

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 8
№ 6
2023



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



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 8
№ 6
2023

Главный редактор

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

Зам. главного редактора

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

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

Сычёв Д.А., академик РАН (РФ, Москва)

Щуко А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Ответственный секретарь

Жовкля Н.А. (РФ, Иркутск)

Редакционная коллегия

Аль-Джефут М., доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)

Балахонов С.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Григорьев Е.Г., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)

Грибковский 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)

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

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

Юрьева 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); Атшбар 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); Колосов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Кривошапки 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 научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Фёдорова» Минздрава России) (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А).

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

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

Подписной индекс 243447. Свободная цена.

ISSN 2541–9420 (Print)

ISSN 2587–9596 (Online)

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

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



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 8
N 6
2023

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)

Sychev D.A., Member of RAS (Russia, Moscow)

Shchuko A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Zhovklaya N.A. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Al-Jefout M., MD, Professor (Jordan, Karak)

Balakhonov S.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Grigoryev E.G., Corresponding Member of 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)

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); Belokrinskaya 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); Krivoshepin 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 2541–9420 (Print)

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: *Acta Biomedica Scientifica*

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 6 (2023)

Колесников
Сергей Иванович

Академик РАН

Начнём с всё ещё актуальной темы – **COVID-19** – и тем, связанных с инфекциями, поскольку они не только не оставляют нас в покое, но и являются ведущими в списке фронтиров и суперфронтиров науки в 2023 году. Поскольку большинство уповают на специфическую профилактику, отметим статью международного коллектива из Испании и Иркутска (Aaromal Ajitha Sureshkumar и соавт.), оценивших отношение родителей из Индии к вакцинации своих детей. Они поддерживают вакцинацию, но их мало заботят связанные с ней возможные проблемы.

Важным направлением является **иммунопрофилактика респираторных вирусных инфекций**, которой посвящена статья А.А. Рулевой и соавт. (Санкт-Петербург), рассматривающая перспективность использования для этого «Тимоген спрея», который при применении у молодых людей в течение 10 дней способствовал увеличению продукции α -интерферона в ответ на индуцирующее воздействие вирусного патогена.

Важным направлением в оценке и прогнозе течения **COVID-19** является **оценка роли генетических факторов**, чему посвящена статья М.В. Осикова и соавт. (Челябинск), выявивших изменение частоты встречаемости отдельных полиморфизмов генов *ITGB3*, *GP1B1* и *ITGA2* (за исключением полиморфизма rs6065) при гиперреактивности тромбоцитов при COVID-19-ассоциированном поражении лёгких средней и тяжёлой степени, а также статья коллектива под руководством академика РАН Д.А. Сычева (Абдуллаев Ш.П. и соавт.), в которой не выявлена ассоциация вариантов rs11385942 и rs657152 с тяжестью течения и исходами COVID-19 у пациентов, получавших терапию фавипиравиром и ремдесивиром.

Растёт внимание к **последствиям COVID-19**, чему посвящено исследование И.А. Черевиковой и соавт. (Иркутск) по увеличению у подростков с постковидным синдромом частоты астенических состояний, нарушений внимания, высокой тревожности и выраженной депрессии, особенно на второй месяц после COVID-19.

К сожалению, нас не покидают и такие респираторные инфекции, как грипп, который исследуется Е.Д. Казанцевой и соавт. (Иркутск), показавшими статистически значимое повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , INF- α , а также С-реактивного белка, противовоспалительного цитокина IL-4 при гриппе во всех возрастных категориях подростков, но не выявивших гендерных различий.

Один вирусолог образно сказал: «часы новой пандемии тикают, просто мы не знаем, который час». Генеральный директор ВОЗ также предупредил, что новая пандемия вполне вероятна. Поэтому выявление природных **потенциально опасных очагов инфекций** – очень актуальная проблема. Есть и **потенциально опасные коронавирусы**, циркулирующие не только у рукокрылых, но и у грызунов и насекомоядных (работа Л.Н. Яшиной и соавт. (Новосибирск)). Авторы обнаружили 5 видов природных носителей 3 различных коронавирусов на территории Республики Алтай, причём выявленный от насекомоядного вирус, вероятно, относится к новому подроду *Coronaviridae*. Несколько успокаивает, что авторы выявили относительно низкую скорость эволюции этих вирусов.

Вследствие хозяйственной деятельности человека растёт ареал обитания переносчиков **клещевых инфекций**, особенно в малоизученных районах Сибири. В статье Е.К. Лагуновой и соавт. (Иркутск) дана подробная характеристика таких инфекций в буферной зоне Байкальской природной

территории. Сделан вывод о широком распространении в долине р. Чикой активных природных очагов клещевого энцефалита, болезни Лайма, клещевой возвратной лихорадки, вызываемой *B. miyamotoi*, гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека. Дополняет эту тему работа В.А. Пар и соавт. (Новосибирск, Омск, Иркутск), впервые выявивших генетическую гетерогенность популяции *R. helvetica* в *Ixodes* spp., собранных в Сибири и на Дальнем Востоке.

Тему опасных для человека инфекций продолжает исследование Л.А. Степаненко и соавт. (Иркутск, Новосибирск), где с помощью биоинформационного анализа у **штаммов *Klebsiella pneumoniae*** выявлены **CRISPR-системы**, действие которых нацелено против бактериофагов, что может содействовать разработке персонализированной фаготерапии.

Наша страна относится к числу наиболее поражённых туберкулёзом, и актуальным является прогнозирование по молекулярно-биологическим данным его лекарственной устойчивости к новым препаратам. В статье В.В. Синькова и соавт. (Иркутск) при прогнозировании устойчивости к беквамину на трёх штаммах бактерий из Якутии успешно апробирована система автоматизированной интерпретации результатов.

Одной из центральных проблем является **ожирение** как коморбидный компонент неинфекционной патологии. Коллективом под руководством академика О.Л. Барбараш (Цыганкова Д.П. и соавт., Кемерово) представлены данные трёхлетнего наблюдения большого контингента пациентов. У 30,6 % обследованных развились новые случаи ожирения по большинству показателей (кроме важного индекса висцерального ожирения). Следовательно, отдельные индексы ожирения не способны в полной мере отразить половозрастные особенности распределения жира в организме, и необходимо использовать комплекс показателей. Продолжает тему профилактики ожирения оценка фактического питания подростков, которое слабо изучено у сельских школьников, чему и посвящена статья Л.В. Рычковой и соавт. (Иркутск), выявивших недостаточную энергетическую ценность рациона, дефицит белков и жиров, макро- и микронутриентов – витаминов А, С и D, эссенциальных микроэлементов, пищевых волокон, но повышенное потребление натрия.

Тема **здоровья подростков** исследуется и в статье М.С. Неровных (Хакассия). Выявлено, что материальный достаток семьи как непосредственно, так и опосредованно может вносить вклад в изменчивость показателей высших психических функций детей, что проявляется в выборе ведущей стратегии обработки информации.

Нарушения сна – признанный фактор риска различных неинфекционных и даже инфекционных заболеваний. С.Е. Большаковой и соавт. (Иркутск) показано, что у 40,52 % из 422 опрошенных девочек-подростков города Иркутска есть проблемы со сном, что свидетельствует о важности их выявления. А вторая статья авторов из ГНЦ РФ – ИМБП РАН и Сеченовского университета (Ковров Г.В. и соавт.) описывает динамику субъективных изменений оценки качества сна у людей в условиях трёхнедельной антиортостатической гипокинезии (модель невесомости в космическом полете). Выявлено, что наиболее негативные изменения отмечались в первые 3 дня с увеличением в дальнейшем дневной сонливости.

Поскольку в настоящее время нарушения сна связываются с накоплением амилоидных белков и риском развития **нейродегенеративных заболеваний**, представляет интерес обзор В.Н. Салькова и Д.Н. Воронкова (Москва), пришедших к выводу о том, что конформационно изменённый альфасинуклеин может влиять на нейроны через взаимодействие с клетками нейроглии, а также модулировать агрегацию и экспрессию значимых для развития нейродегенерации белков.

Традиционно интересная работа представлена коллективом авторов под руководством Д.А. Сычева (Москва) по **межлекарственному взаимодействию** ривароксабана и верапамила у пациентов старше 80 лет с фибрилляцией предсердий, где принимающим ривароксабан пациентам во избе-

жание осложнений рекомендуется исследование генотипа *ABCB1* (rs4148738 и rs4148738) перед добавлением к терапии ингибитора Р-gp. Ещё одна статья по сердечно-сосудистой патологии представлена коллективом из Томска (Чумакова С.П. и соавт.). Авторы выявили, что при **ишемической кардиомиопатии** нарушается созревание сосудов в миокарде, но отсутствует реакция активации клеточных и гуморальных факторов ангиогенеза.

Мы иногда публикуем описание полезных для клиницистов клинических случаев – как, например, в статье М.В. Синицына и Н.А. Поздеевой (Чебоксары) о преимуществе коррекции при катаракте регулярного посткератопластического астигматизма высокой степени с использованием имплантации интрастромальных роговичных сегментов.

Завершить своё предисловие я бы хотел анализом **экспериментальных работ**, поступивших в журнал. Важна для понимания и лечения болевого синдрома работа наших коллег из Республики Беларусь (Ерофеева А.-М.В. и соавт.), которые на модели периферической нейропатии у крыс-самцов Wistar показали, что **блокада каннабиноидных CB₂-рецепторов** как на мембранах введённых мезенхимальных стволовых клеток, так и в зоне повреждения периферического нерва сопровождается снижением антиноцицептивного эффекта МСК и подавляет их репаративное действие. В интересной работе М.А. Дымовой и др. (Новосибирск) показано **цитотоксическое действие рекомбинантного вируса VV-GMCSF-Lact** на 3D-культуры клеток глиобластомы человека U-87 MG, что открывает возможности для разработки онколитической терапии. Работа С.Ю. Батуевой и соавт. (Улан-Удэ) посвящена поиску растительных лекарственных препаратов. При сравнении разных способов **терапии парацетамолового гепатита** в эксперименте показана перспективность применения экстракта листьев облепихи крушиновидной в сочетании с адеметионином.

Для цитирования: Колесников С.И. Предисловие главного редактора к № 6 (2023). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 5-10. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.1

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 6, 2023

Sergey I. Kolesnikov

Member of the RAS

We begin the review of the issue with the still relevant topics – **COVID-19** and other infections, since they not only do not leave us alone, but are leading the list of frontiers and superfrontiers of science in 2023. Everyone hopes for specific prevention, so we would like to mention an article by an international team from Spain and Irkutsk (Aaromal Ajitha Sureshkumar et. al.) on the attitudes assessment towards children vaccination among parents in India. Most of the parents support their children's vaccinating, but they care little about the possible problems associated with it.

Another direction is the nonspecific **prevention of respiratory viral infections**, which is the subject of the article by A.A. Ruleva et al. (Saint Petersburg) on the positive prospects for preventing with "Thymogen spray", which was used in young people for 10 days, and contributed to an increase in the production of α -interferon in response to the viral pathogen *in vitro*.

An important direction in the diagnosis and prognosis of **COVID-19** course is the assessment of the **role of genetic factors**, which is the subject of the article by M.V. Osikov et al. (Chelyabinsk), who revealed a change in the frequencies of certain *ITGB3*, *GP1B1* and *ITGA2* genes polymorphisms occurrence (with the exception of the rs6065 polymorphism) in platelet hyperreactivity in **COVID-19-associated** moderate and severe lung lesions. This subject is also covered in the article by the team of the Member of the RAS D.A. Sychev (Abdullaev Sh.P. et al.), who did not find association of rs11385942 and rs657152 variants with the severity of the course and outcomes of COVID-19 in patients treated with favipiravir and remdesivir.

More and more attention is paid **to the consequences of COVID-19**. Study by I.A. Cherevikova et al. (Irkutsk) revealed increased asthenic conditions, attention disorders, high anxiety, and severe depression in adolescents with post-COVID syndrome, especially in the second month after COVID-19.

Another respiratory infection, **influenza**, is the subject of the article by E.D. Kazantseva et al. (Irkutsk), who determined a significant increase in the level of pro-inflammatory cytokines IL1 β , IL6, IL8, TNF- α , as well as C-reactive protein, anti-inflammatory cytokine IL4 in all age categories of adolescents with influenza, but no gender differences were revealed.

One virologist said figuratively, "The clock of the new pandemic is ticking, we just don't know what time it is." And the Director-General of WHO warned that a new pandemic is quite possible. Therefore, the identification of natural **potentially dangerous foci of infections** is a very urgent problem. There are **potentially dangerous coronaviruses** circulating not only in bats, but also in rodents and insectivores, and that was shown in the work of L.N. Yashina et al. (Novosibirsk). The authors found five species of natural carriers of three different coronaviruses on the territory of the Altai Republic, and the virus identified from the insectivorous probably belongs to the new subgenus *Coronaviridae*. It is somewhat reassuring that the authors revealed a relatively low rate of evolution of these viruses.

As a result of human economic activity, the habitat of vectors of tick-borne **infections** will melt, especially in poorly studied areas of Siberia. The article by E.K. Lagunova et al. (Irkutsk) gives a detailed description of such infections in the buffer zone of the Baikal natural territory. A conclusion is made about the wide distribution of active natural foci of tick-borne encephalitis, Lyme disease, tick-borne relapsing fever caused by *B. miyamotoi*, granulocytic anaplasmosis, and human monocytic ehrlichiosis. This topic is complement-

ed by the work of V.A. Rar et al. (from several institutes of Novosibirsk, Omsk and Irkutsk) on the first time identified genetic heterogeneity of the population of *R. helvetica* in *Ixodes* spp., collected in Siberia and the Far East.

The topic of infections dangerous to humans is also discussed in the study of L.A. Stepanenko et al. (Irkutsk, Novosibirsk), in which using bioinformatics analysis, data were obtained about the **CRISPR system of *Klebsiella pneumoniae*** strains, the action of which is aimed against bacteriophages, which can contribute to the development of personalized phage therapy.

Our country is one of the most affected by **tuberculosis infection**, and it is important to predict drug resistance to new medicines based on molecular biological data. This is the subject of an article by V.V. Sinkov et al. (Irkutsk), who in predicting resistance to bedaquiline successfully tested a system of automated interpretation of results using three strains of bacteria obtained in Yakutia.

One of the central problems is **obesity as a comorbid component** of non-infectious pathology. A team lead by member of RAS O.L. Barbarash from Kemerovo (Tsygankova D.P. et al.) presented the three-year follow-up of a large contingent of patient's data. According to most indicators of obesity (except visceral obesity index), new cases of obesity developed in 30.6 % of the examined subjects. Consequently, individual indices are not able to fully reflect the gender and age characteristics of the distribution of fat in the body. Another problem is obesity prevention, and it is very important to assess the actual nutrition of adolescents. This topic is especially poorly studied in rural schoolchildren – they were the subject of the article of L.V. Rychkova et al. (Irkutsk), who revealed insufficient energy value of the diet, deficiency of proteins and fats, macro- and micronutrients (vitamins A, C and D), essential microelements, dietary fiber, but increased sodium intake.

