз; кахексия; пожилой возраст; нейрофиброматоз и др. [13–17]. Нарушение принципов стабильности и жёсткости фиксации переломов также приводит к замедленной консолидации и формированию ЛС. Выделяют три типа ЛС по способности к регенерации – нормотрофический, гипертрофический и атрофический [17, 18]. Считается, что основным предрасполагающим фактором образования гипертрофического ЛС является гипермобильность костных отломков [17, 19]. В то же время для формирования атрофического ЛС ключевым фактором является нарушение трофики места перелома [17, 18]. Нормотрофические ЛС имеют смешанную этиологию [19].

Основным подходом к лечению гипертрофического ЛС является стабилизация костных отломков [17]. Однако для нормотрофического и атрофического ЛС простого устранения механического фактора не всегда достаточно – необходимо также повысить регенераторный потенциал поражённого сегмента [19]. Для этих целей в значительном проценте случаев используется пересадка костной ткани [20], а аутотрансплантация костного материала по-прежнему является «золотым стандартом» [21]. Однако данная методика имеет ряд недостатков, которые ограничивают её использование в клинической практике. Осложнения со стороны донорского участка включают в себя постоянную боль, инфицицию, повреждение нервов, ятрогенные переломы. Более того, забор аутокости – это отдельный этап операции, на который требуется дополнительное время, что в конечном итоге увеличивает общую продолжительность оперативного вмешательства. При аутотрансплантации хирург ограничен предельно возможным объёмом гrafta [22–24]. В связи с этим за последнее время разрабатывается значительное количество искусственных материалов, которые могут быть использованы как альтернатива аутотрансплантации в лечении ЛС [21].

В литературе описано несколько видов моделей ложных суставов. Так, например, довольно распространёнными способами моделирования являются либо внедрение механических преград между костными отломками [25], либо местное введение препаратов, нарушающих трофику [16]. Однако данные модели не соответствуют в полной мере патофизиологии образования ЛС. Создание механической преграды соответствует интерпози-

ции в зоне перелома костными фрагментами или мягкими тканями. Интерпозицию, как правило, устраниют при первичном остеосинтезе. Сохранение же интерпонента при консервативном лечении перелома с последующим формированием ложного сустава является редкой клинической ситуацией. Кровоснабжение костных фрагментов при этом остаётся нормальным. Нарушение трофики костных фрагментов за счёт введения химических субстанций тем более не является этиологическим фактором формирования ложного сустава в клинической практике. Исследование на таких моделях не всегда является корректным с точки зрения патофизиологии. Таким образом, целесообразно разрабатывать экспериментальные модели с использованием типичных патогенетических факторов в формировании ложных суставов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка и валидация экспериментальной модели нормотрофического ложного сустава большеберцовой кости кролика.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Экспериментальная модель. Для моделирования нормотрофического ЛС разработана модель, при реализации которой осуществляется наложение мини-аппарата Илизарова, создание диастаза между костными отломками, удаление надкостницы и костного мозга из костных отломков на ограниченном участке с последующей ежедневной контролируемой дестабилизацией фиксации в аппарате.

Объекты исследования. Работа выполнена на 18 кроликах породы Советская шиншилла массой $3,75 \pm 0,25$ кг. Все эксперименты были проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей, требованиями ГОСТ ISO 10993-6-2011 «Межгосударственный стандарт. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации» и ГОСТ 31879-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Процедуры с животными были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. Условия содержания животных соответствовали стандартам, указанным в руководстве «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals». Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская обл.), клинически были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья, находились в идентичных условиях кормления и содержания. В экспериментальные группы были отобраны животные без признаков отклонений внешнего вида. На каждое животное заводили отдельную историю

болезни. Операции проводились под внутривенным наркозом смесью 10%-го раствора Золетила (Virbac, Франция), 7,5 мг/кг и 2%-го раствора Ксилазина (Interchemie, Нидерланды), 5 мг/кг. Во время каждой операции животным проводили periоперационную профилактику инфекционных осложнений энрофлоксацином в дозе 5 мг/кг внутримышечно за 30 мин до операции, далее – 1 раз в день в течение 3 дней после операции.

Распределение животных по группам. Животные были случайным образом распределены на две экспериментальные группы по 9 особей так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения в группе более чем на $\pm 10\%$.

Группа 1 – ЛС большеберцовой кости (ЛСБК; $n = 9$): экспериментальная группа, где проводилось оперативное вмешательство по формированию ЛС большеберцовой кости, фиксация в мини-аппарате Илизарова с элементами нестабильности.

Группа 2 – простой поперечный перелом большеберцовой кости (ППБК; $n = 9$): контрольная группа, где проводилось оперативное вмешательство по созданию простого поперечного перелома большеберцовой кости, фиксация в мини-аппарате Илизарова.

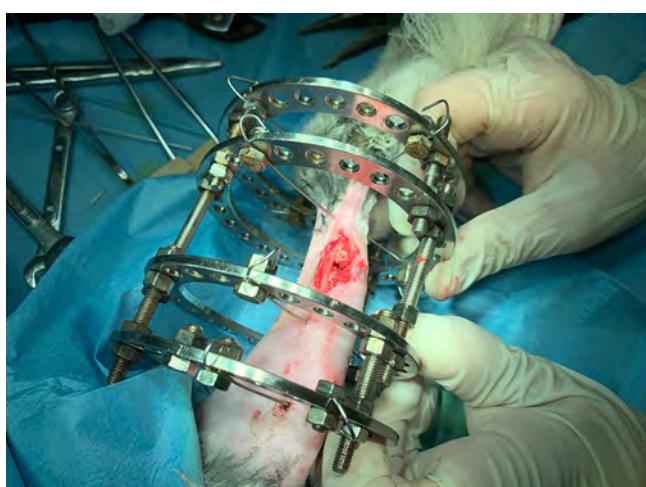
Хирургическая техника. Животное располагали в положении лёжа на спине после предварительного удаления шерсти с области правой голени и трёхкратной обработки операционного поля раствором Хлоргексидина 0,05 % (Тульская фармацевтическая фабрика, Россия) (рис. 1а), накладывали спицевой циркулярный аппарат внешней фиксации на правую голень (рис. 1б). Доступ к большеберцовой кости выполнялся с помощью передне-медиального разреза. Моделирование ППБК в контрольной группе выполнялось с помощью поперечного распила большеберцовой кости в средней трети дистальнее места сращения с малоберцовой костью. В группе ЛСБК диастаз формировался путём сегментарной резек-



а



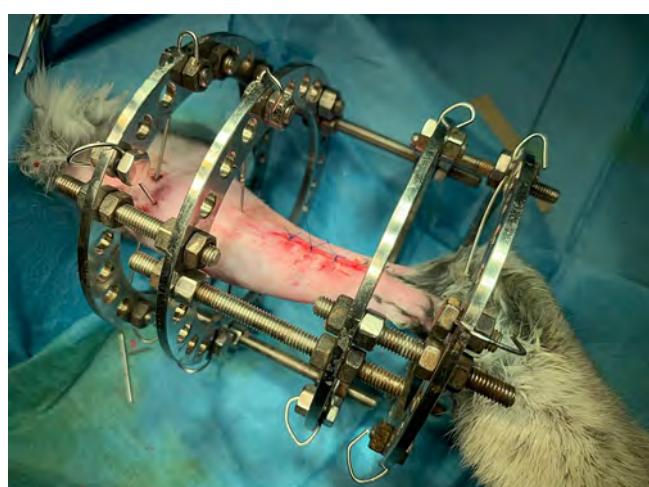
б



в

РИС. 1.