An important topic of **adolescent health** is also explored in the article by M.S. Nerovnykh (Khakassia). It has been revealed that the financial well-being of the family, both directly and indirectly, can contribute to the variability of the indicators of the higher mental functions of children, which is manifested in the choice of the leading strategy for information processing.

Sleep disorders are another recognized risk factor for various non-communicable and even infectious diseases. Bolshakova S.E. et al. (Irkutsk) showed that 40.52 % of the surveyed 422 adolescent girls in Irkutsk had sleep problems: increased sleep latency, later bedtime, earlier awakening, reduced sleep time, as well as an increase in sleep shift. Another article by the authors from Institute of Medical and Biological Problems and Sechenov University (Kovrov G.V. et al.) describes the dynamics of subjective changes in the assessment of sleep quality in people under conditions of three-week antiorthostatic hypokinesia (a model of weightlessness in space flight). It was revealed that the most negative changes were observed in the first three days, with a further increase in daytime sleepiness.

Since sleep disorders are currently associated with the accumulation of amyloid proteins and the risk of developing **neurodegenerative diseases**, a review by V.N. Salkov and D.N. Voronkov (Moscow) is of interest. The authors concluded that conformationally altered alpha-synuclein can affect neurons through interaction with neuroglial cells, as well as modulate the aggregation and expression of proteins significant for the development of neurodegeneration.

Traditionally, an interesting work was presented by a team of authors under the guidance of D.A. Sychev (Moscow) on the **interdrug interaction** of Rivaroxaban and Verapamil in patients over 80 years of age with atrial fibrillation, where to avoid complications in patients taking rivaroxaban it is recommended to study the genotype of *ABCB1* (rs 4148738 and rs4148738) before adding to therapy a P-gp inhibitor. Another article on cardiovascular pathology was presented by a team from Tomsk (Chumakova S.P. et al.). The authors revealed that in case of **ischemic cardiomyopathy**, the maturation of vessels in the myocardium is impaired, but there is no activation of cellular and humoral factors of angiogenesis.

Our journal periodically publishes descriptions of unique clinical cases. This issue includes the article by M.V. Sinitsyn and N.A. Pozdeeva (Cheboksary)

on the advantage of combined method of regular high degree postkeratoplastic astigmatism correction with implantation of intrastromal corneal segments in a patient with cataract.

I would like to conclude my preface with an analysis of the **experimental papers** submitted to the journal. Important for the understanding and treatment of pain syndrome is the work of our colleagues from the Republic of Belarus (Erofeeva A.-M.V. et al.), who, in a model of peripheral neuropathy in Wistar male rats, showed that blockade of cannabinoid CB2-receptors both on the membranes of the injected mesenchymal stem cells and in the area of peripheral nerve injury is accompanied by a decrease in the antinociceptive effect of MSCs and suppresses their reparative effect. In the interesting work by M.A. Dymova et al. (Novosibirsk), the **cytotoxic effect of the recombinant VV-GMCSF-Lact virus** on 3D cultures of human U-87 MG glioblastoma cells was shown, which opens opportunities for the development of oncolytic therapy. Work by S.Yu. Batueva et al. (Ulan-Ude) is dedicated to the search for herbal medicines. The authors compared different methods for experimental **paracetamol hepatitis therapy**, and proved the prospects for sea buckthorn leaves extract in combination with ademethionine.

For citation: Kolesnikov S.I. Editor-in-Chief's preface to Issue 6, 2023. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 5-10. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.1

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие главного редактора к № 6 (2023). Колесников С.И.

5

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

Роль полиморфизма генов *ITGB3*, *GP1B1* и *ITGA2* в патогенезе гиперреактивности тромбоцитов при COVID-19-ассоциированном поражении лёгких средней и тяжёлой степени тяжести. Осиков М.В., Антонов В.Н., Зотов С.О.

14

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Варианты rs11385942 и rs657152 не ассоциируются с тяжестью течения и исходами COVID-19 у пациентов, получавших терапию фавипиравиром и ремдесивиром. Абдуллаев Ш.П., Денисенко Н.П., Темирбулатов И.А., Качанова А.А., Тучкова С.Н., Михайленко Е.В., Крюков А.В., Валиев Т.Т., Мирзаев К.Б., Сычев Д.А.

23

Влияние альфа-глутамил-триптофана на фоновую и индуцированную активность факторов врождённого иммунитета при профилактическом применении. Рулева А.А., Краснов А.А., Петленко С.В., Заплутанов В.А., Апрытина В.А.

31

Грипп у детей: клинические, лабораторные показатели и параметры цитокинового профиля. Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Даренская М.А., Москалева Е.В., Рычкова Л.В., Семенова Н.В.

41

КАРДИОЛОГИЯ

Особенности межлекарственного взаимодействия ривароксабана и блокаторов кальциевых каналов в зависимости от генотипа *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738)fRfpy у пациентов 80 лет и старше с неклапанной фибрилляцией предсердий. Сычев Д.А., Мирзаев К.Б., Черняева М.С., Шахгильдян Н.В., Абдуллаев Ш.П., Денисенко Н.П., Созаева Ж.А., Качанова А.А., Шастина В.Р., Горбатенкова С.В.

51

Продукция медиаторов ангиогенеза и структура сосудистой стенки в сердце при ишемической кардиомиопатии. Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Суходоло И.В., Стельмашенко А.И., Денисенко О.А., Андреев С.Л., Дёмин М.С., Чурина Е.Г.

81

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Генетическая гетерогенность популяции *Rickettsia helvetica*. Рар В.А., Иголкина Я.П., Якименко В.В., Тукунов А.Ю., Никитин А.Я., Епихина Т.И., Тукунова Н.В.

91

11

CONTENTS

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Editor-in-chief's preface to Issue 6, 2023. Kolesnikov S.I.

INTERNAL DISEASES

Role of *ITGB3*, *GP1B1*, and *ITGA2* gene polymorphisms in platelet dysfunction in patients with COVID-19-associated lung damage. Osikov M.V., Antonov V.N., Zotov S.O.

INFECTIOUS DISEASES

The rs11385942 and rs657152 variants are not associated with COVID-19 severity and outcomes in patients treated with favipiravir and remdesivir. Abdullaev Sh.P., Denisenko N.P., Temirbulatov I.A., Kachanova A.A., Tuchkova S.N., Mikhaylenko E.V., Kryukov A.V., Valiev T.T., Mirzaev K.B., Sychev D.A.

Influence of alpha-glutamyl-tryptophan on the background and induced activity of factors of adaptive immunity for prevention. Ruleva A.A., Krasnov A.A., Petlenko S.V., Zaplutanov V.A., Apryatina V.A.

Flu in children: Clinical, laboratory indicators and cytokine profile parameters. Kazantseva E.D., Petrova A.G., Darenskaya M.A., Moskaeva E.V., Rychkova L.V., Semenova N.V.

CARDIOLOGY

Features of drug-drug interactions rivaroxaban and calcium channel blockers depending on the *ABCB1* genotype (rs1045642 and rs4148738) in patients 80 years of age and older with non-valvular atrial fibrillation. Sychev D.A., Mirzaev K.B., Cherniaeva M.S., Shakhgildyan N.V., Abdullaev Sh.P., Denisenko N.P., Sozaeva Zh.A., Kachanova A.A., Shastina V.R., Gorbatenkova S.V.

Production of angiogenesis mediators and the structure of the vascular wall in the heart in ischemic cardiomyopathy. Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Sukhodolo I.V., Stelmashenko A.I., Denisenko O.A., Andreev S.L., Demin M.S., Churina E.G.

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Genetic heterogeneity of *Rickettsia helvetica* population. Rar V.A., Igolkina Ya.P., Yakimenko V.V., Tikunov A.Yu., Nikitin A.Ya., Epikhina T.I., Tikunova N.V.

Идентификация и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геномах антибиотикорезистентных штаммов <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Степаненко Л.А., Сухов Б.Г., Конькова Т.В., Бединская В.В., Клушина Н.В., Злобин В.И.	105	Identification and analysis of CRISPR/Cas systems structures in the genomes of antibiotic-resistant strains of <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Stepanenko L.A., Sukhov B.G., Kon'kova T.V., Bedinskaya V.V., Klushina N.V., Zlobin V.I.	
Коронавирусы, циркулирующие среди грызунов и насекомоядных в Республике Алтай. Яшина Л.Н., Абрамов С.А., Сметанникова Н.А., Малышев Б.С., Кривопалов А.В., Дупал Т.А.	117	Coronaviruses in rodents and insectivores in Altai Republic. Yashina L.N., Abramov S.A., Smetannikova N.A., Malyshev B.S., Krivopalov A.V., Dupal T.A.	
Онлайн-сервис для интерпретации результатов при прогнозировании устойчивости к бедаквилину по молекулярно-биологическим данным. Синьков В.В., Кондратов И.Г., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Носков А.П., Хромова П.А., Орлова Е.А., Лабыгина А.В., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И.	124	Online service for interpretation of the resistance prediction results to bedaquiline by the molecular data. Sinkov V.V., Kondratov I.G., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., Noskov A.P., Khromova P.A., Orlova E.A., Labygina A.V., Rychkova L.V., Kolesnikova L.I.	
Характеристика клещевых инфекций в малоизученных районах Забайкальского края. Лагунова Е.К., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А.	130	Characteristics of tick-borne infections in the underexplored areas of the Trans-Baikal Territory. Lagunova E.K., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A.	
МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ		MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY	
Фармакологическая блокада каннабиноидных рецепторов II типа при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической neuropathической боли. Ерофеева А.-М.В., Пинчук С.В., Рябцева С.Н., Молчанова А.Ю.	141	Pharmacological blockade of cannabinoid type II receptors and mesenchymal stem cell transplantation in a model of peripheral neuropathic pain. Yerofeyeva A.-M.V., Pinchuk S.V., Rjabceva S.N., Molchanova A.Yu.	
НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ		NEUROLOGY AND NEUROSURGERY	
Накопление агрегированного альфа-синуклеина в структурах нервной ткани при нейродегенеративных заболеваниях. Сальков В.Н., Воронков Д.Н.	153	Accumulation of aggregated alpha-synuclein in neural tissue structures in neurodegenerative diseases. Sal'kov V.N. Voronkov D.N.	
ОНКОЛОГИЯ		ONCOLOGY	
Цитотоксическое действие онколитического вируса VV-GMCSF-Lact в отношении 3D-культур клеток глиобластомы человека U-87 MG. Дымова М.А., Шнайдер Т.А., Четчикова С.А., Петров Г.О., Малышева Д.О., Дроков Д.В., Агеев А.Б., Васильева Н.С., Рихтер В.А., Кулигина Е.В.	162	Cytotoxic effect of the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus against 3D cultures of human glioblastoma cells U-87 MG. Dymova M.A., Shneider T.A., Chechetkina S.A., Petrov G.O., Malysheva D.O., Drokov D.V., Ageev A.B., Vasileva N.S., Richter V.A., Kuligina E.V.	
ОФТАЛЬМОЛОГИЯ		OPHTHALMOLOGY	
Клинический случай комбинированного способа коррекции посткератопластического астигматизма высокой степени у пациента с катарактой. Синицын М.В., Поздеева Н.А.	170	A clinical case of a combined method for correcting post-keratoplastic astigmatism of a high degree in a patient with cataract. Sinitsyn M.V., Pozdeyeva N.A.	
ПЕДИАТРИЯ		PEDIATRICS	
Attitude and awareness of Indian parents from Kerala state towards children's vaccination at the COVID-19 pandemic background. Aaromal Ajitha Sureshkumar, Novikova E.A., Abhiramy Suprasannan, Manu Krishna Maniyan Girija, Vanyarkina A.S., Moskaleva E.V., Kazantseva E.D., Petrova A.G., Rychkova L.V.	178	Отношение и осведомленность индийских родителей из штата Керала о вакцинации детей в условиях пандемии COVID-19. Ааромал Сурешкумар, Новикова Е.А., Абхирами Супрасаннан, Ману Кришна, Ваяркина А.С., Москалева Е.В., Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Рычкова Л.В.	

Особенности режима и качества сна девочек-подростков города Иркутска. *Большакова С.Е., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Храмова Е.Е., Бугун О.В., Рычкова Л.В.*

186

Prevalence of sleep disorders in teenage girls in Irkutsk (questionnaire data). *Bolshakova S.E., Madaeva I.M., Berdina O.N., Khramova E.E., Bugun O.V., Rychkova L.V.*

Оценка фактического питания сельских подростков Иркутской области в связи с пересмотром норм физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах. *Рычкова Л.В., Погодина А.В., Астахова Т.А., Лебедева Л.Н.*

194

Assessment of the actual nutrition of rural adolescents of the Irkutsk region because of revision of the norms of physiological needs for energy and nutrients. *Rychkova L.V., Pogodina A.V., Astakhova T.A., Lebedeva L.N.*

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Половозрастные особенности динамики антропометрических показателей, характеризующих ожирение (по данным проспективного эпидемиологического исследования). *Цыганкова Д.П., Баздырев Е.Д., Нахратова О.В., Центер И.М., Газиев Т.Ф., Индукаева Е.В., Артамонова Г.В., Барбараш О.Л.*

204

Sex and age specificities of the dynamics of anthropometric indicators characterizing obesity (according to a prospective epidemiological research). *Tsygankova D.P., Bazdyrev E.D., Nakhratova O.V., Tsenter I.M., Gaziev T.F., Indukaeva E.V., Artamonova G.V., Barbarash O.L.*

PREVENTIVE MEDICINE

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ

Индивидуальная изменчивость высших психических функций дошкольников в аспекте материального достатка семьи (нейропсихологический анализ). *Неровных М.С.*

212

Individual variability of higher mental functions in preschool children with regard to the material prosperity of the family (neuropsychological analysis). *Nerovnykh M.S.*

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

Оценка последствий COVID-19 у подростков методом анкетирования. *Черевикова И.А., Ткачук Е.А., Поляков В.М., Васильева Н.С., Прохорова Ж.В., Вотинева А.С., Мясичев Н.А.*

223

Assessment of consequences of COVID-19 in adolescents by the method of questionnaire. *Cherevikova I.A., Tkachuk E.A., Polyakov V.M., Vasileva N.S., Prokhorova Zh.V., Votina A.S., Myasishchev N.A.*

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Влияние комплексных схем фармакотерапии с использованием фитосредства из *Hippophae rhamnoides* на биохимические показатели крови крыс с парацетамоловым гепатитом. *Батыева С.Ю., Ламажанова Г.П., Капустина Ю.А., Роднаева О.А., Чукаев С.А.*

234

The effect of complex pharmacotherapy regimens using a herbal remedy from *Hippophae rhamnoides* on biochemical blood parameters of rats with paracetamol hepatitis. *Batueva S.Yu., Lamazhapova G.P., Kapustina Yu.A., Rodnaeva O.A., Chukaev S.A.*

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изменение паттерна нарушений сна у здоровых людей в условиях 21-суточной антиортостатической гипокинезии. *Ковров Г.В., Власова А.В., Попова О.В., Черникова А.Г.*

241

Changes in the pattern of sleep disturbances in healthy subjects under 21-day anti-orthostatic hypokinesia. *Kovrov G.V., Vlasova A.V., Popova O.V., Chernikova A.G.*

EXPERIMENTAL RESEARCHES

СПИСОК ОПЕЧАТОК

Erratum: 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

249

ERRATUM

Erratum: 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

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ INTERNAL DISEASES

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *ITGB3*, *GP1B1* И *ITGA2* В ПАТОГЕНЕЗЕ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ COVID-19-АССОЦИИРОВАННОМ ПОРАЖЕНИИ ЛЁГКИХ СРЕДНЕЙ И ТЯЖЁЛОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Осиков М.В.^{1,2},
Антонов В.Н.^{1,3},
Зотов С.О.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, Россия)

² ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» (454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 70, Россия)

³ ГАУЗ «Областная клиническая больница № 3» (454136, г. Челябинск, просп. Победы, 287, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Зотов Семён Олегович,
e-mail: semenz2007@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель работы. Исследовать агрегацию тромбоцитов, полиморфизм в генах, обеспечивающих её реализацию, и ассоциацию между данными показателями у пациентов с COVID-19 при среднем и тяжёлом течении заболевания.