Этапы оперативного вмешательства: **а** – подготовка операционного поля; **б** – наложение мини-аппарата Илизарова; **в** – создание диастаза, удаление надкостницы и костного мозга; **г** – ушивание раны



г

FIG. 1.

Stages of surgical intervention: **а** – preparation of the surgical field; **б** – application of the Ilizarov mini-fixator; **в** – formation of diastasis, removal of the periosteum and bone marrow; **г** – wound closure

ции участка костной ткани протяжённостью 5 мм в средней трети большеберцовой кости дистальнее места сращения с малоберцовой костью. Далее в аппарате внешней фиксации производилась дистракция ещё на 5 мм. Перед закрытием раны выполнялось удаление надкостницы по краю костных отломков на протяжении 5 мм с каждой стороны и костного мозга на том же протяжении (рис. 1в). В обеих группах рана ушивалась Викрилом 4-0 (Johnson & Johnson, США) узловыми швами (рис. 1г).

На протяжении 6 недель после оперативного вмешательства у животных из группы ЛСБК выполнялась ежедневная дестабилизация аппарата внешней фиксации продолжительностью 1,5 минуты и амплитудой $14 \pm 1^\circ$. В группе ППБК манипуляций в аппарате не проводили.

Для оценки динамики образования костной мозоли проводилось еженедельное рентгенологическое исследование правой голени в двух проекциях. Через 6 недель после оперативного вмешательства выполнялась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) правой голени. Заключительное рентгенологическое исследование и МСКТ осуществлялись после демонтажа аппарата внешней фиксации с предварительной наркотизацией животного путём внутривенного введения 10%-го раствора Золетила (Virbac, Франция), 7,5 мг/кг и 2%-го раствора Ксилазина (Interchemie, Нидерланды), 5 мг/кг. Сразу после рентгенологических методов исследования выполнялись эвтаназия животных путём передозировки внутривенного наркоза, указанного ранее, и забор средней трети голени, включающей область оперативного вмешательства, для гистологического исследования.

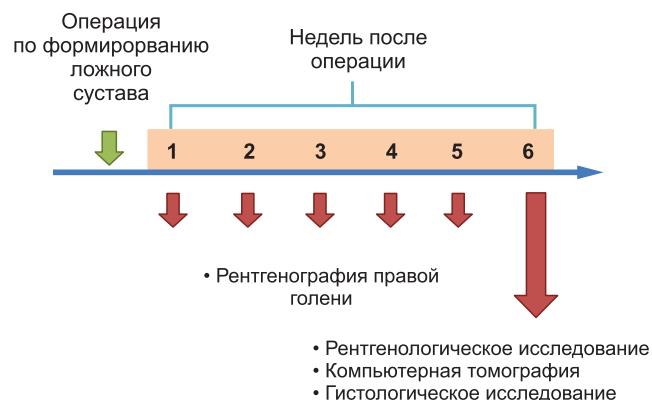


РИС. 2.

Схема эксперимента

FIG. 2.

Scheme of the experiment

Методы исследования и оборудование

Для выполнения рентгенографии области перелома использовалась установка SR-115 (Source-Ray, США). Исследование проводилось в 2 проекциях — прямой и боковой, с захватом смежных суставов, на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е и 42-е сутки после операции. Во время выполнения исследования правая нижняя конечность фиксировалась в положении разгибания в тазобедрен-

ном, коленном и голеностопном суставах. Критериями оценки рентгенографии области перелома являлись наличие и сроки формирования костной мозоли или замыкательных пластинок.

В исследовании был использован аппарат Aquilion RXL 32 (Tosiba, Япония). Для выполнения МСКТ правой нижней конечности придавалось положение разгибания в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Основными параметрами, оцениваемыми при исследовании, были: 1) площадь контакта костных отломков (%); 2) степень закрытия костномозгового канала замыкающими пластинками (%); 3) смещение костных отломков по ширине (мм).

После фиксации средней трети большеберцовой кости в 10%-м забуференном формалине осуществлялся продольный распил кости с формированием пластины, содержащей зону оперативного вмешательства, проксимальный и дистальный отделы костных отломков. Для декальцинации пластины костной ткани помещали в декальцинирующий электролитный раствор на 24 часа. После декальцинации осуществлялась стандартная гистологическая проводка образцов, имбибиция парафином и заливка в парафин. Срезы толщиной 3–5 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Исследование препаратов проводилось с помощью микроскопа Eclipse Ni-U (Nikon, Япония) при увеличении от $\times 4$ до $\times 40$. Результаты микроскопии оценивали с помощью программного обеспечения «Nis Elements» (Nikon, Япония). На снимках оценивалось тканевое представительство в пространстве между костными отломками.

Статистический анализ

Анализ данных производился с помощью статистического пакета Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Анализ различий данных в исследуемых группах производился с помощью непараметрического U критерия Манна – Уитни. Значения $p < 0,05$ рассматривали в качестве статистически значимых. Данные представлены в виде «среднее \pm стандартное отклонение».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживаемость животных в ходе эксперимента составила 100 % (18 кроликов). Осложнение отмечено в 1 случае в группе ЛСБК в виде глубокой инфекции в области хирургического доступа с формированием канально-го остеомиелита и инфицированного ложного сустава.

Данные еженедельной рентгенографии области перелома в двух проекциях свидетельствуют о том, что консолидация перелома наблюдалась только в группе ППБК и происходила в среднем на $22,8 \pm 5,1$ сутки (рис. 3а). В группе ЛСБК признаков консолидации перелома выявлено не было на протяжении всего эксперимента, однако к концу 5-й недели эксперимента (рис. 3б) у большинства животных были сформированы признаки ложного сустава (отсутствие контакта костных отломков, образование замыкательных пластинок). Динамика рентгенологической картины в экспериментальных группах представлена на рисунке 4.

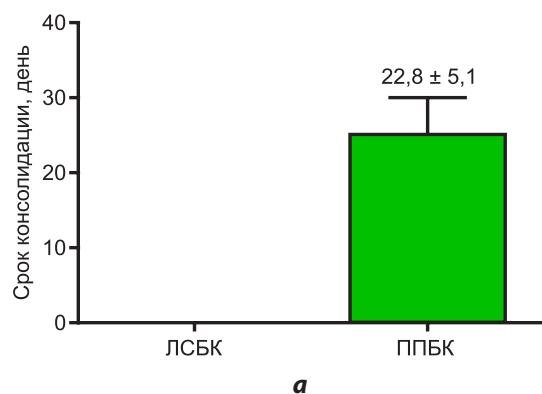


РИС. 3.

Результаты еженедельной рентгенографии: **а** – сроки появления костной мозоли; **б** – сроки появления замыкательных пластинок

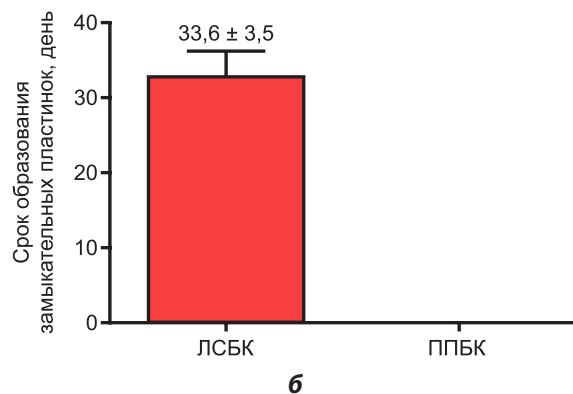


FIG. 3.

The results of weekly X-ray examination: **a** – terms of the callus formation; **б** – terms of the endplates formation

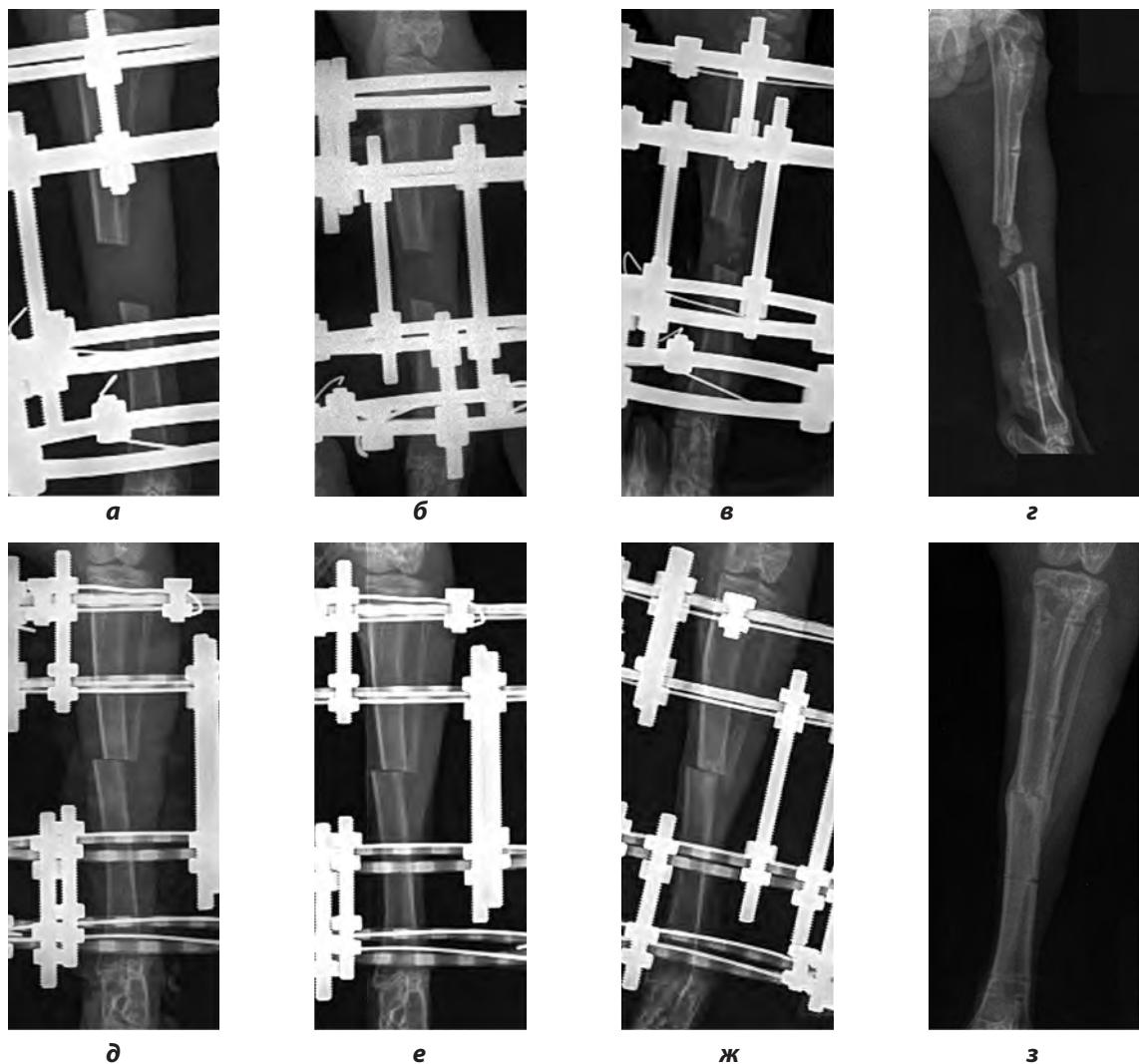


РИС. 4.

Еженедельная рентгенография репрезентативные снимки правой голени на различных сроках эксперимента: **а** – группа ЛСБК, 1-е сутки; **б** – группа ЛСБК, 14-е сутки; **в** – группа ЛСБК, 28-е сутки; **г** – группа ЛСБК, 42-е сутки; **д** – группа ППБК, 1-е сутки; **е** – группа ППБК, 14-е сутки; **ж** – группа ППБК, 28-е сутки; **з** – группа ППБК, 42-е сутки

FIG. 4.

Weekly X-ray examination, representative X-ray images of the right tibia at different stages of the experiment: **а** – group of tibial pseudarthrosis, day 1; **б** – group of tibial pseudarthrosis, day 14; **в** – group of tibial pseudarthrosis, day 28; **г** – group of tibial pseudarthrosis, day 42; **д** – group of transverse tibial fracture, day 1; **е** – group of transverse tibial fracture, day 14; **ж** – group of transverse tibial fracture, day 28; **з** – group of transverse tibial fracture, day 42

К концу 6-й недели после снятия аппарата внешней фиксации наличие ЛС в опытной группе подтверждалось положительной клинической пробой на макроподвижность между костными отломками. В группе ППБК ни у одного животного макроподвижности между костными отломками обнаружено не было.