Методология. В исследовании принимали участие 75 больных COVID-19, которые в зависимости от объёма поражения лёгочной паренхимы разделены на две группы в зависимости от объёма поражения паренхимы лёгких. Контрольная группа – практически здоровые люди ($n = 24$). У всех лиц исследованы количество тромбоцитов в крови и агрегация тромбоцитов, индуцированная аденозиндифосфатом (АДФ), коллагеном и ристомидином; методом полимеразной цепной реакции определяли полиморфизмы rs6065 в гене *GP1BA*, rs1126643 в гене *ITGA2*, rs5918 в гене *ITGB3*. Анализ полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics v. 23 (IBM Corp., США).

Результаты и обсуждение. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких среднего и тяжёлого течения ускоряется агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ, коллагеном, ристомидином; при тяжёлом течении снижается количество тромбоцитов. Не изменяется частота встречаемости вариантов полиморфизма rs6065, повышается частота встречаемости генотипа Т/С полиморфизма rs5918; при средней тяжести повышается частота встречаемости генотипов С/Т и Т/Т полиморфизма rs1126643; при тяжёлом поражении лёгких повышается частота встречаемости мутантного генотипа С/С полиморфизма rs5918. При поражении лёгких средней степени тяжести наличие мутантного варианта Т/Т полиморфизма rs1126643 ускоряет коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов; при тяжёлой степени тяжести наличие мутантного С/С и гетерозиготного С/Т вариантов полиморфизма rs5918 ускоряет АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Не выявлено влияния полиморфизма rs6065 на агрегацию тромбоцитов. Полученные данные указывают на возможную роль генетической предрасположенности в активации агрегации тромбоцитов у больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких.

Ключевые слова: COVID-19, тромбоциты, агрегация, полиморфизм, *GP1BA*, *ITGA2*, *ITGB3*

Статья поступила: 30.03.2023

Статья принята: 17.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Осиков М.В., Антонов В.Н., Зотов С.О. Роль полиморфизма генов *ITGB3*, *GP1B1* и *ITGA2* в патогенезе гиперреактивности тромбоцитов при COVID-19-ассоциированном поражении лёгких средней и тяжёлой степени тяжести. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 14-22. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.2

ROLE OF *ITGB3*, *GP1B1*, AND *ITGA2* GENE POLYMORPHISMS IN PLATELET DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH COVID-19-ASSOCIATED LUNG DAMAGE

Osikov M.V.^{1,2},
Antonov V.N.^{1,3},
Zotov S.O.^{1,3}

¹ South Ural State Medical University
(Vorovskogo str. 64, Chelyabinsk 454048,
Russian Federation)

² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital
(Vorovskogo str. 70, Chelyabinsk 454048,
Russian Federation)

³ Regional Clinical Hospital No. 3
(Pobedy Ave. 271, Chelyabinsk 454136,
Russian Federation)

Corresponding author:

Semen O. Zotov,
e-mail: semenz2007@yandex.ru

ABSTRACT

The aim of the work. To investigate platelet aggregation, polymorphism in the genes that ensure its implementation, and the association between these indicators in patients with COVID-19-associated lung damage, depending on the severity of the clinical course.

Methodology. The study involved 75 patients with COVID-19, which, depending on the severity of lung involvement, were divided into two groups: patients with damage of up to 50 % of the lung parenchyma ($n = 48$) and with damage of more than 50 % ($n = 27$) respectively. The control group consisted of healthy people ($n = 24$), comparable in sex and age. In all individuals, the number of platelets, platelet aggregation induced by ADP, collagen and ristomycin were studied; polymorphisms rs6065 in the *GP1BA* gene, rs1126643 in the *ITGA2* gene, and rs5918 in the *ITGB3* gene were determined by polymerase chain reaction. The analysis of the obtained data was executed using the IBM SPSS Statistics v. 23 (IMB Corp., USA).

Results and discussion. In patients with moderate and severe COVID-19-associated lung damage, platelet aggregation induced by ADP, collagen, and ristomycin accelerated; in severe cases, the number of platelets decreased. The frequency of variants of the rs6065 polymorphism did not change, the frequency of occurrence of the T/C genotype of the rs5918 polymorphism increased; with moderate severity, the frequency of occurrence of the C/T and T/T genotypes of the rs1126643 polymorphism increased; with severe lung damage, the frequency of occurrence of the mutant C/C genotype polymorphism rs5918 increased. In moderate lung damage, the presence of the mutant T/T polymorphism rs1126643 accelerated collagen-induced platelet aggregation; in severe cases, the presence of mutant C/C and heterozygous variant C/T polymorphism rs5918 accelerated ADP-induced platelet aggregation. There was no effect of the rs6065 polymorphism on platelet aggregation. The data obtained indicate the possible role of genetic predisposition in the activation of platelet aggregation in patients with COVID-19-associated lung damage.

Key words: COVID-19, platelets, aggregation, polymorphism, *GP1BA*, *ITGA2*, *ITGB3*

Received: 30.03.2023
Accepted: 17.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Osikov M.V., Antonov V.N., Zotov S.O. Role of *ITGB3*, *GP1B1*, and *ITGA2* gene polymorphisms in platelet dysfunction in patients with COVID-19-associated lung damage. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 14-22. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.2

ВВЕДЕНИЕ

Изменения гемостаза, приводящие к тромботическим осложнениям, характерны для госпитализированных пациентов с COVID-19 (coronavirus disease 2019). Учитывая, что тромбоциты – ключевые участники и регуляторы тромбообразования и воспаления, они являются важным источником медиаторов в патогенезе COVID-19 [1, 2]. У пациентов с COVID-19-ассоциированным повреждением лёгких повышен риск тромботических осложнений и смертности, в том числе благодаря гиперреактивности тромбоцитов [3–5]. Тромбоциты участвуют в патогенезе COVID-19 разными путями. SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) инфицирует мегакариоциты костного мозга; показано присутствие вирионов в тромбоцитах периферической крови, что напрямую усиливает их агрегационную способность [6]. Доказано, что маркеры активности тромбоцитов (размер тромбоцитов и их зрелость) в значительной степени связаны как с тяжестью заболевания, так и со смертностью, даже с учётом наличия сопутствующих заболеваний, приёма лекарств и других лабораторных показателей, включая биомаркеры воспаления и тромбоза (например, D-димер). Исследование тромбоцитов у пациентов с COVID-19 продемонстрировало активацию метаболических процессов, включая окислительное фосфорилирование и гликолиз, что усиливает их агрегацию [7]. Многочисленные пути активации тромбоцитов иницируют и поддерживают образование тромбов. Тромбоциты, выделенные от больных с COVID-19, показывают большую степень агрегации с различными агонистами (аденозинтрифосфат, адреналин, коллаген, ристомин), что может быть обусловлено, в том числе, генетическими факторами [8–10]. В ограниченном количестве исследований изучалось влияние отдельных протромботических факторов риска – как генетических, так и приобретённых – на тяжесть COVID-19.

Среди генетических факторов указан полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1) 4G/5G: обнаружено, что он усиливает тромбоз-опосредованный остеонекроз после перенесённой инфекции COVID-19. Описана сильная корреляция между наличием полиморфизма C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) и тяжестью течения COVID-19 [11]. Однако сложность клинического течения и основных осложнений, наблюдаемых у пациентов с тяжёлой формой COVID-19, предполагает, что в патогенез COVID-19 может быть вовлечён ряд других генетических факторов риска. Этим обусловлена актуальность исследований генов белков, участвующих в гемостазе и сердечно-сосудистых осложнениях у пациентов с COVID-19. К таким генам относятся, в том числе, *GP1BA* (glycoprotein Ib-alpha), *ITGB3* (integrin beta 3) и *ITGA2* (integrin alpha 2), которые опосредуют запуск различных механизмов активации тромбоцитов. Связь названных генов с повышенной активацией тромбоцитов индукторами агрегации у больных COVID-19 систематически не исследовалась. Высокая частота тромботических осложнений при тяжёлых формах COVID-19-ассоциированного поражения лёгких

может быть связана с гиперреактивностью тромбоцитов в условиях наследственной предрасположенности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ агрегации тромбоцитов и полиморфизмов в генах, обеспечивающих её реализацию у пациентов с COVID-19-ассоциированным повреждением лёгких, в зависимости от тяжести клинического течения

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 75 больных (44 женщины и 31 мужчина) в возрасте от 44 до 75 лет с COVID-19, госпитализированных в ГАУЗ «Областная клиническая больница № 3» г. Челябинска, не принимавших препараты, влияющие на функцию тромбоцитов, перед госпитализацией и не родственных между собой. В контрольную группу вошли 24 клинически здоровых добровольца (группа 1), сопоставимых по полу и возрасту с больными COVID-19 и не родственных между собой. В зависимости от объёма поражения лёгких больные с COVID-19 поделены на группы: группа 2 с поражением до 50 % – средняя степень тяжести ($n = 48$); группа 3 с поражением более 50 % – тяжёлая степень тяжести ($n = 27$), – в соответствии с методическими рекомендациями Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» [12]. Критериями включения в группы 2 и 3 было наличие COVID-19, подтверждённое обнаружением на слизистых оболочках зева и носовой полости РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (РелБест РНК SARS-CoV-2; АО «Вектор Бест», Россия). Критериями исключения являлись: наличие ранее выявленных онкологических заболеваний, хронических заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной систем и органов желудочно-кишечного тракта; крайне тяжёлое течение сочетанной патологии, требующее госпитализации пациента в отделение реанимации и интенсивной терапии; наличие у пациента артериальной гипертензии 2-й степени и выше; индекс массы тела более 30 кг/м²; анемия. Всеми пациентами подписано информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 4 от 24.05.2021). У всех пациентов методом мультиспиральной компьютерной томографии грудной клетки (SOMATOM Definition AS 64; Siemens, Германия) выявлено двустороннее поражение лёгких, соответствующее патогномичным изменениям при COVID-19: диффузное уплотнение лёгочной ткани по типу «матового стекла» и консолидации в сочетании с ретикулярными изменениями.

Забор крови осуществлялся на 1-е сутки поступления больного в стационар. Стандартная тромбопрофилактика нефракционированным гепарином начиналась после забора крови на исследование. Помимо антикоагулянт-

ной терапии, больные получали стандартную терапию противовирусными препаратами и глюкокортикостероидами, антибактериальную терапию, согласно временным методическим рекомендациям Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 15 от 22.02.2022.

Количество тромбоцитов в крови подсчитывали по методу Фонио. Агрегацию тромбоцитов оценивали на лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «АЛАТ-2» (БИОЛА, Россия), в качестве индукторов использовали аденозиндифосфат (АДФ; 2,5 ммоль/мл), коллаген (3,3 мкг/мл), ристомидин (7,5 мг/мл) (ООО «Технология Стандарт», Россия), учитывали количество единиц агрегатов среднего размера в минуту (ед./мин), за единственный радиус принимался средний радиус тромбоцитов до начала агрегации.

Генетические исследования проводились с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (Roche LightCycler 96; Roche Molecular Systems, США), материал – буккальный соскоб эпителия. Использовали наборы реагентов для выявления полиморфизмов в генах «SNP-экспресс-кардиогенетика» (НПФ «Литех», Россия). Определяли следующие полиморфизмы: rs6065 (Thr145Met) в гене *GP1BA*, rs1126643 (Phe253Phe) в гене *ITGA2*, rs5918 (Leu33Pro) в гене *ITGB3*. Результаты представляли в виде гомозиготного немутантного варианта: C/C – для полиморфизмов rs6065 и rs1126643, T/T – для полиморфизма rs5918; гетерозиготного варианта: C/T – для rs6065 и rs1126643, T/C – для rs5918; гомозиготного мутантного варианта: T/T – для rs6065 и rs1126643, C/C – для rs5918.

Статистическая обработка проведена с использованием IBM SPSS Statistics v. 23 (IBM Corp., США), Характеристика выборок представлена в формате Me (Q_{25} – Q_{75}), где Me – медиана; Q_{25} и Q_{75} – значения нижнего и верхнего квартилей соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев Манна – Уитни. При сравнении долей (процентов) использовался точный критерий Фишера. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$. Частота аллелей оценивались по методу подсчёта гена, а критерий χ^2 был использован для выявления отклонений от равновесия Харди – Вайнберга.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание тромбоцитов в крови у больных с поражением лёгких средней степени тяжести в ходе исследования статистически значимо не менялось. В группе 2 отмечено статистически значимое ускорение АДФ-, коллаген- и ристомидин-индуцированной агрегации тромбоцитов соответственно на 9 % ($p = 0,038$), 23 % ($p = 0,027$) и 8 % ($p = 0,042$) по медиане относительно группы контроля. У больных с тяжёлой степенью поражения лёгочной ткани количество тромбоцитов в крови относительно контрольной группы статистически значи-

мо ниже на 37 % ($p = 0,002$) по медиане. В группе 3 отмечено статистически значимое ускорение индуцированной АДФ, коллагеном и ристомидином агрегации тромбоцитов на 21 % ($p = 0,024$), 38 % ($p = 0,003$) и 16 % ($p = 0,019$) соответственно относительно контрольной группы. По сравнению с группой больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких средней степени тяжести количество в крови тромбоцитов меньше на 30 % ($p = 0,007$), индуцированная АДФ, коллагеном и ристомидином агрегация тромбоцитов ускоряется соответственно на 16 % ($p = 0,011$), 24 % ($p = 0,004$) и 10 % ($p = 0,009$) по медиане (рис. 1).