Данные МСКТ подтверждают отсутствие контакта костных фрагментов в экспериментальной группе

(рис. 5а), в то время как у всех животных из контрольной группы регистрировались признаки периостальной костной мозоли (рис. 5б).

Средний размер костной мозоли в аксиальной плоскости составил $166,3 \pm 21,7$ % по отношению к площади поперечного сечения большеберцовой кости на уровне средней трети голени (рис. 6а). Статистически значимой разницы по величине бокового смещения между группами



a

РИС. 5.

МСКТ правой голени (6 недель), сагиттальный срез: **а** – группа ЛСБК; **б** – группа ППБК



6

FIG. 5.

*Multi-layer spiral CT of the right tibia (6 weeks), sagittal slice:
a – group of transverse tibial fracture; 6 – group of transverse tibial fracture*

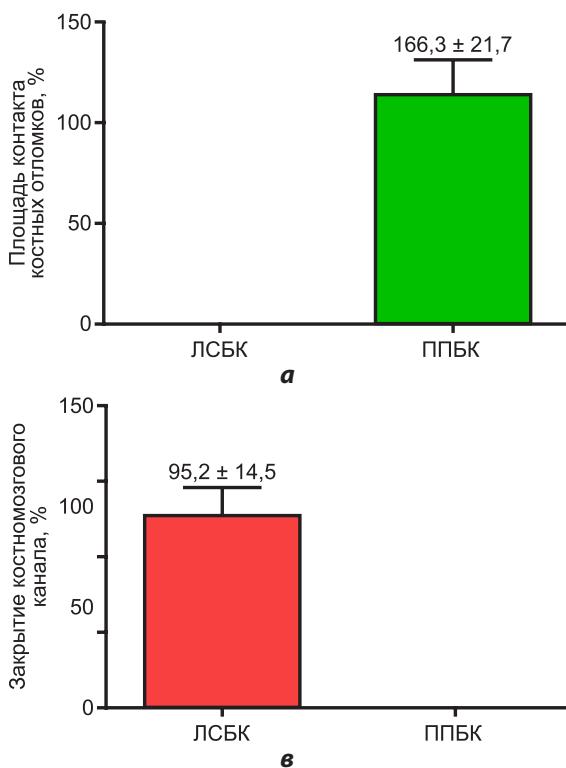


РИС. 6.

Результаты МСКТ (6 недель): **а** – площадь контакта костных отломков; **б** – смещение костных фрагментов по ширине; **в** – степень закрытия костномозговых каналов

FIG. 6

Results of multi-layer spiral CT (6 weeks): **a** – contact area of bone fragments; **b** – displacement of bone fragments in width; **c** – degree of closure of bone marrow canals

ми ЛСБК и ППБК выявлено не было ($2,8 \pm 0,8$ и $3,0 \pm 1,2$ мм соответственно) (рис. 6б). У одного животного из группы ЛСБК не был закрыт костномозговой канал дистального отломка (4,8 %), у всех остальных животных из группы ЛСБК на прилежащих к зоне дефекта костных отломках были сформированы замыкательные пластиинки (рис. 6в).

Данные гистологического исследования свидетельствуют о том, что в экспериментальной группе пространство между костными фрагментами заполнено в основном гиалиновой хрящевой и плотной волокнистой соединительной тканью, у 5 животных из группы ЛСБК присутствовала полость, заполненная эозинофильной жидкостью. У 7 животных из экспериментальной групп-

пы визуализировалась фиброзная ткань вокруг зон дефекта, в двух других случаях обнаружена гиалиновая хрящевая ткань и слабо васкуляризированная грануляционная ткань. Лишь в одном случае не было обнаружено замыкательных пластиинок по данным гистологии, но был обнаружен гнойно-некротический остеомиелит, признаки которого выявлялись также макроскопически, в виде гнойного отделяемого из интрамедуллярного канала, что соответствует картине формирования инфицированного ложного сустава.

Признаки консолидации переломов, в свою очередь, были обнаружены лишь у животных из контрольной группы. За исключением одного случая у всех животных

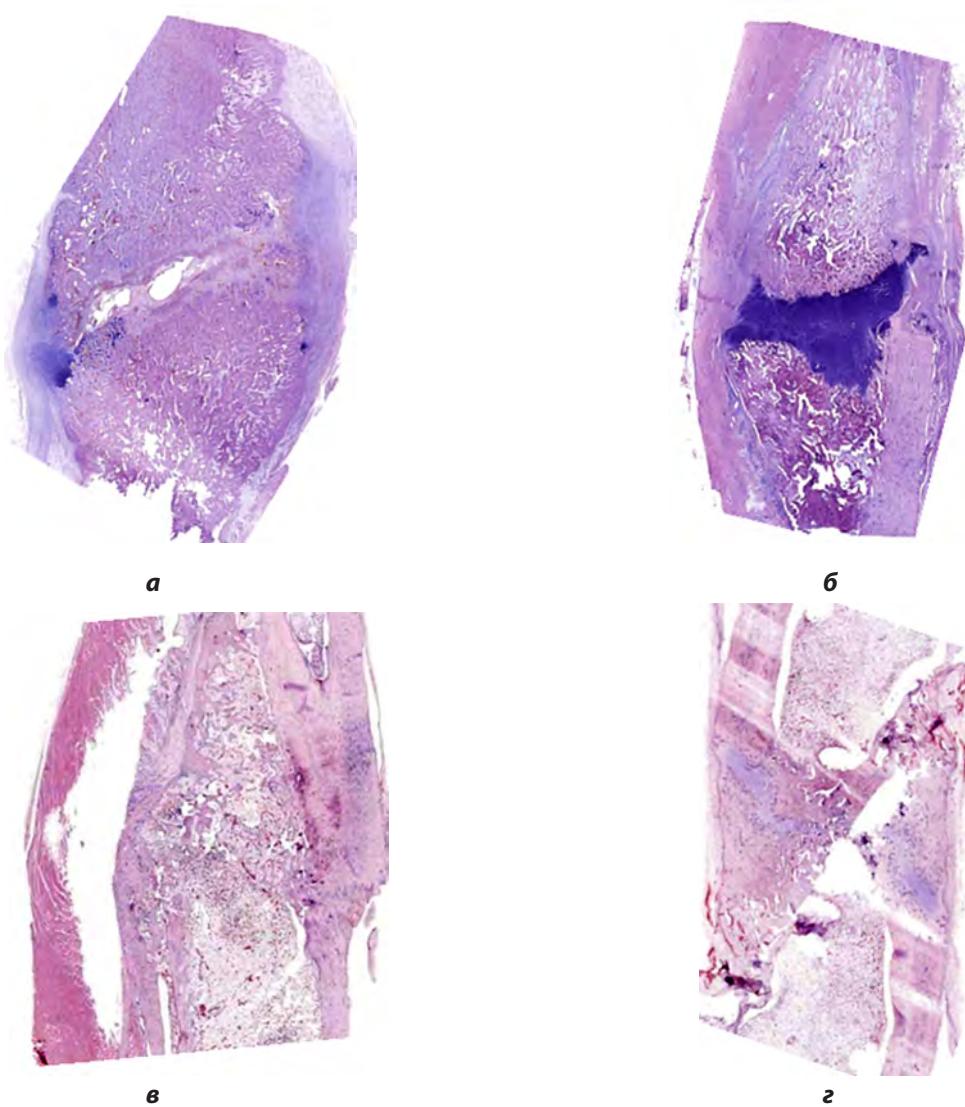


РИС. 7.

Гистотопограммы средней трети правой голени кролика в конце 6-й недели после операции (окраска гематоксилином и эозином): **а** – группа ЛСБК, между костными фрагментами полость с эозинофильной жидкостью; **б** – группа ЛСБК, между костными фрагментами гиалиновая хрящевая ткань; **в** – группа ППБК, костное сращение; **г** – группа ППБК, костное сращение, видны остаточные участки хрящевой ткани, замещающиеся костными балками

FIG. 7.

*Histotopographic images of the middle third of the right tibia at the end of 6 weeks after the surgery (hematoxylin and eosin staining): **а** – group of transverse tibial fracture, a cavity with eosinophilic fluid between bone fragments; **б** – group of transverse tibial fracture, hyaline cartilaginous tissue between bone fragments; **в** – group of transverse tibial fracture, bone union; **г** – group of transverse tibial fracture, bone union, visible residual areas of cartilaginous tissue replaced with bone rods*

выявлялась отчётичная периостальная костная мозоль в виде разрастаний губчатой ткани в области перелома.

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании данных лучевых, морфологических и клинических методов исследования разработанная модель может быть охарактеризована как нормотрофический ложный сустав: отмечается наличие умеренной макроподвижности костных отломков, отсутствие костного сращения и появление рентгенологических и гистологических изменений, характерных для ЛС (образование замыкательных пластинок на прилежащих к зоне дефекта костных отломках из умеренного разрастания губчатой костной ткани, появление фиброзной капсулы вокруг зоны дефекта). При гипертрофическом ЛС отмечается выраженное разрастание губчатой костной ткани со стороны костных фрагментов. Для получения подобного ЛС в данном эксперименте потребовалась более длительный период контролируемой дестабилизации костных фрагментов.

При выполнении эксперимента большое внимание уделялось основным патогенетическим факторам формирования ложного сустава, таким как нарушение стабильности фиксации и местное нарушение кровоснабжения костных фрагментов. Таким образом, удалось добиться моделирования именно нормотрофического ложного сустава. При этом важно отметить регенерационный потенциал костной ткани кроликов, так как местная деваскуляризация зоны перелома не привела к образованию атрофического ложного сустава (который характеризуется обеднением тканевого представительства в зоне ЛС, наличием фиброзной ткани и резорбцией костных отломков), и для его моделирования необходимы другие условия.

У части животных из группы ППБК признаки консолидации перелома отмечены в конце 3–4-й недели, что соответствует средним срокам консолидации переломов голени кролика [26–33]. В экспериментальной группе признаки ложного сустава отмечены в конце 6-й недели, что соответствует двойному сроку консолидации переломов голени кролика. Такой срок в клинической практике является одним из критерии для постановки диагноза ложного сустава при несращении перелома.

У моделей с химическим воздействием в зоне регенерации костной ткани наблюдаются характерные повреждения костных фрагментов. В то же время у моделей с интерпозицией мягких тканей нет возможности тестировать новые методики и материалы без удаления этиологического фактора (интерпонента).

В литературе удалось найти модели ЛС с наиболее схожим подходом в моделировании [1, 34], но в обоих случаях аппарат внешней фиксации оставался стабильным весь период наблюдения. Таким образом, в патогенезе отсутствует механический фактор формирования ЛС.

Большинство этиологических факторов воспроизведены при выполнении нами предложенной модели, что повышает её репрезентативность. По этой же причине созданная модель наиболее близко повторяет па-

тогенез и клиническую картину нормотрофического ЛС в клинической практике, и результаты доклинических экспериментов на данной модели с достаточно высокой достоверностью можно будет транслировать на клинические исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью создания костного дефекта, деваскуляризации области перелома и применения нестабильной фиксации создана модель нормотрофического ложного сустава, которая может быть использована для тестирования перспективных искусственных материалов и новых подходов в клинической практике.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № 122041800020-2.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявили об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kurklu M, Yurttas Y, Kose O, Demiralp B, Yuksel HY, Komurcu M. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in the treatment of atrophic tibial nonunion with Ilizarov external fixator: A radiographic and scintigraphic study in rabbits. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2012; 46(2): 126-131. doi: 10.3944/AOTT.2012.2586
2. Kullmann L, Wouters HW. Model-experiment in congenital pseudarthrosis of the leg. *Arch Orthop Unfallchir.* 1972; 73(1): 55-65. doi: 10.1007/BF00419071
3. Гюльназарова С.В., Штин В.П. *Лечение ложных суставов. Теория и практика метода дистракции.* 1992.
4. Bhandari M, Tornetta P 3rd, Sprague S, Najibi S, Petrisor B, Griffith L, et al. Predictors of reoperation following operative management of fractures of the tibial shaft. *J Orthop Trauma.* 2003; 17(5): 353-361. doi: 10.1097/00005131-200305000-00006
5. Schemitsch EH, Bhandari M, Guyatt G, DW, Swiontkowski M, Tornetta P, et al. Prognostic factors for predicting outcomes after intramedullary nailing of the tibia. *J Bone Joint Surg Am.* 2012; 94(19): 1786-1793. doi: 10.2106/JBJS.J.01418
6. Mills LA, Aitken SA, Simpson A. The risk of non-union per fracture: current myths and revised figures from a population of over 4 million adults. *Acta Orthop.* 2017; 88(4): 434-439. doi: 10.1080/17453674.2017.1321351
7. Schmidhammer R, Zandieh S, Mittermayr R, Pelinka LE, Leixnering M, Hopf R, et al. Assessment of bone union/nonunion in an experimental model using microcomputed technology. *J Trauma.* 2006; 61(1): 199-205. doi: 10.1097/01.ta.0000195987.57939.7e
8. Calori GM, Mazza EL, Mazzola S, Colombo A, Giardina F, Romano F, et al. Non-unions. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2017; 14(2): 186-188. doi: 10.11138/ccmbm/2017.14.1.186
9. Барабаш А.П., Барабаш Ю.А. *Ложные суставы.* В: Миронов А.П., Котельников Г.П. (ред.). *Ортопедия: национальное руководство;* 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013: 712-743.