Распределение частот генотипов генов *ITGA2*, *GP1BA* и *ITGB3* соответствовало ожидаемому равновесию Харди – Вайнберга как в группе контроля ($p = 0,51$, $p = 0,95$ и $p = 0,81$ соответственно), так и в группе пациентов с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких средней степени тяжести ($p = 0,50$, $p = 0,87$ и $p = 0,82$ соответственно). Комбинация двух мутаций у одного человека выявлена у 5 (21 %) человек из группы контроля и у 13 (27 %) человек из группы 2. Комбинация трёх мутаций одновременно выявлена у 1 (4,8 %) человека из группы контроля и у 4 (8,3 %) человека из группы 2. В группе пациентов с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких средней степени тяжести в гене *ITGB3* статистически значимо чаще по сравнению с контролем встречается аллель С полиморфизма rs5918 и, соответственно, реже – аллель Т ($p = 0,009$). В группе 2 по сравнению с контрольной группой отмечена меньшая частота ($p = 0,012$) встречаемости T/T варианта полиморфного локуса rs5918 гена *ITGB3* – 64,5 % наблюдений, большая частота ($p = 0,007$) – T/C варианта (29,2 % наблюдений), частота встречаемости варианта C/C статистически значимо не меняется. В группе 2 при анализе встречаемости частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs6065 в гене *GP1BA*, в том числе мутантного варианта C/C, не выявлено статистически значимых различий с группой 1. При анализе частоты встречаемости полиморфизма rs1126643 в гене *ITGA2* выявлено, что аллель С встречается реже ($p = 0,022$), а аллель Т – чаще ($p = 0,014$), чем соответствующие аллели в группе контроля. Вариант C/C этого полиморфизма встречается в 39,6 % наблюдений – статистически значимо реже ($p = 0,002$), чем в группе контроля; варианты C/T и T/T обнаружены у 43,8 % и 16,6 % наблюдений соответственно, что чаще ($p = 0,031$ и $p = 0,042$ соответственно) встречаемости аналогичных вариантов в группе контроля (табл. 1).

В группе 3 распределение частот генотипов генов *ITGA2*, *GP1BA* и *ITGB3* соответствовало ожидаемому равновесию Харди – Вайнберга ($p = 0,47$, $p = 0,82$ и $p = 0,71$ соответственно). Комбинация двух мутаций одновременно выявлена у 6 (22,2 %) человек, трёх мутаций одновременно – у 3 (11 %) человек. При анализе полиморфизма rs5918 гена *ITGB3* статистически значимо чаще встречается аллель С и, соответственно, реже – аллель Т как по сравнению с контролем, так и при сравнении с группой 2 (табл. 1). В группе 3 частота встречаемости T/T варианта полиморфного локуса rs5918 гена *ITGB3* – 51,9 %, что статистически значимо меньше, чем в группах 1 и 2 ($p = 0,030$).

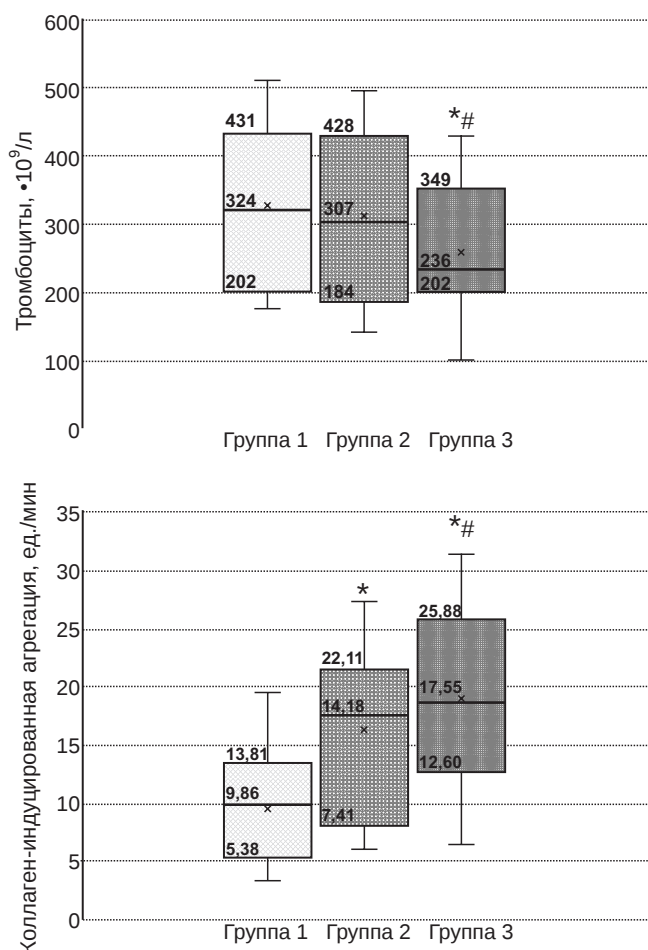


РИС. 1.

Количество в крови тромбоцитов и скорость их агрегации при COVID-19-ассоциированном поражении лёгких в зависимости от тяжести заболевания: — — медиана; □ — 25-й–75-й процентилю; × — среднее арифметическое; * — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1; # — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 2

и $p = 0,038$ соответственно), при этом Т/С вариант обнаружен в 29,6 % наблюдений, что статистически значимо больше, чем в группе контроля, но не отличается от значений группы 2. Частота встречаемости мутантного варианта С/С статистически значимо больше ($p = 0,043$) в этой группе по сравнению с контролем и группой 2 и составляет 18,5 %. При анализе частоты распределения аллелей и генотипов полиморфного локуса rs6065 в гене *GP1BA* в группе 3 не выявлено статистически значимых различий с группой контроля и с группой 2. При анализе частоты встречаемости полиморфизма rs1126643 в гене *ITGA2* различий с группой контроля не выявлено, но обнаружено, что аллель С встречается чаще, а аллель Т — реже, чем соответствующие аллели в группе 2. При этом вариант С/С полиморфизма rs1126643 встречается у 59,3 % наблюдений, что не отличается от группы контроля, но статистически значимо чаще, чем в группе 2 ($p = 0,024$); вариант С/Т обнаружен у 29,6 % наблюдений, что реже ($p = 0,033$) встречается аналогичного варианта в группе 2 и статистически значимо не отличается от группы контроля; вари-

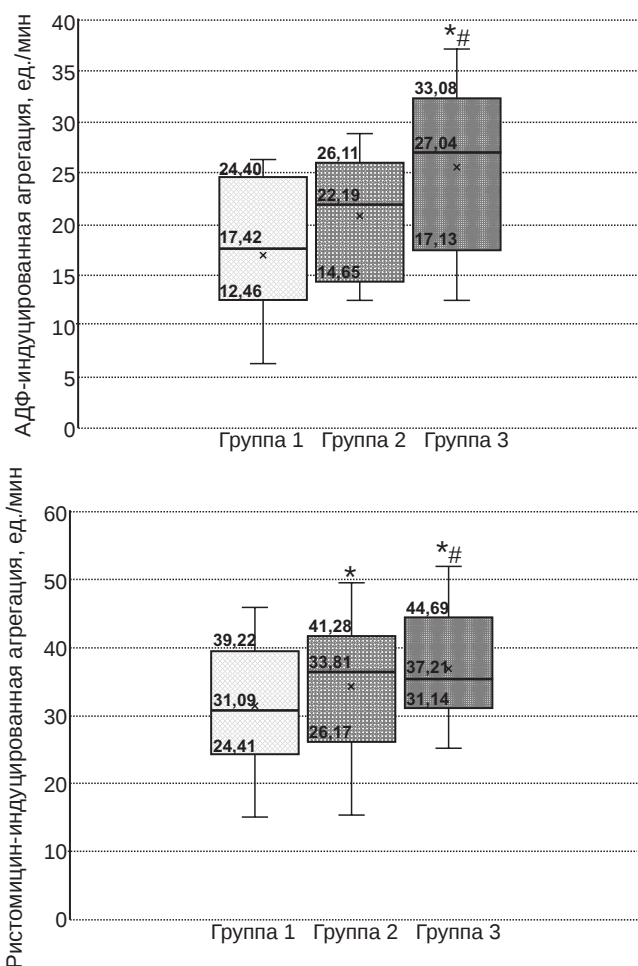


FIG. 1.

Platelet blood count and their aggregation rate in COVID-19-associated lung damage depending on the severity of the disease. — — median; □ — 25th–75th percentiles; × — arithmetic mean; * — statistically significant ($p < 0.05$) differences with group 1; # — statistically significant ($p < 0.05$) differences with group 2

ант Т/Т наблюдается в 11,1 % случаев, что статистически не значимо при сравнении с группами 1 и 2.

В ходе анализа агрегации тромбоцитов в группе 2 в зависимости от полиморфизма rs1126643 гена *ITGA2* отмечено, что при мутантном варианте Т/Т ускоряется коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов — на 31 % ($p = 0,011$) и 23 % ($p = 0,019$) по сравнению с вариантами С/С и С/Т соответственно. Статистический анализ не выявил различий в индуцированной агрегации тромбоцитов в этой группе в зависимости от полиморфизмов генов *ITGB3* и *ITGA2* (табл. 2).

В результате анализа агрегации тромбоцитов в группе 3 при наличии полиморфизма rs5918 гена *ITGB3* замечено, что при варианте Т/С наблюдается статистически значимое ускорение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 13 % ($p = 0,022$) по сравнению с вариантом Т/Т. При варианте С/С АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов ускоряется на 18 % ($p = 0,017$) по сравнению с вариантом Т/Т и не изменяется по сравнению с вариантом Т/С. Статистический анализ не выявил статистически

ТАБЛИЦА 1
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНОТИПОВ ПРИ АНАЛИЗЕ
ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *ITGB3*, *GP1B1* И *ITGA2*
ПРИ COVID-19-АССОЦИИРОВАННОМ ПОРАЖЕНИИ
ЛЁГКИХ, МЕ (Q25; Q75)

TABLE 1
FREQUENCY OF OCCURRENCE OF GENOTYPES
IN THE ANALYSIS OF *ITGB3*, *GP1B1*, AND *ITGA2* GENE
POLYMORPHISMS IN COVID-19-ASSOCIATED LUNG
DAMAGE, ME (Q25; Q75)

Полиморфизмы	Генотипы/аллели	Частота генотипа		
		Группа 1 (n = 24)	Группа 2 (n = 48)	Группа 3 (n = 27)
rs5918 в гене <i>ITGB3</i>	генотипы	0 (T/T)	19 (79,0 %)	31 (64,5 %)*
		I (T/C)	4 (16,7 %)	14 (29,2 %)*
		II (C/C)	1 (4,3 %)	5 (18,5 %)*; #
	аллели	T	87,3 %	66,7 %*; #
		C	12,7 %	33,3 %*; #
rs6065 в гене <i>GP1BA</i>	генотипы	0 (C/C)	20 (83,4 %)	22 (81,4 %)
		I (C/T)	4 (16,6 %)	5 (18,6 %)
		II (T/T)	0	0
	аллели	C	91,7 %	90,7 %
		T	8,3 %	9,3 %
rs1126643 в гене <i>ITGA2</i>	генотипы	0 (C/C)	16 (66,7 %)	19 (39,6 %)*
		I (C/T)	6 (25,0 %)	21 (43,8 %)*
		II (T/T)	2 (8,3 %)	8 (16,6 %)*
	аллели	C	79,2 %	61,5 %*
		T	20,8 %	38,5 %*

Примечание. * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 2; 0 – гомозиготный немутантный вариант; I – гетерозиготный вариант; II – гомозиготный мутантный вариант.

ТАБЛИЦА 2
СКОРОСТЬ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ
ПРИ COVID-19-АССОЦИИРОВАННОМ ПОРАЖЕНИИ
ЛЁГКИХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ
***ITGB3*, *GP1B1* И *ITGA2*, МЕ (Q25; Q75)**

TABLE 2
THE RATE OF PLATELET AGGREGATION
IN COVID-19-ASSOCIATED LUNG DAMAGE DEPENDING
ON POLYMORPHISMS OF *ITGB3*, *GP1B1* AND *ITGA2* GENES,
ME (Q25; Q75)

Полиморфизмы	Генотипы	Группа 2 (n = 48)	Группа 3 (n = 27)
АДФ-индуцированная агрегация (ед./мин)			
rs5918 в гене <i>ITGB3</i>	0 (T/T)	19,84 (14,45; 23,32)	20,19 (17,11; 23,17)
	I (T/C)	20,71 (15,81; 25,02)	23,19 (17,31; 25,72)*
	II (C/C)	21,22 (18,35; 24,11)	24,74 (16,91; 28,12)*
Ристомин-индуцированная агрегация (ед./мин)			
rs6065 в гене <i>GP1BA</i>	0 (C/C)	33,72 (26,17; 39,03)	38,58 (31,14; 44,69)
	I (C/T)	34,06 (28,44; 40,28)	36,41 (32,78; 39,90)
	II (T/T)	27,18	–
Коллаген-индуцированная агрегация (ед./мин)			
rs1126643 в гене <i>ITGA2</i>	0 (C/C)	13,17 (7,31; 19,63)	17,17 (12,60; 24,11)
	I (C/T)	14,02 (8,67; 24,15)	18,24 (13,41; 22,58)
	II (T/T)	17,25 (9,42; 22,14)*; #	16,22 (13,01; 19,28)

Примечание. * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с гомозиготным немутантным вариантом внутри группы; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с гетерозиготным вариантом внутри группы; 0 – гомозиготный немутантный вариант; I – гетерозиготный вариант; II – гомозиготный мутантный вариант.