10. Горидова Л.Д., Романенко К.К. Несращение плечевой кости (факторы риска). *Ортопедия, травматология и промтезирование*. 2000; (3): 72-76.
11. Bezstarosti H, Metsemakers WJ, van Lieshout EMM, Voskamp LW, Kortram K, McNally MA, et al. Management of critical-sized bone defects in the treatment of fracture-related infection: A systematic review and pooled analysis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2021; 141(7): 1215-1230. doi: 10.1007/s00402-020-03525-0
12. Ekholm EC, Hietaniemi K, Maatta A, Vuorio E, Paavolaisten P, Penttinen RP. Extended expression of cartilage components in experimental pseudoarthrosis. *Connect Tissue Res*. 1995; 31(3): 211-218. doi: 10.3109/03008209509010812
13. Лукин А.В. Ошибки и осложнения при оперативном лечении несращений костей. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 1991; (5): 127-129.
14. Hermansson L, Bodin L, Wranne L. Upper limb deficiencies in Swedish children – A comparison between a population-based and a clinic-based register. *Early Hum Dev*. 2001; 63(2): 131-144. doi: 10.1016/s0378-3782(01)00163-3
15. Wang JW, Weng LH. Treatment of distal femoral non-union with internal fixation, cortical allograft struts, and autogenous bone-grafting. *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85(3): 436-440. doi: 10.2106/00004623-200303000-00006
16. Liao JC, Chen WJ, Niu CC, Chen LH. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on spinal pseudarthrosis created by nicotine administration: A model of lumbar posterolateral pseudarthrosis in rabbits. *J Ultrasound Med*. 2015; 34(6): 1043-1050. doi: 10.7863/ultra.34.6.1043
17. Jager M, Wassenaar D, Busch A, Haversath M. Pseudarthroses. *Orthopade*. 2020; 49(6): 547-560. doi: 10.1007/s00132-020-03920-w
18. van Bastein Batenburg M, Houben IB, Blokhuis TJ. The Non-Union Scoring System: An interobserver reliability study. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2019; 45(1): 13-19. doi: 10.1007/s00068-017-0796-4
19. Calori GM, Colombo M, Mazza EL, Mazzola S, Malagoli E, Marelli N, et al. Validation of the Non-Union Scoring System in 300 long bone non-unions. *Injury*. 2014; 45(Suppl 6): S93-S97. doi: 10.1016/j.injury.2014.10.030
20. Sen MK, Miclau T. Autologous iliac crest bone graft: Should it still be the gold standard for treating nonunions? *Injury*. 2007; 38(Suppl 1): S75-S80. doi: 10.1016/j.injury.2007.02.012
21. Campana V, Milano G, Pagano E, Barba M, Ciccone C, Sainlona G, et al. Bone substitutes in orthopaedic surgery: From basic science to clinical practice. *J Mater Sci Mater Med*. 2014; 25(10): 2445-2461. doi: 10.1007/s10856-014-5240-2
22. Ahlmann E, Patzakis M, Roidis N, Shepherd L, Holtom P. Comparison of anterior and posterior iliac crest bone grafts in terms of harvest-site morbidity and functional outcomes. *J Bone Joint Surg Am*. 2002; 84(5): 716-720. doi: 10.2106/00004623-200205000-00003
23. Rokn AR, Khodadoostan MA, Reza Rasouli Ghahroudi AA, Motahhary P, Kharrazi Fard MJ, Bruyn HD, et al. Bone formation with two types of grafting materials: A histologic and histomorphometric study. *Open Dent J*. 2011; 5: 96-104. doi: 10.2174/1874-21061105010096
24. Chen J, Ashames A, Buabeid MA, Fahelelbom KM, Ijaz M, Murtaza G. Nanocomposites drug delivery systems for the healing of bone fractures. *Int J Pharm*. 2020; 585: 119477. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119477
25. Ferreira ML, Silva PC, Pereira Lde P, Franco RS, Mello NB, Amaral AC, et al. Experimental model in rats for the development of pseudoarthrosis. *Rev Col Bras Cir*. 2009; 36(6): 514-518. doi: 10.1590/s0100-69912009000600010
26. Sasai H, Fujita D, Seto E, Denda Y, Imai Y, Okamoto K, et al. Outcome of limb fracture repair in rabbits: 139 cases (2007–2015). *J Am Vet Med Assoc*. 2018; 252(4): 457-463. doi: 10.2460/javma.252.4.457
27. Rich GA. Rabbit orthopedic surgery. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2002; 5(1): 157-168, vii. doi: 10.1016/s1094-9194(03)00051-3
28. White AA 3rd, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg Am*. 1977; 59(2): 188-192.
29. Lipinsky PV, Sirotin IV, Skoroglyadov AV, Ivkovic AV, Oettinger AP, Krynetskiy EE, et al. Effects of prostaglandin E1 on callus formation in rabbits. *BMC Musculoskelet Disord*. 2015; 16: 247. doi: 10.1186/s12891-015-0695-y
30. Gumerman LW, Fogel SR, Goodman MA, Hanley EN Jr, Kappakas GS, Rutkowski R, et al. Experimental fracture healing: evaluation using radionuclide bone imaging: concise communication. *J Nucl Med*. 1978; 19(12): 1320-1323.
31. Liu X, Lyon R, Meier HT, Thometz J, Haworth ST. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. *Photomed Laser Surg*. 2007; 25(6): 487-494. doi: 10.1089/pho.2006.2075
32. Тарасова А.С., Луцай В.И., Матвеева М.В. Гистологическая оценка эффективности применения внутрикостных трофических блокад при экспериментальной остеотомии большеберцовой кости у кроликов. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2020; (1): 198-200.
33. Ахтямов И.Ф., Шакирова Ф.В., Клюшкина Ю.А., Бакланова Д.А., Гатина Э.Б., Алиев Э.О. Анализ регенеративного процесса в области перелома большеберцовой кости (экспериментальное исследование). *Травматология и ортопедия России*. 2016; 22(1): 100-107.
34. Цяо Г., Тишков Н.В., Гольдберг О.А., Лепехова С.А., Гуманенко В.В., Тихонов Е.В. Способ моделирования ложного сустава при переломе костей голени и устройство для его осуществления: Патент № 2523622 Рос. Федерация; МПК G09B 23/28 (2006.01); A61B 17/56 (2006.01). № 2013113249/14; заявл. 25.03.2013; опубл. 20.07.2014. Бюл. № 20.