значимых связей других исследованных генотипов генов *ITGB3* и *ITGA2* с агрегацией тромбоцитов в группе 3. В ходе исследования не выявлено влияния полиморфизма rs6065 гена *GP1BA* на агрегационную способность тромбоцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Снижение количества тромбоцитов у больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких наблюдается в 58–95 % случаев и может быть связано с множеством факторов. Тромбоцитопения на ранних стадиях COVID-19, как правило, обусловлена разрушением тромбоцитов и усилением потребления, однако на поздних стадиях заболевания может наблюдаться уменьшение их продукции [9]. Ранее была продемонстрирована связь между количеством тромбоцитов в крови, тяжестью течения заболевания и повышенным риском летального исхода госпитализированных пациентов с COVID-19 [13]. При COVID-19 активация тромбоцитов осуществляется воспалительными медиаторами, комплексами антиген – антитело, повреждённым эндотелием. Активированные таким образом тромбоциты выводятся из кровотока мононуклеарными фагоцитами. Вирус SARS-CoV-2 способен ингибировать тромбоцитопозз за счёт прямого взаимодействия с мегакариоцитами, а также обладает прямым действием на тромбоцит за счёт связывания с ACE2-рецепторами, что вызывает эскалацию окислительного стресса в тромбоцитах, их повышенное потребление, нарушение тромбоцитопоза в костном мозге запуск и аутоиммунных реакций [14]. Продукты разрушенных вирусом SARS-CoV-2 клеток (в первую очередь эндотелиоцитов) могут являться ещё одной причиной ускорения агрегации тромбоцитов, что в свою очередь приводит к тромбообразованию и тромбоцитопении. Другими факторами, оказывающими заметное влияние на агрегационную активность тромбоцитов, являются индивидуальные особенности генотипа, в том числе полиморфизмы генов *GP1BA*, *ITGA2* и *ITGB3*.

Ген *GP1BA* кодирует α -субъединицу гликопротеина Ib, участвующую в образовании тромбоцитарного рецептора GpIb/IX/V. Основным лигандом рецептора является фактор Виллебранда (vWF), связывающий тромбоциты с участком повреждённого сосуда [15]. Сила образующейся между ними связи во многом зависит от конфигурации рецептора, структуры vWF и скорости потока крови. Полиморфизм rs6065 гена *GP1BA* связан с заменой цитозина (C) на тимидин (T) вблизи старта транскрипции гена, что приводит к замене аминокислоты треонин на метионин в участке рецептора, отвечающем за связывание с vWF. В результате у носителей генотипа C/C концентрация гликопротеина Ib на мембране тромбоцитов выше, чем у лиц с другими вариантами генотипа. При мутантной гомозиготной форме T/T (частота в популяции около 1,5 %) резко повышаются риски тромбообразования. При гетерозиготном варианте C/T экспрессия рецепторов GpIb/IX/V на тромбоцитах не так сильно выражена, однако в некоторых исследованиях выяв-

лен повышенный риск тромбообразования у носителей этого варианта гена [16]. В ряде исследований показано, что носители аллеля C имеют повышенный риск коронарного тромбоза, ишемического инсульта и снижения возраста его наступления [17].

В представленном исследовании не получено данных, указывающих на влияние полиморфизма rs6065 гена *GP1BA* на ускорение, в том числе ристомин-индуцированной агрегации тромбоцитов, отражающей взаимодействие vWF с рецептором GpIb. Возможное объяснение – это отсутствие в исследуемой популяции значительного количества носителей гомозиготного мутантного варианта гена T/T и немногочисленность выборки. Кроме того, в связывании vWF с GpIb тромбоцитов имеет место эффект кооперативности: в формировании комплекса с коллагеном участвуют гликопротеины IX и V, чья структура и функция могут оставаться интактными. Кроме этого, в большей степени рецептор GpIb/IX/V служит для адгезии тромбоцитов, его роль в агрегации выражена в меньшей степени [18]. Таким образом, ускорение ристомин-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких нельзя объяснить полиморфизмом rs6065 гена *GP1BA*, и, вероятно, оно обусловлено другими генетическими и негенетическими факторами.

Ген *ITGB3* регулирует синтез мембранного белка интегрин β -3, участвующего во взаимодействии между тромбоцитами. Интегрин β -3 является компонентом гликопротеина IIb/IIIa и распознаёт специфическую аминокислотную последовательность глицин – пролин – аргинин в широком спектре лигандов, включая протромбин, фибриноген, плазминоген, vWF. Интегрин β -3 является гетеродимером, состоящим из нековалентно связанных субъединиц α и β . Эти субъединицы имеют большую внеклеточную часть, трансмембранную часть и короткую цитоплазматическую часть [19]. Полиморфизм rs5918 гена *ITGB3* вызван заменой нуклеотида тимина (T) на цитозин (C) в определённом участке ДНК, из-за чего происходит замена аминокислоты лейцин на пролин в 33-м положении белковой цепи и возникает нарушение трёхмерной структуры рецептора. Нарушение структуры рецептора в свою очередь приводит к повышению реактивности тромбоцитов и способствует усилению их тромбогенности [20, 21]. У лиц с вариантом C/C этого полиморфизма повышается склонность к агрегации тромбоцитов и, соответственно, риск тромбообразования [22]. Предполагается, что влияние полиморфизма rs5918 на характеристики тромбоцитов наблюдается только для гомозигот по аллелю C [23].

Связь полиморфизма rs5918 гена *ITGB3* с возникновением тромботических событий выявлена ранее [22–24]. Основываясь на наличии этих нежелательных явлений у больных с COVID-19 и частотой встречаемости вариантов T/C и C/C полиморфизма rs5918 у этих больных, можно предположить, что этот генетический дефект имеет значение в патогенезе COVID-19, особенно при нарушениях в системе гемостаза. Нами обнаружено, что частота встречаемости гетерозигот и мутантных гомозигот гена *ITGB3* выше у пациентов с ускорени-

ем АДФ-индуцированной агрегации, а также с тяжёлой формой COVID-19. Увеличение среднего объёма тромбоцита и повышение концентрации гликопротеина IIb/IIIa на мембране тромбоцитов характерно для носителей мутантных гомозигот и в меньшей степени – гетерозигот полиморфизма rs5918. Следствием таких изменений является повышение реактивности тромбоцитов [25]. Однако точные механизмы, вызывающие агрегацию тромбоцитов при наличии варианта C/C полиморфизма rs5918, до конца не изучены и требуют дальнейшего исследования.

Ген *ITGA2* кодирует белок интегрин альфа-2 – мембранный гликопротеин GPIa, находящийся на мембранах различных клеток, в том числе на тромбоцитах. На мембране тромбоцитов GPIa образует комплекс с GPIIb, являющимся одним из рецепторов коллагена. Полиморфизм rs1126643 гена *ITGA2* обусловлен заменой нуклеотида цитозина (C) на тимин (T). Эта мутация изменяет аминокислотную последовательность, что обуславливает корреляцию между этим полиморфизмом и уровнем экспрессии GPIa на мембране тромбоцитов [26]. В случае варианта T/T полиморфизма rs1126643 связь тромбоцитов с коллагеном происходит быстрее, гетерозиготные индивидуумы с вариантом C/T демонстрируют промежуточный уровень экспрессии рецепторов [27]. Полученные в ходе исследования данные – ускорение индуцированной коллагеном агрегации тромбоцитов – соответствуют известным сведениям о функции интегрин альфа-2 и могут указывать на роль полиморфизма rs1126643 в патогенезе COVID-19, хотя его механизм остаётся не до конца ясным.

Полученные данные указывают на возможную роль генетической предрасположенности, в частности полиморфизмов rs6065 гена *GP1BA*, rs1126643 гена *ITGA2* и rs5918 гена *ITGB3*, в гиперактивации тромбоцитов у больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких. Эти сведения могут быть использованы для планирования более масштабных исследований с целью оценки потенциального риска тромботических осложнений, определения дальнейшей тактики лечения и выбора антикоагулянтной и дезагрегантной терапии. Звенья гемостаза контролируются различными генами, и влияние их полиморфизмов на патогенез COVID-19 исследовано недостаточно; связь генетических факторов с возможными осложнениями и тяжестью течения болезни требует дальнейшего исследования.

ВЫВОДЫ

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением лёгких среднего и тяжёлого течения ускоряется индуцированная агрегация тромбоцитов; при тяжёлом течении снижается количество тромбоцитов в крови. При средней тяжести поражения лёгких повышается частота встречаемости гетерозиготного C/T и гомозиготного мутантного T/T генотипов полиморфизма rs1126643 гена *ITGA2*; наличие T/T генотипа ассоциировано с коллаген-индуцированной агрегацией тромбоцитов; при тяжёлом поражении лёгких повышается частота встречае-

мости гомозиготного мутантного генотипа C/C полиморфизма rs5918 гена *ITGB3*, наличие генотипов C/C и C/T полиморфизма rs5918 связано с АДФ-индуцированной агрегацией тромбоцитов.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта внутривузовского конкурса, посвящённого Году науки и технологий, на соискание грантов научными коллективами ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России 2021 г.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Barrett TJ, Schlegel M, Zhou F, Gorenchtein M, Bolstorff J, Moore KJ, et al. Platelet regulation of myeloid suppressor of cytokine signaling 3 accelerates atherosclerosis. *Sci Transl Med*. 2019; 11(517): eaax0481. doi: 10.1126/scitranslmed.aax0481
2. Rolfes V, Ribeiro LS, Hawwari I, Böttcher L, Rosero N, Maasewerd S, et al. Platelets fuel the inflammasome activation of innate immune cells. *Cell Rep*. 2020; 31(6): 107615. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107615
3. Zhou T, Su TT, Mudianto T, Wang J. Immune asynchrony in COVID-19 pathogenesis and potential immunotherapies. *J Exp Med*. 2020; 217(10): e20200674. doi: 10.1084/jem.20200674
4. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, Greenplate AR, Wu JE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*. 2020; 369(6508): eabc8511. doi: 10.1126/science.abc8511
5. Smilowitz NR, Kunichoff D, Garshick M, Shah B, Pillinger M, Hochman JS, et al. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. *Eur Heart J*. 2021; 42(23): 2270-2279. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa1103
6. Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(8): 2940-2947. doi: 10.1128/JCM.00636-10
7. Denorme F, Manne BK, Portier I, Petrey AC, Middleton EA, Kile BT, et al. COVID-19 patients exhibit reduced procoagulant platelet responses. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(11): 3067-3073. doi: 10.1111/jth.15107
8. Zaid Y, Puhm F, Allaey I, Naya A, Oudghiri M, Khalki L, et al. Platelets can associate with SARS-CoV-2 RNA and are hyperactivated in COVID-19. *Circ Res*. 2020; 127(11): 1404-1418. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317703
9. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol*. 2020; 7(6): e438-e440. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30145-9
10. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
11. Ponti G, Pastorino L, Manfredini M, Ozben T, Oliva G, Kaleci S, et al. COVID-19 spreading across world correlates with C677T allele

of the methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) gene prevalence. *J Clin Lab Anal.* 2021; 35(7): e23798. doi: 10.1002/jcla.23798

12. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): временные методические рекомендации; 15-я версия от 02.02.2022. М.; 2022. [Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19): Federal clinical guidelines; 15th version d.d. 02.02.2022. Moscow; 2022. (In Russ.)] URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attachements/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf. [date of access: 03.04.2023].

13. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020; 18(4): 844-847. doi: 10.1111/jth.14768

14. Gaiz A, Mosawy S, Colson N, Singh I. Thrombotic and cardiovascular risks in type two diabetes; Role of platelet hyperactivity. *Biomed Pharmacother.* 2017; 94: 679-686. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.121

15. Castaman G, Federici AB. Type 2B von Willebrand disease: A matter of plasma plus platelet abnormality. *Semin Thromb Hemost.* 2016; 42(5): 478-482. doi: 10.1055/s-0036-1579638

16. Анисимова А.В., Гунченко А.С., Иконникова А.И., Галкин С.С., Авдонина М.А., Наседкина Т.В. Клинико-генетический анализ факторов риска развития острой и хронической ишемии головного мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019; 119(3 вып. 2): 62-67. [Anisimova AV, Gunchenko AS, Ikonnikova AYU, Galkin SS, Avdonina MA, Nasedkina TV. Clinical and genetic analysis of risk factors for the development of acute and chronic cerebral ischemia. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2019; 119(3 vyp 2): 62-67. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro201911903262

17. Kraft P, Drechsler C, Gunreben I, Heuschmann PU, Kleinschnitz C. Case-control study of platelet glycoprotein receptor Ib and IIb/IIIa expression in patients with acute and chronic cerebrovascular disease. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0119810. doi: 10.1371/journal.pone.0119810

18. Li R, Emsley J. The organizing principle of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. *J Thromb Haemost.* 2013; 11(4): 605-614. doi: 10.1111/jth.12144

19. Huang J, Li X, Shi X, Zhu M, Wang J, Huang S, et al. Platelet integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$: signal transduction, regulation, and its therapeutic targeting. *J Hematol Oncol.* 2019; 12(1): 26. doi: 10.1186/s13045-019-0709-6

20. Pagani G, Pereira JP, Stoldt VR, Beck A, Scharf RE, Gohlke H. The human platelet antigen-1b (Pro33) variant of $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ allosterically shifts the dynamic conformational equilibrium of this integrin toward the active state. *J Biol Chem.* 2018; 293(13): 4830-4844. doi: 10.1074/jbc.RA118.002149

21. Abboud N, Ghazouani L, Ben-Hadj-Khalifa S, Anabi F, Added F, Khalfallah A, et al. Human platelet alloantigens HPA-1, HPA-2, and HPA-3 polymorphisms associated with extent of severe coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2010; 29(4): 409-415. doi: 10.1007/s11239-009-0368-5

22. Goldschmidt-Clermont PJ, Coleman LD. Higher prevalence of GPIIIa PIA2 polymorphism in siblings of patients with premature coronary heart disease. *Arch Pathol Lab Med.* 1999; 123(12): 1223-1229. doi: 10.5858/1999-123-1223-HPOGPA

23. Kucharska-Newton AM, Monda KL, Campbell S, Bradshaw PT, Wagenknecht LE, Boerwinkle E, et al. Association of the platelet GPIIb/IIIa polymorphism with atherosclerotic plaque morphology: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Atherosclerosis.* 2011; 216(1): 151-156. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.038

24. Čeri A, Leniček Krleža J, Coen Herak D, Miloš M, Pavić M, Barišić N, et al. Role of platelet gene polymorphisms in ischemic pediatric stroke subtypes: A case-control study. *Croat Med J.* 2020; 61(1): 18-27. doi: 10.3325/cmj.2020.61.18

25. Ezer E, Schrick D, Tóké-Füzesi M, Szapary L, Bogar L, Molnar T. A novel approach of platelet function test for prediction of attenuated response to clopidogrel. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019; 73(2): 359-369. doi: 10.3233/CH-190580

26. Al-Taei HZ, Alsabti ZM, Al-Ani LM. Genetic study of ITGA2 polymorphisms and impact on diabetic retinopathy risk in Al-Anbar population. *J Pharmaceut Sci Res.* 2021; 10(9): 2305-2308. doi: 10.5281/zenodo.544911

27. Li W, Pi L, Yuan J, Gu X, Wang Z, Liu Y, et al. Impact of platelet glycoprotein Ia/IIa C807T gene polymorphisms on coronary artery aneurysms of KD patients. *Cardiol Res Pract.* 2021; 2021: 4895793. doi: 10.1155/2021/4895793

Сведения об авторах

Осиков Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; руководитель отдела научной работы, ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», e-mail: prof.osikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

Антонов Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии Института дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; руководитель Областного пульмонологического центра, ГАУЗ «Областная клиническая больница № 3», e-mail: ant-vn@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>

Зотов Семён Олегович – ассистент кафедры патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий инфекционным отделением № 5 Областного инфекционного центра, ГАУЗ «Областная клиническая больница № 3», e-mail: semenz2007@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7469-2386>

Information about the authors

Mikhail V. Osikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Head of the Research Department, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, e-mail: prof.osikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

Vladimir N. Antonov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Therapy, Institute of Continuing Professional Education, South Ural State Medical University; Head of the Regional Pulmonology Center, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, e-mail: ant-vn@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>

Semen O. Zotov – Teaching Assistant at the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Head of the Infectious Diseases Department No. 5, Regional Center for Infectious Diseases, Regional Clinical Hospital No. 3, e-mail: semenz2007@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7469-2386>

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

ВАРИАНТЫ rs11385942 И rs657152 НЕ АССОЦИИРУЮТСЯ С ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДАМИ COVID-19 У ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАВШИХ ТЕРАПИЮ ФАВИПИРАВИРОМ И РЕМДЕСИВИРОМ

Абдуллаев Ш.П.¹,
Денисенко Н.П.¹,
Темирбулатов И.И.¹,
Качанова А.А.¹,
Тучкова С.Н.¹,
Михайленко Е.В.²,
Крюков А.В.¹,
Валиев Т.Т.¹,
Мирзаев К.Б.¹,
Сычев Д.А.¹

¹ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1, Россия)

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Абдуллаев Шерзод Пардабоевич,
e-mail: abdullaevsp@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. В научной литературе появляется всё больше данных о различиях в чувствительности и восприимчивости к инфекции SARS-CoV-2, которые проявляются у пациентов в диапазоне от бессимптомного течения заболевания до тяжёлой дыхательной недостаточности и необходимости длительной искусственной вентиляции лёгких. Основные причины этого спектра клинических проявлений остаются неясными. Определение факторов риска, способных вызвать такую вариацию клинических симптомов, важно для выявления наиболее восприимчивых групп населения с наибольшим риском. Это должно помочь улучшить меры профилактики, сократить количество госпитализаций и снизить смертность от заболевания. Ранее для генетических маркеров rs11385942 G>GA и rs657152 A>C была показана связь с тяжестью течения COVID-19.

Цель работы. Оценить вклад носительства полиморфных маркеров rs11385942 G>GA и rs657152 A>C на показатели тяжести течения COVID-19 у пациентов, получавших этиотропную терапию.

Материалы и методы. В исследование было включено 240 пациентов, госпитализированных в ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ» с диагнозом COVID-19, получавших этиотропную терапию фавипиравиром или ремдесивиром. У всех пациентов определялось носительство вариантов rs11385942 G>GA и rs657152 A>C. Сравнивались длительность стационарного лечения, частота перевода пациентов в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), частота наступления клинических исходов (выписан или смерть) между носителями аллельных вариантов изучаемых генетических маркеров.

Результаты. Не было выявлено статистически значимых ассоциаций носительства различных вариантов rs11385942 G>GA и rs657152 A>C с длительностью госпитализации пациентов, частотой перевода пациентов в ОРИТ и наступлением того или иного исхода.

Заключение. Носительство вариантов rs11385942 G>GA и rs657152 A>C не определяло показатели тяжести течения и вид клинических исходов у пациентов с COVID-19.

Ключевые слова: восприимчивость к COVID-19, тяжесть течения COVID-19, этиотропная терапия COVID-19, фавипиравир, ремдесивир, rs11385942, rs657152, полиморфизмы

Для цитирования: Абдуллаев Ш.П., Денисенко Н.П., Темирбулатов И.И., Качанова А.А., Тучкова С.Н., Михайленко Е.В., Крюков А.В., Валиев Т.Т., Мирзаев К.Б., Сычев Д.А. Варианты rs11385942 и rs657152 не ассоциируются с тяжестью течения и исходами COVID-19 у пациентов, получавших терапию фавипиравиром и ремдесивиром. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 23-30. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.3

Статья поступила: 15.09.2023

Статья принята: 20.12.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

THE rs11385942 AND rs657152 VARIANTS ARE NOT ASSOCIATED WITH COVID-19 SEVERITY AND OUTCOMES IN PATIENTS TREATED WITH FAVIPIRAVIR AND REMDESIVIR

Abdullaev Sh.P.¹,
Denisenko N.P.¹,
Temirbulatov I.I.¹,
Kachanova A.A.¹,
Tuchkova S.N.¹,
Mikhaylenko E.V.²,
Kryukov A.V.¹,
Valiev T.T.¹,
Mirzaev K.B.¹,
Sychev D.A.¹

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
(Barrikadnaya str. 2/1, building 1,
Moscow 125993, Russian Federation)

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

Corresponding author:
Sherzod P. Abdullaev,
e-mail: abdullaevsp@gmail.com

ABSTRACT

Background. There is a mounting evidence in the scientific literature that susceptibility to SARS-CoV-2 infection could vary. The severity of COVID-19 symptoms can range from asymptomatic to severe respiratory failure, requiring prolonged artificial ventilation. The underlying causes of this range of clinical manifestations remain unclear. Identification of the risk factors that may cause this variation in clinical symptoms is important for identifying the most susceptible populations at highest risk. This should help improve prevention measures, reduce hospitalizations, and decrease the mortality rate of the disease. Previously, an association has been found between the severity of COVID-19 and the genetic markers rs11385942 G>GA and rs657152 A>C.

The aim. To assess the impact of carrying polymorphic markers rs11385942 G>GA and rs657152 A>C on the severity of COVID-19 in patients undergoing specific therapy. **Materials and methods.** A total of 240 patients hospitalized with a coronavirus infection were included in the study. All patients received therapy with favipiravir or remdesivir. The presence of the rs11385942 G>GA and rs657152 A>C variants was determined in all patients. The study compared the length of hospital stays, frequency of patient transfers to the intensive care unit (ICU), and frequency of clinical outcomes (recovery or death) among carriers of allelic variants of the markers under investigation.

Results. There were no significant associations between the carriage of variants rs11385942 G>GA and rs657152 A>C and the duration of patients' hospitalization, frequency of patient transfers to the ICU, and patient outcomes.

Conclusion. The carriage of rs11385942 G>GA and rs657152 A>C variants did not affect the severity or type of clinical outcomes in patients with COVID-19.

Key words: sensitivity to COVID-19, severity of COVID-19, COVID-19 etiotropic therapy, favipiravir, remdesivir, rs11385942, rs657152, polymorphisms

Received: 15.09.2023
Accepted: 20.12.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Abdullaev Sh.P., Denisenko N.P., Temirbulatov I.I., Kachanova A.A., Tuchkova S.N., Mikhaylenko E.V., Kryukov A.V., Valiev T.T., Mirzaev K.B., Sychev D.A. The rs11385942 and rs657152 variants are not associated with COVID-19 severity and outcomes in patients treated with favipiravir and remdesivir. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 23-30. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.3

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19 оказала значительное влияние на системы здравоохранения практически всех стран мира. Опыт преодоления кризиса COVID-19 выявил множество недостатков в организации медицинской службы и лекарственного обеспечения населения. На первоначальном этапе борьбы с заболеванием научным сообществом были изучены возможности применения уже известных лекарственных препаратов. Так, уже весной 2020 г. в качестве препаратов для лечения для COVID-19 были предложены фавипиравир и ремдесивир [1, 2]. Оба препарата отнесены к группе препаратов для этиотропной терапии COVID-19 и сохраняют свою актуальность, согласно последней версии Временных методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению COVID-19 [3].

В научной литературе появляется больше данных о различиях в чувствительности и восприимчивости к инфекции SARS-CoV-2, проявляющихся у пациентов в диапазоне от бессимптомного течения заболевания до тяжёлой дыхательной недостаточности и необходимости длительной искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ) [4]. Основные причины этого спектра клинических исходов остаются неясными. Определение факторов риска, например генетических, клинико-демографических, экологических и возможных других, способных вызвать такую вариацию клинических симптомов, важно для выявления наиболее восприимчивых групп населения с наибольшим риском. Это должно позволить защитить их от инфекции, сократить количество госпитализаций и снизить смертность.

Ранее группой учёных было предположено, что тяжесть течения COVID-19 может в том числе быть детерминирована генетическим профилем пациентов. В работе D. Ellinghaus и соавт. (2020) были выявлены ассоциации носительства аллельных вариантов маркеров *rs11385942 G>GA* в локусе 3p21.31 и *rs657152 C>A* в локусе 9q34.2 с тяжёлыми формами дыхательной недостаточности у пациентов с COVID-19 [5]: GWAS-исследование показывало, что сигнал в локусе 3p21.31 охватывал гены *SLC6A20*, *LZTFL1*, *CCR9*, *FYCO1*, *CXCR6* и *XCR*, тогда как сигнал ассоциации в локусе 9q34.2 совпал с локусом группы крови ABO. По этим результатам авторы делали заключение о возможной роли кластеров генов 3p21.31 и группы крови ABO как предиктора восприимчивости COVID-19 у пациентов с дыхательной недостаточностью [5]. Вопрос о влиянии носительства этих маркеров на эффективность терапии пациентов с COVID-19 ранее не изучался.

С учётом вышеперечисленного **целью представленной работы** стала сравнительная оценка распределения носительства аллельных вариантов *rs11385942 G>GA* и *rs657152* в группах пациентов с COVID-19, различающихся по длительности нахождения на стационарном лечении, частоте перевода в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и клиническим исходам лечения заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ» и было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (протокол № 15 от 16.10.2021). От всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании.

Характеристика выборки

Авторами выполнено проспективное наблюдательное открытое исследование. Исследование проводили с ноября 2021 по февраль 2022 г. В исследование были включены 240 пациентов, мужчины и женщины в возрасте от 18 лет и старше, госпитализированные с подтверждённой новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) (U07.1, U07.2 по МКБ), соответствующие критериям включения и не соответствующие критериям невключения. Возраст всех пациентов составил от 44 до 96 лет (средний возраст – $73,0 \pm 12,5$ года). Из них 74 (31 %) мужчин, средний возраст которых составил $72,91 \pm 12,62$ года, 166 (69 %) женщин, средний возраст которых составил $73,0 \pm 12,5$ года.

Критериями включения были: установленный диагноз новой коронавирусной инфекции COVID-19 (U07.1, U07.2 по МКБ); длительность госпитализации > 48 ч; использование фавипиравира и ремдесивира в качестве этиотропной терапии; подписанное добровольное информированное согласие.

Критериями невключения были противопоказания к назначению препаратов этиотропной терапии: тяжёлая печёночная недостаточность (класс C по Чайлд-Пью); скорость клубочковой фильтрации (СКФ) < 30 мл/мин/1,73 м²; беременность; период грудного вскармливания.

Пациенты получали фавипиравир и ремдесивир в качестве этиотропной терапии. Ремдесивир использовался в стандартной дозировке – 200 мг внутривенно в первые сутки, затем 100 мг раз в сутки в течение 5–10 дней. Режим дозирования фавипиравира подбирался в зависимости от веса пациента согласно инструкции по медицинскому применению: для пациентов с массой тела менее 75 кг – по 1600 мг 2 раза в день в первые сутки, далее – 600 мг 2 раза в день; для пациентов с массой тела более 75 кг – по 1800 мг 2 раза в день в первые сутки, далее – 800 мг 2 раза в сутки. Исследователь не мог влиять на выбор противовирусного препарата и длительность терапии, которые определялись лечащим врачом.

Генотипирование

После получения письменного информированного согласия и включения в исследование от каждого пациента было отобрано по 10 мл венозной крови для последующего генетического тестирования. Выделение геномной ДНК из цельной крови осуществлялось с помощью наборов реагентов S-Sorb (ООО «Синтол», Россия). Концентрация экстрагированной ДНК определялась с помо-

щью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США). Определение носительства аллельных вариантов *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C* проводилось методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на приборе CFX96 Touch Real Time System (BioRad, США) с использованием коммерческих наборов TaqMan® SNP Genotyping Assays и TaqMan Universal MasterMix II, no UNG (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя (табл. 1). Режим амплификации составлял: 95 °C в течение 5 мин; 40 циклов, 95 °C в течение 10 с, 55 °C в течение 10 с; 72 °C в течение 10 с.

Статистическая обработка

Оценивалось соответствие частот генотипов равновесию Харди – Вайнберга с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат) Пирсона (при $p > 0,05$ равновесие выполняется). Для оценки различий частот встречаемости различных аллелей между группами использовали точный тест Фишера.

Нормальность распределения полученных результатов оценивали с помощью W-теста Шапиро – Уилка и критерия Колмогорова – Смирнова. Сравнение категориальных переменных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона или двустороннего точного теста Фишера (в зависимости от характера распределения показателей). Сравнение нескольких выборок непрерывных

данных производили с помощью одно- или многофакторного дисперсионного анализа ANOVA или H-теста Краскела – Уоллиса (в зависимости от характера распределения данных).

В качестве средств статистической обработки применялся пакет программ IBM SPSS Statistics 22 (IBM Corp., США). Для всех результатов статистически значимым считали значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценку тяжести течения и исходов заболевания проводили в группах относительно носительства аллелей изучаемых полиморфных маркеров *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C*. Для анализа были использованы показатели: 1) длительности нахождения пациентов с COVID-19 на стационарном лечении; 2) частоты перевода пациентов в ОРИТ; 3) исхода лечения заболевания в виде выписки, перевода пациента из отделения инфекционных болезней в другие отделения и смерти пациента.

В работе не анализировались корреляционные зависимости между частотой перевода в ОРИТ, частотой случаев смерти, тяжестью течения, половой принадлежностью и возрастом пациентов, уровнем коморбидности и сопутствующей терапией в группах терапии, что является ограничениями проведённого анализа.

ТАБЛИЦА 1
ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ПРАЙМЕРЫ

SNP	RefSeq	Праймер F 5'–3'	Праймер R 5'–3'
LZTFL1 <i>rs11385942</i>	NM_020347.4	TGGGGCTAGTGTGTGAGGA	AGCACCACCTTCTCAGAGTT
ABO <i>rs657152</i>	NM_020469.3	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	AATTTAGGACATGTAAGTTCA

Примечание. Согласно инструкции производителя ThermoFisher (<https://www.thermofisher.com/taqman/results?keyword=>).