REFERENCES

- Kurklu M, Yurttas Y, Kose O, Demiralp B, Yuksel HY, Komurcu M. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in the treatment of atrophic tibial nonunion with Ilizarov external fixator: A radiographic and scintigraphic study in rabbits. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2012; 46(2): 126-131. doi: 10.3944/AOTT.2012.2586
- Kullmann L, Wouters HW. Model-experiment in congenital pseudarthrosis of the leg. *Arch Orthop Unfallchir*. 1972; 73(1): 55-65. doi: 10.1007/BF00419071
- Gyulnazarova SV, Shtin VP. *Treatment of false joints. Theory and practice of the distraction method*. 1992. (In Russ.).
- Bhandari M, Tornetta P 3rd, Sprague S, Najibi S, Petrisor B, Griffith L, et al. Predictors of reoperation following operative management of fractures of the tibial shaft. *J Orthop Trauma*. 2003; 17(5): 353-361. doi: 10.1097/00005131-200305000-00006
- Schemitsch EH, Bhandari M, Guyatt G, DW, Swiontkowski M, Tornetta P, et al. Prognostic factors for predicting outcomes after intramedullary nailing of the tibia. *J Bone Joint Surg Am*. 2012; 94(19): 1786-1793. doi: 10.2106/JBJS.J.01418

6. Mills LA, Aitken SA, Simpson A. The risk of non-union per fracture: current myths and revised figures from a population of over 4 million adults. *Acta Orthop.* 2017; 88(4): 434-439. doi: 10.1080/17453674.2017.1321351
7. Schmidhammer R, Zandieh S, Mittermayr R, Pelinka LE, Leixnering M, Hopf R, et al. Assessment of bone union/nonunion in an experimental model using microcomputed technology. *J Trauma.* 2006; 61(1): 199-205. doi: 10.1097/01.ta.0000195987.57939.7e
8. Calori GM, Mazza EL, Mazzola S, Colombo A, Giardina F, Romano F, et al. Non-unions. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2017; 14(2): 186-188. doi: 10.11138/ccmbm/2017.14.1.186
9. Barabash AP, Barabash YuA. False joints. In: Mironov AP, Kotelnikov GP (eds). *Orthopedics: National guidelines*; 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2013: 712-743. (In Russ.).
10. Goridova LD, Romanenko KK. Non-union of the humerus (risk factors). *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics.* 2000; (3): 72-76. (In Russ.).
11. Bezstarosti H, Metsemakers WJ, van Lieshout EMM, Voskamp LW, Kortram K, McNally MA, et al. Management of critical-sized bone defects in the treatment of fracture-related infection: A systematic review and pooled analysis. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2021; 141(7): 1215-1230. doi: 10.1007/s00402-020-03525-0
12. Ekholm EC, Hietaniemi K, Maatta A, Vuorio E, Paavolainen P, Penttinen RP. Extended expression of cartilage components in experimental pseudoarthrosis. *Connect Tissue Res.* 1995; 31(3): 211-218. doi: 10.3109/03008209509010812
13. Lukin AV. Mistakes and complications in the surgical treatment of bone non-unions. *Grekov's Bulletin of Surgery.* 1991; (5): 127-129. (In Russ.).
14. Hermansson L, Bodin L, Wranne L. Upper limb deficiencies in Swedish children – A comparison between a population-based and a clinic-based register. *Early Hum Dev.* 2001; 63(2): 131-144. doi: 10.1016/s0378-3782(01)00163-3
15. Wang JW, Weng LH. Treatment of distal femoral non-union with internal fixation, cortical allograft struts, and autogenous bone-grafting. *J Bone Joint Surg Am.* 2003; 85(3): 436-440. doi: 10.2106/00004623-200303000-00006
16. Liao JC, Chen WJ, Niu CC, Chen LH. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on spinal pseudarthrosis created by nicotine administration: A model of lumbar posterolateral pseudarthrosis in rabbits. *J Ultrasound Med.* 2015; 34(6): 1043-1050. doi: 10.7863/ultra.34.6.1043
17. Jager M, Wassenaar D, Busch A, Haversath M. Pseudarthroses. *Orthopade.* 2020; 49(6): 547-560. doi: 10.1007/s00132-020-03920-w
18. van Basten Batenburg M, Houben IB, Blokhuis TJ. The Non-Union Scoring System: An interobserver reliability study. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2019; 45(1): 13-19. doi: 10.1007/s00068-017-0796-4
19. Calori GM, Colombo M, Mazza EL, Mazzola S, Malagoli E, Marelli N, et al. Validation of the Non-Union Scoring System in 300 long bone non-unions. *Injury.* 2014; 45(Suppl 6): S93-S97. doi: 10.1016/j.injury.2014.10.030
20. Sen MK, Michau T. Autologous iliac crest bone graft: Should it still be the gold standard for treating nonunions? *Injury.* 2007; 38(Suppl 1): S75-S80. doi: 10.1016/j.injury.2007.02.012
21. Campana V, Milano G, Pagano E, Barba M, Cicione C, Saino G, et al. Bone substitutes in orthopaedic surgery: From basic science to clinical practice. *J Mater Sci Mater Med.* 2014; 25(10): 2445-2461. doi: 10.1007/s10856-014-5240-2
22. Ahlmann E, Patzakis M, Roidis N, Shepherd L, Holtom P. Comparison of anterior and posterior iliac crest bone grafts in terms of harvest-site morbidity and functional outcomes. *J Bone Joint Surg Am.* 2002; 84(5): 716-720. doi: 10.2106/00004623-200205000-00003
23. Rokn AR, Khodadoostan MA, Reza Rasouli Ghahroodi AA, Motahhary P, Kharrazi Fard MJ, Bruyn HD, et al. Bone formation with two types of grafting materials: A histologic and histomorphometric study. *Open Dent J.* 2011; 5: 96-104. doi: 10.2174/1874210601105010096
24. Chen J, Ashames A, Buabeid MA, Fahelelbom KM, Ijaz M, Murtaza G. Nanocomposites drug delivery systems for the healing of bone fractures. *Int J Pharm.* 2020; 585: 119477. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119477
25. Ferreira ML, Silva PC, Pereira Lde P, Franco RS, Mello NB, Amaral AC, et al. Experimental model in rats for the development of pseudoarthrosis. *Rev Col Bras Cir.* 2009; 36(6): 514-518. doi: 10.1590/s0100-69912009000600010
26. Sasai H, Fujita D, Seto E, Denda Y, Imai Y, Okamoto K, et al. Outcome of limb fracture repair in rabbits: 139 cases (2007–2015). *J Am Vet Med Assoc.* 2018; 252(4): 457-463. doi: 10.2460/javma.252.4.457
27. Rich GA. Rabbit orthopedic surgery. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2002; 5(1): 157-168, vii. doi: 10.1016/s1094-9194(03)00051-3
28. White AA 3rd, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg Am.* 1977; 59(2): 188-192.
29. Lipinsky PV, Sirotin IV, Skoroglyadov AV, Ivkovich AV, Oettinger AP, Krynetskiy EE, et al. Effects of prostaglandin E1 on callus formation in rabbits. *BMC Musculoskeletal Disorders.* 2015; 16: 247. doi: 10.1186/s12891-015-0695-y
30. Gumerman LW, Fogel SR, Goodman MA, Hanley EN Jr, Kappakas GS, Rutkowski R, et al. Experimental fracture healing: evaluation using radionuclide bone imaging: concise communication. *J Nucl Med.* 1978; 19(12): 1320-1323.
31. Liu X, Lyon R, Meier HT, Thometz J, Haworth ST. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. *Photomed Laser Surg.* 2007; 25(6): 487-494. doi: 10.1089/pho.2006.2075
32. Tarasova AS, Lutsai VI, Matveeva MV. Histological evaluation of the effectiveness of intraosseous trophic blocks in experimental osteotomy of the tibia in rabbits. *Legal Regulation in Veterinary Medicine.* 2020; (1): 198-200. (In Russ.).
33. Akhtyamov IF, Shakirova FV, Klushkina YA, Baklanova DA, Gatina EB, Aliev EO. Experimental analysis of the healing process in the area of tibial bone fracture. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2016; 22(1): 100-107. (In Russ.).
34. Qiao G, Tishkov NV, Goldberg OA, Lepekhova SA, Gumanenko VV, Tikhonov EV. A method for modeling a false joint in a fracture of the lower leg bones and a device for its implementation: Patent No. 2523622 of the Russian Federation. 2014; (20). (In Russ.).