TABLE 1
USED PRIMERS

ТАБЛИЦА 2
ЧАСТОТА ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПО ИЗУЧАЕМЫМ
АЛЛЕЛЬНЫМ ВАРИАНТАМ *rs11385942 G>GA*
И *rs657152 A>C*

Маркеры	N	Генотипы, n (%)			Аллели, n (%)		Соответствие распределению по закону Харди – Вайнберга*		
		GG	G/GA	GA	G	GA	χ^2	p	
rs11385942 G>GA	набл.	162	72	6					
	240	ожд.	163,4	69,3	7,4	396 (82,50)	84 (17,50)	0,3643	0,8335
		%	67,5	30,0	2,5				
rs657152 A>C		AA	AC	CC	A	C			
	набл.	49	121	70					
	240	ожд.	50,0	119,1	71,0	219 (45,63)	261 (54,38)	0,0623	0,9693
		%	20,4	50,4	29,2				

Примечание. * – критерий χ^2 Пирсона.

TABLE 2
GENOTYPE AND ALLELE FREQUENCIES
OF *rs11385942 G>GA* AND *rs657152 A>C* ALLELIC
VARIANTS IN THE GROUP

Среди всех пациентов распределение генотипов маркеров *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C* согласовывалось с законом Харди – Вайнберга ($p > 0,05$) (табл. 2).

Анализ зависимости носительства тех или иных вариантов *rs11385942 G>GA* и количества дней, проведённых пациентом в стационаре (койко-дней), не выявил никаких различий ($p = 0,8335$). Аналогичные выводы можно сделать и для *rs657152 A>C*: статистически значимых различий между носителями разных генотипов не было ($p = 0,9693$) (табл. 3). Носительство вариантов *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C* не определяло длительность госпитализации пациентов с COVID-19.

У 75 пациентов, включённых в исследование, заболевание протекало в тяжёлой форме, что требовало перевода таких пациентов в ОРИТ. Тест Фишера показал, что смерть среди пациентов, попадавших в ОРИТ, фиксировалась статистически статистически значимо чаще, чем среди пациентов, которые в ОРИТ не переводились ($p < 0,0001$). При сравнении частоты попадания пациентов в ОРИТ в зависимости от вариантов носительства

rs11385942 G>GA и *rs657152 A>C* также не было выявлено статистически значимых различий (табл. 4).

Как было указано выше, в качестве параметров оценки исхода лечения пациентов в стационаре отделения инфекционных болезней использовались выписка пациента из стационара, перевод пациента в другое отделение больницы и фиксация факта смерти пациента в отделении.

Всего в изучаемой группе был зафиксирован 41 случай смерти, что составило 17,1 %. 165 (68,7 %) пациентов были выписаны из стационара, а 34 (14,2 %) пациента были переведены в другие отделения больницы. При переводе пациента в другое отделение больницы дальнейшее наблюдение за ним со стороны исследователя не проводилось, поэтому из анализа исходов лечения относительно носительства маркеров такие пациенты исключались. Сравнение количества выписанных и умерших пациентов в зависимости от носительства вариантов *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C* не выявило никаких статистически значимых связей ($p > 0,05$) (табл. 5).

ТАБЛИЦА 3
РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ЗАВИСИМОСТИ
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ
ПАЦИЕНТОВ ОТ НОСИТЕЛЬСТВА ВАРИАНТОВ
rs11385942 G>GA* И *rs657152 A>C

Маркеры	N	Генотипы	Кол-во койко-дней		p^*
			Среднее ($\pm$ CO)	Медиана койко-дней [Q1–Q3]	
<i>rs11385942 G>GA</i>	240	GG	11,41 ($\pm$ 8,79)	9,0 [6,0–14,0]	0,2835
		G GA	13,08 ($\pm$ 8,99)	10,0 [7,0–16,0]	
		GA GA	9,83 ($\pm$ 5,42)	9,5 [9,0–10,0]	
<i>rs657152 A>C</i>	240	AA	12,06 ($\pm$ 7,85)	9,0 [7,0–15,0]	0,6831
		AC	11,39 ($\pm$ 7,73)	9,0 [6,0–13,0]	
		CC	12,59 ($\pm$ 10,96)	10,0 [7,0–14,0]	

Примечание. CO – стандартное отклонение; * – Н-тест Краскела – Уоллиса.

TABLE 3
ASSOCIATION BETWEEN THE DURATION OF PATIENTS'
PERIOD OF HOSPITALIZATION AND CARRIAGE
OF *rs11385942 G>GA* AND *rs657152 A>C* VARIANTS

ТАБЛИЦА 4
РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ЗАВИСИМОСТИ ЧАСТОТЫ
ПЕРЕВОДА ПАЦИЕНТОВ В ОРИТ ОТ НОСИТЕЛЬСТВА
ВАРИАНТОВ *rs11385942 G>GA* И *rs657152 A>C*

Маркеры	N	Генотипы	Количество пациентов вне ОРИТ, n (%)	Количество пациентов переведённых в ОРИТ, n (%)	χ^2	p^*
<i>rs11385942 G>GA</i>	240	GG	115 (47,9)	47 (19,6)	1,18159	0,553886
		G GA	46 (19,2)	26 (10,8)		
		GA GA	4 (1,7)	2 (0,8)		
<i>rs657152 A>C</i>	240	AA	33 (13,8)	16 (6,7)	0,255425	0,880106
		AC	85 (35,4)	36 (15)		
		CC	47 (19,6)	23 (9,6)		

Примечание. * – критерий χ^2 Пирсона.

TABLE 4
ASSOCIATION BETWEEN THE FREQUENCY OF TRANSFER
OF PATIENTS TO INTENSIVE CARE UNIT AND CARRIAGE
OF *rs11385942 G>GA* AND *rs657152 A>C* VARIANTS

ТАБЛИЦА 5

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА НАЛИЧИЯ СВЯЗИ ЧАСТОТЫ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ И ВЫПИСКА ПАЦИЕНТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НОСИТЕЛЬСТВА ВАРИАНТОВ *rs11385942 G>GA* И *rs657152 A>C*

TABLE 5

ASSOCIATION BETWEEN THE DEATH RATE AND PATIENT HOSPITAL DISCHARGE AND CARRIAGE OF *rs11385942 G>GA* AND *rs657152 A>C* VARIANTS

Маркеры	N	n	Генотипы	Исходы лечения		χ^2	p*
				Смерть, n (%)	Выписаны, n (%)		
<i>rs11385942 G>GA</i>	206	138	GG	28	110	0,041900	0,979268
		63	G GA	12	51		
		5	GA GA	1	4		
<i>rs657152 A>C</i>	206	40	AA	7	33	1,21099	0,545803
		110	AC	25	85		
		56	CC	9	47		

Примечание. * – критерий χ^2 Пирсона.

В случае перевода в другое отделение клинических исход у таких пациентов не фиксировался, что также является одним из ограничений исследования.

ОБСУЖДЕНИЕ

COVID-19 представляет собой острое вирусное заболевание, вызывающее преимущественное поражение респираторного тракта, течение которого может варьироваться от бессимптомного и лёгкого (в большинстве случаев) до жизнеугрожающих состояний с развитием тяжёлой дыхательной недостаточности и острого респираторного дистресс-синдрома (до 5 %) [6, 7]. Смертность от COVID-19 была относительно выше среди пациентов с тяжёлой формой заболевания и находившихся на лечении в ОРИТ [8, 9]. Исследователи заключают, что высокая смертность, по-видимому, прежде всего связана с проявлениями тяжёлых форм дыхательной недостаточности, требующих перевода пациентов в отделение интенсивной терапии [10].

Генетические особенности пациенты также могут вносить вклад в тяжесть течения COVID-19. В GWAS-исследовании D. Ellinghaus и соавт. было обнаружено, что частота носительства рискового аллеля GA маркера *rs11385942 G>GA* была выше среди пациентов, у которых при COVID-19 развивалась острая дыхательная недостаточность и которые находились на искусственной вентиляции лёгких, по сравнению с теми, кто получал только кислородную поддержку [5]. Объяснением такой связи варианта *rs11385942 G>GA* было то, что область вблизи *rs11385942* на хромосоме 3p21.31 значительно влияет на экспрессию гена *LZTFL1* ($p < 0,05$), регулятора ресничек дыхательных путей [11]. Второй выявленный рисковый маркер тяжести COVID-19 *rs657152 A>C* встречался чаще у пациентов с COVID-19 и развитием дыхательной недостаточности. Данный маркер совпадал по расположению с локусом, кодирующим группы крови системы ABO [5].

В исследовании О. Balanovsky и соавт. (2021) были изучены частоты распределения *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C* среди популяций, проживающих в России и приграничных с ней странах. Анализ корреляции частоты носительства данных маркеров с показателями смертности от COVID-19 выявил положительную связь. Для *rs657152 A>C* корреляция была более сильной ($r = 0,59$; $p = 0,02$). Авторы оговаривали, что такая корреляция выявлялась только для российской выборки и была не релевантна для данных по мировым популяциям [12].

В нашем исследовании мы провели попытку оценить предполагаемое влияние носительства маркеров характера тяжести течения COVID-19 на длительность стационарного лечения, частоту перевода таких пациентов в отделение интенсивной терапии и конечные исходы терапии. Носительство изучаемых маркеров *rs11385942 G>GA* и *rs657152 A>C* не ассоциировалось с удлинением продолжительности лечения пациента в стационаре, статистически значимо не влияло на долю пациентов, переведённых в ОРИТ, не было связано со статистически значимой разницей в смертности между пациентами с разными генотипом. Наши данные согласуются с выводами других исследователей. Так, в работе Е.А. Орловой и соавт. была проанализирована частота *rs657152 A>C* в когортах из 129 больных COVID-19 и 466 здоровых лиц и не обнаружены статистически значимые различия между ними. Распределение частот *rs657152 A>C* между пациентами с высокой и низкой вирусной нагрузкой не выявило никаких различий. Авторы заключали, что носительство *rs657152 A>C* само по себе не может рассматриваться как фактор риска более тяжёлого течения COVID-19 [13]. Схожие выводы об отсутствии связи между носительством рассматриваемых маркеров и тяжестью течения заболевания были сделаны в исследовании типа «случай-контроль» R. Marçalo и соавт. При сравнении пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ) ($n = 255$) и субъектов без ХОБЛ ($n = 243$) по тяжести течения COVID-19 и выживаемости

различий между группами выявлено не было: значения всех $p > 0,01$ при рассмотрении как аллелей риска по отдельности, так и комбинаций аллелей или полигенной оценки риска [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многосторонняя природа риска тяжести течения COVID-19 требует учёта множества факторов: клинικο-демографические параметры, коморбидный фон, сопутствующая терапия, генетика пациента и др. В рамках нынешнего понимания природы COVID-19 оценка вклада генетического профиля пациента на тяжесть течения и клинические исходы заболевания остаётся сложной задачей. Проблема требует дальнейшего изучения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации, тематика государственного задания «Факторы, влияющие на развитие неблагоприятных реакций при применении лекарственных препаратов для этиотропной и патогенетической терапии пациентов с COVID-19» (ЕГИСУ НИОКТР № 122021800155-3).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. *Cell Res*. 2020; 30(3): 269-271. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0
2. Dong L, Hu S, Gao J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discov Ther*. 2020; 14(1): 58-60. doi: 10.5582/ddt.2020.01012
3. Временные методические рекомендации. *Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)*; 18-е изд., М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2023. [The provisional guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19); 18th ed. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. (In Russ.)].
4. Stawicki SP, Jeanmonod R, Miller AC, Paladino L, Gaieski DF, Yaffee AQ, et al. The 2019–2020 novel coronavirus (severe acute

respiratory syndrome coronavirus 2) pandemic: A joint American College of Academic International Medicine–World Academic Council of Emergency Medicine multidisciplinary COVID-19 working group consensus paper. *J Glob Infect Dis*. 2020; 12(2): 47-93. doi: 10.4103/jgid.jgid_86_20

5. Ellinghaus D, Degenhardt F, Bujanda L, Buti M, Albillos A, Invernizzi P, et al. Genomewide association study of severe Covid-19 with respiratory failure. *N Engl J Med*. 2020; 383(16): 1522-1534. doi: 10.1056/NEJMoa2020283

6. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: Summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020; 323(13): 1239-1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648

7. He F, Deng Y, Li W. Coronavirus disease 2019: What we know? *J Med Virol*. 2020; 92(7): 719-725. doi: 10.1002/jmv.25766

8. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032

9. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: A single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020; 8(5): 475-481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5

10. Li X, Ma X. Acute respiratory failure in COVID-19: Is it “typical” ARDS? *Crit Care*. 2020; 24(1): 198. doi: 10.1186/s13054-020-02911-9

11. Fink-Balduff IM, Stuart WD, Brewington JJ, Guo M, Maeda Y. CRISPRi links COVID-19 GWAS loci to LZTFL1 and RAB1. *EBioMedicine*. 2022; 75: 103806. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103806

12. Balanovsky O, Petrushenko V, Mirzaev K, Abdullaev S, Gorin I, Chernevskiy D, et al. Variation of genomic sites associated with severe Covid-19 across populations: Global and national patterns. *Pharmgenomics Pers Med*. 2021; 14: 1391-1402. doi: 10.2147/PGPM.S320609

13. Орлова Е.А., Огарков О.Б., Хромова П.А., Синьков В.В., Хаснатинов М.А., Жданова С.Н., и др. Вариант rs657152 не ассоциируется с уровнем вирусной нагрузки при COVID-19 или вероятностью заболевания в популяции европеоидов Восточной Сибири. *Генетика*. 2021; 57(8): 974-976. [Orlova EA, Ogarkov OB, Khromova PA, Sinkov VV, Khasnatinov MA, Zhdanova SN, et al. SNP rs657152 is not associated with the level of viral load in COVID-19 or the probability of disease in the population of Caucasians in Eastern Siberia. *Russian Journal of Genetics*. 2021; 57(8): 982-984. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S0016675821080099

14. Marçalo R, Neto S, Pinheiro M, Rodrigues AJ, Sousa N, Santos MAS, et al. Evaluation of the genetic risk for COVID-19 outcomes in COPD and differences among worldwide populations. *PLoS One*. 2022; 17(2): e0264009. doi: 10.1371/journal.pone.0264009

Сведения об авторах

Абдуллаев Шерзод Пардабоевич – кандидат биологических наук, заведующий отделом предиктивных и прогностических биомаркеров Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: abdullaevsp@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9001-1499>

Денисенко Наталья Павловна – кандидат медицинских наук, заместитель директора Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, доцент кафедры клинической фармакологии и терапии имени Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: natalypilipenko3990@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3278-5941>

Темирбулатов Илья Ильдарович – аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии имени Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: temirbulatov.ilyas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1242-0833>

Качанова Анастасия Алексеевна – младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: aakachanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3194-4410>

Тучкова Светлана Николаевна – младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: svetlanatuch1998@gmail.com