Сведения об авторах

Смирнов Сергей Сергеевич – лаборант-исследователь Центра доклинических и трансляционных исследований, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России; клинический ординатор 2-го года кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: smirnovssmd@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3210-9962>

Щепкина Елена Андреевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры травматологии и ортопедии и кафедры общеврачебной практики (семейной медицины) ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; старший научный сотрудник научного отделения лечения травм и их последствий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России, e-mail: shchepkina_elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6132-0305>

Шиленко Леонид Алексеевич – лаборант-исследователь Центра доклинических и трансляционных исследований, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России; студент 5-го курса, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: Leonidmed99@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1002-9419>

Самсоненко Егор Константинович – студент 6-го курса, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: e.samsonenko98@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3704-1549>

Аникин Никита Алексеевич – младший научный сотрудник Центра доклинических и трансляционных исследований, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: freedomofstyle@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8868-7094>

Маметов Малик Велибалаевич – студент 5-го курса, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: m_mametov@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1082-7872>

Чепурной Захар Ильич – студент 5-го курса, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: zakhar96psk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6263-9393>

Воронин Степан Евгеньевич – ветеринарный врач Центра доклинических и трансляционных исследований, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: stepan.voronin1988@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8868-7094>

Герко Марина Дмитриевна – врач-рентгенолог отделения рентгеновской компьютерной томографии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: gerko.md@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1147-3156>

Ивкин Дмитрий Юрьевич – кандидат медицинских наук, доцент, директор Центра экспериментальной фармакологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>

Карпов Андрей Александрович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией Центра доклинических и трансляционных исследований, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России; старший научный сотрудник, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, e-mail: karpov_aa@almazovcentre.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0114-5896>

Information about the authors

Sergey S. Smirnov – Laboratory Assistant at the Center for Preclinical and Translational Researches, Almazov National Medical Research Centre; 2nd year Resident Physician at the Department of Traumatology and Orthopedics, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: smirnovssmd@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3210-9962>

Elena A. Shchepkina – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Traumatology and Orthopedics and the Department of General Practice (Family Practice), Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; Senior Research Officer at the Scientific Department of the Treatment of Traumas and their Consequences, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics, e-mail: shchepkina_elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6132-0305>

Leonid A. Shilenko – Laboratory Assistant at the Center for Preclinical and Translational Researches, Almazov National Medical Research Centre; 5th year Student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: Leonidmed99@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1002-9419>

Egor K. Samsonenko – 6th year Student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: e.samsonenko98@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3704-1549>

Nikita A. Anikin – Junior Research Officer at the Center for Preclinical and Translational Researches, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: freedomofstyle@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8868-7094>

Malik V. Mamefov – 5th year Student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: m_mamefov@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1082-7872>

Zakhar I. Chepurnoy – 5th year Student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: zakhar96psk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6263-9393>

Stepan E. Voronin – Veterinarian Surgeon at the Center for Preclinical and Translational Researches, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: stepan.voronin1988@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8868-7094>

Marina D. Gerko – Radiologist at the Department of X-ray Computed Tomography, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: gerko.md@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1147-3156>

Dmitry Yu. Ivkin – Cand. Sc. (Med.), Docent, Director of the Center of Experimental Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>

Andrey A. Karпов – Cand. Sc. (Med.), Docent, Head of the Scientific Laboratory, Center for Preclinical and Translational Researches, Almazov National Medical Research Centre; Senior Research Officer, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, e-mail: karpov_aa@almazovcentre.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0114-5896>

Вклад авторов

Смирнов С.С. – планирование исследования, разработка модели, выполнение операций, ведение в послеоперационном периоде.

Щепкина Е.А. – разработка модели.

Шиленко Л.А. – выполнение операций, ведение в послеоперационном периоде.

Самсоненко Е.К. – выполнение операций, ведение в послеоперационном периоде.

Аникин Н.А. – выполнение анестезии, анализ данных.

Маметов М.В. – выполнение гистологического исследования.

Чепурной З.И. – ведение в послеоперационном периоде.

Воронин С.Е. – выполнение рентгенологического исследования.

Герко М.Д. – анализ и описание данных рентгенологического исследования, мультиспиральной компьютерной томографии.

Ивкин Д.Ю. – планирование исследования, статистический анализ данных.

Карпов А.А. – разработка модели, планирование исследования.

Формат А4 (60x84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 21.11.2022.

Подписано в печать 05.12.2022, дата выхода в свет 08.12.2022.

Печ. л. 35. Усл. печ. л. 32,55. Уч. изд. л. 26,9. Зак. 058-22. Тир. 500

Отпечатано в редакционно-издательском отделе ИНЦХТ.

Адрес типографии: 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.

Тел. (3952) 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com