Михайленко Елизавета Вячеславовна – аспирант кафедры фармакологии, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: elizavetamikhaylenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6175-8179>

Крюков Александр Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и терапии имени Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: alex.kryukov90@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7903-2977>

Валиев Тимур Таймуразович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры детской онкологии имени академика Л.А. Дурнова, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: timurvaliev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1469-2365>

Мирзаев Карин Бадавинович – доктор медицинских наук, проректор по научной работе и инновациям, директор Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: karin05doc@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9307-4994>

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, ректор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии имени Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: dimasychev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

Information about the authors

Sherzod P. Abdullaev – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: abdullaevsp@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9001-1499>

Natalia P. Denisenko – Cand. Sc. (Med.), Deputy Director, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Associate Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: natalypilipenko3990@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3278-5941>

Ilyas I. Temirbulatov – Postgraduate at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: temirbulatov.ilyas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1242-0833>

Anastasia A. Kachanova – Junior Research Officer at the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: aakachanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3194-4410>

Svetlana N. Tuchkova – Junior Research Officer at the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: svetlanatuch1998@gmail.com

Elizaveta V. Mikhaylenko – Postgraduate at the Department of Pharmacology I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: elizavetamikhaylenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6175-8179>

Alexander V. Kryukov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: alex.kryukov90@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7903-2977>

Timur T. Valiev – Dr. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Pediatric Oncology named after Academician L.A. Durnov, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: timurvaliev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1469-2365>

Karin B. Mirzaev – Dr. Sc. (Med.), Vice-Rector for Research and Innovation, Director, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: karin05doc@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9307-4994>

Dmitry A. Sychev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Rector, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: dimasychev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-ГЛУТАМИЛ-ТРИПТОФАНА НА ФОНОВУЮ И ИНДУЦИРОВАННУЮ АКТИВНОСТЬ ФАКТОРОВ ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ

Рулева А.А.¹,
Краснов А.А.²,
Петленко С.В.³,
Заплутанов В.А.⁴,
Апрятин В.А.⁵

¹ ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9, Россия)

² ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена» (191186, г. Санкт-Петербург, набережная реки Мойки, 48, Россия)

³ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1, Россия)

⁴ АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (197110, г. Санкт-Петербург, просп. Динамо, 3, Россия)

⁵ Институт трансляционной биомедицины, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Рулева Анна Александровна,
e-mail: Ruleanna@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

В период продолжающейся пандемии COVID-19 и в сезон подъёма заболеваемости другими респираторными инфекциями остаётся актуальным использование неспецифической профилактики. В этой связи в качестве инструмента широко применяются синтетические пептиды. Представителем этой группы является синтетический аналог регуляторных пептидов вилочковой железы Тимоген, который применяется в России уже более 20 лет для лечения острых и хронических инфекционных заболеваний.

Цель исследования. Оценить действие препарата Тимоген спрей на индуцированные показатели иммунной системы при профилактическом применении у здоровых добровольцев.

Материалы и методы. 20 здоровых добровольцев получали препарат Тимоген спрей (АО «МБНПК «Цитомед», Россия) в дозе 25 мкг 2 раза в сутки в течение 10 дней. Иммунологические показатели оценивали в динамике: до начала терапии, на 6-й и 11-й дни приёма и через 14 дней после окончания курса. Клиническое наблюдение осуществляли с 1-го по 11-й дни, регистрацию нежелательных явлений – в течение всего периода исследования (24 дня).

Результаты исследования. Выявлено статистически значимое увеличение вирус-индуцированной продукции α-интерферона культурой клеток крови к 11-му дню приёма Тимогена. Этот эффект сохранялся ещё в течение 14 дней после окончания курса. Статистически значимых различий в динамике бактерицидной и фагоцитарной активности нейтрофилов, сывороточного α- и γ-интерферона не получено.

Заключение. Использование препарата Тимоген спрей в дозе 25 мкг в течение 10 дней было безопасным, не влияло на морфофункциональное состояние иммунной системы, но способствовало статистически значимому увеличению продукции α-интерферона в ответ на индуцирующее воздействие вирусного патогена *in vitro*. Это позволяет рекомендовать препарат для профилактического применения в период подъёма заболеваемости острыми респираторными инфекциями.

Ключевые слова: альфа-глутамил-триптофан, альфа-интерферон, вирусные инфекции, здоровые добровольцы, неспецифическая профилактика, факторы врожденного иммунитета

Для цитирования: Рулева А.А., Краснов А.А., Петленко С.В., Заплутанов В.А., Априятин В.А. Влияние альфа-глутамил-триптофана на фоновую и индуцированную активность факторов врождённого иммунитета при профилактическом применении. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 31–40. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.4

Статья поступила: 02.02.2023

Статья принята: 15.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

INFLUENCE OF ALPHA-GLUTAMYL-TRYPTOPHAN ON THE BACKGROUND AND INDUCED ACTIVITY OF FACTORS OF ADAPTIVE IMMUNITY FOR PREVENTION

Ruleva A.A.¹,
Krasnov A.A.²,
Petlenko S.V.³,
Zaplutanov V.A.⁴,
Apyratina V.A.⁵

¹ Pediatric Research and Clinical Center
for Infectious Diseases, Federal Medical
Biological Agency (Professora Popova str. 9,
Saint Petersburg 197022,
Russian Federation)

² Herzen State Pedagogical University
(Embankment of the Moika River 48,
Saint Petersburg 191186,
Russian Federation)

³ Golikov Research Center of Toxicology
(Bekhtereva str. 1, Saint-Petersburg 192019,
Russian Federation)

⁴ St. Petersburg Institute
of Bioregulation and Gerontology
(Dinamo Ave. 3, Saint Petersburg 197110,
Russian Federation)

⁵ Institute of Translational Biomedicine,
St. Petersburg State University
(Universitetskaya emb. 7–9,
Saint Petersburg 199034,
Russian Federation)

Corresponding author:

Anna A. Ruleva,
e-mail: Ruleanna@yandex.ru

ABSTRACT

Background. During the ongoing COVID-19 pandemic and in the season of rising incidence of other respiratory infections, it is relevant to use preventive measures of non-specific prophylaxis. Synthetic peptides are widely considered as a tool. The representative of this group is the synthetic analogue of thymus regulatory peptides Thymogen, which has been used in Russia for more than 20 years in the treatment of acute and chronic infection diseases.

The aim of the study. To evaluate the effect of Thymogen, a dosed nasal spray, on induced parameters of the immune system during prophylactic use in healthy volunteers.

Materials and methods. Twenty healthy volunteers received Thymogen nasal dosed spray (JSC "Cytomed", Russia) at a dose of 25 µg twice a day for 10 days. A comparative assessment of immunological parameters was carried out in dynamics: before the start of therapy, on days 6 and 11 of taking the drug and 14 days after the end of the course. Clinical observation was carried out from day 1 to day 11, registration of adverse events – the entire period of the study for 24 days. The first day was considered the day the drug was started.

Results. In the course of the work, according to the data of immunological examination, a statistically significant increase in the virus-induced production of interferon alpha (INF-α) by a culture of peripheral blood cells was revealed. The growth rate was recorded on day 11 of taking Thymogen and persisted for 14 days after the end of the course. Significant differences in the dynamics of bactericidal and phagocytic activity of neutrophils, serum α- and γ-interferon were not obtained.

Conclusion. The use of Thymogen spray at a dose of 25 µg for 10 days was safe and contributed to a significant induction of interferon-alpha in response to exposure to a viral pathogen, which allows us to recommend the drug for prophylactic use during the period of rising incidence of acute respiratory diseases.

Key words: alfa-glutamyl-tryptophan, interferon-alpha, viral infections, healthy volunteers, non-specific prophylaxis, factors of innate immunity

Received: 02.02.2023

Accepted: 15.11.2023

Published: 29.12.2023

For citation: Ruleva A.A., Krasnov A.A., Petlenko S.V., Zaplutanov V.A., Apyratina V.A. Influence of alpha-glutamyl-tryptophan on the background and induced activity of factors of adaptive immunity for prevention. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 31-40. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.4

ВВЕДЕНИЕ

Врождённый иммунитет является одним из важнейших факторов, определяющих исход инфекции. Практически все клетки могут участвовать в его реализации. Основными структурами, ответственными за врождённый иммунитет, являются моноциты, макрофаги, дендритные клетки (ДК), нейтрофилы и натуральные киллеры (NK (natural killers) клетки) [1–4]. Клетки врождённого иммунитета несут на себе рецепторы (PRR, pattern recognition receptors), такие как Toll-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptors), RIG-I-подобные рецепторы (RLR, RIG-I like receptors), NOD-подобные рецепторы (NLR, NOD-like receptors), C-типа лектиновое суперсемейство рецепторов (CLSF, C-type lectin superfamily), распознающие неспецифические структуры микроорганизмов (PAMP, pathogen-associated molecular patterns) [2, 3, 5]. После связывания PRR с лигандом запускаются внутриклеточные биохимические каскады, приводящие к клеточной активации. Активированные клетки инициируют фагоцитоз, секрецию активных форм кислорода и ряда цитокинов (фактор некроза опухоли α (TNF- α , tumor necrosis factor α), интерлейкин (ИЛ) 1 β , ИЛ-6, IFN (интерферон) типа I), которые в свою очередь вызывают воспаление и другие противовирусные реакции [2–4]. Фагоцитоз – многоэтапный процесс, инициируемый распознаванием патогена, который приводит к поглощению патогена, созреванию фагосомы для устранения патогена и затем к распаду фаголизосомы и инактивации патогена [6].

Ответ NK-клеток включает цитотоксичность и высвобождение цитокинов (TNF- α и IFN- γ), что тесно связано с активацией рецепторов, активирующих NK-клетки, и блокированием ингибирующих рецепторов на их поверхности [5]. Баланс вовлечения этих рецепторов защищает нормальные клетки от вредного воздействия NK-клеток, одновременно активируя их для уничтожения инфицированных вирусом клеток-мишеней [1, 5].

Ключевым механизмом врождённого иммунитета является выработка IFN типа I. Он представляет собой высокооптимизированный системный ответ, который обеспечивает первую линию защиты от широкого спектра вирусных инфекций. Неспособность создать эффективный ответ IFN против вируса приводит к хронической инфекции, в то время как избыточная продукция IFN приводит к аутоагрессии [7]. Природные и рекомбинантные интерфероны являются одними из наиболее распространённых биологических терапевтических иммуномодуляторов в мире [8].

В настоящее время известны три основных семейства IFN – I, II и III типов. IFN типа I (IFN- α/β) и III (IFN- λ) в первую очередь продуцируются в качестве первой линии защиты и могут вырабатываться большинством типов клеток, в то время как IFN типа II (IFN- γ) в основном вырабатываются вторично специализированными иммунными субпопуляциями (например, NK-клетками или Т-клетками) [2, 9]. Следовательно, генетическая детерминация синтеза IFN типов I и III имеет решающее значение для контроля восприимчивости и течения вирусных инфекций. Эти IFN ин-

дуцируются разнообразными системами, включая десятки рецепторов распознавания, например, RIG-1, MDA-5 (melanoma differentiation-associated protein 5), TLR, RLR, STING (stimulator of interferon genes) [9]. Также известно, что продукция IFN типа I индуцируется при взаимодействии с бактериальными лигандами рецепторов клеток врождённого иммунитета. Кроме того, интерфероны активируют процессы более высокого порядка (клеточная активность, размножение, дифференцировка и функция Т-клеток), которые имеют решающее значение для контроля вирусных инфекций. Дефицит продукции или передачи сигналов IFN-I или IFN-III или противовирусных белков, которые они индуцируют, тесно связаны с тяжёлым течением заболевания [9].

Действительно, у людей с тяжёлой формой COVID-19 были выявлены генетические дефициты, связанные с индукцией IFN- α , а также аутоантител, нейтрализующих IFN [10]. Эти корреляции имеют эпидемиологическое значение. Например, 1,5 % тяжёлых случаев COVID-19 можно отнести к специфическому дефициту TLR, в то время как около 10 % людей с тяжёлым течением COVID-19 имеют аутоантитела против одного или нескольких IFN типа I или типа III. Кроме того, аллельные варианты ISG OAS1 также позволяют прогнозировать тяжесть COVID-19. Эти данные окончательно показывают, что интерфероны незаменимы для контроля SARS-CoV-2 и предотвращения тяжёлой формы COVID-19, а также других респираторных вирусных инфекций (в частности гриппа), где в силу особенностей возбудителей возможны нарушения в системе регуляции иммунного ответа [11].

Таким образом, врождённый иммунный ответ включает согласованную цепь индуцированных генных продуктов, предварительно сформированных иммунных эффекторов, биохимических сигнальных каскадов и специализированных клеток [2, 12]. Важным механизмом в цепи противовирусной защиты является регуляция продукции интерферона, и степень этой индукции позволяет прогнозировать течение и исход инфекционных заболеваний, прежде всего вирусной природы. Избыточная активация защитных механизмов может вызвать развитие патологических процессов. При этом важно соблюдение равновесия между защитой от патогенов и патофизиологическими проявлениями [13]. Действительно, наличие длительной гиперинтерферемии при профилактическом использовании индукторов интерферонов (а некоторые из данной группы препаратов могут применяться до 4 недель и более) в отсутствие патогена может способствовать исключительно развитию побочных эффектов, которых у данной группы цитокинов (IFN) огромное количество (от нарушения функции кишечника и «гриппоподобного состояния» до развития «синдрома хронической усталости и иммунной дисфункции» и слабоумия) [14, 15]. В этой связи, на наш взгляд, значительно более разумным и эффективным, патогенетически обоснованным и безопасным с целью профилактики инфекционных заболеваний следует считать применение препаратов, не индуцирующих, а регулирующих синтез эндогенного интерферона, в соответствии с потребностями и состоянием организма.

В качестве инструмента регуляции и активации системы интерферонов ряд исследований рассматривают синтетические пептиды. Ключевые транскрипционные пептидные факторы, участвующие в регуляции иммунного ответа, такие как NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), JAK-STAT (Janus kinase – signal transducer and activator of transcription) и IRFs (interferon regulatory factors), были изначально обнаружены у костистых рыб. Критическими регуляторами IFN типа I являются IRF3 и IRF7, а IRF1, IRF5 и IRF8 запускают IFN-ответы клеточно-специфическим образом [16]. В работе R. Pandey и соавт. [17], посвящённой разработке методов иммунопрофилактики висцерального лейшманиоза, было показано, что отдельные синтетические пептиды или их смеси значительно активировали секрецию IFN- γ . Подтверждением тому было увеличение содержания внутриклеточных цитокинов со значительным повышением уровня IFN- γ , продуцируемого CD4⁺ T-клетками.

С 2003 г. в России зарегистрирован и применяется синтетический дипептид, идентичный природному соединению, выделенному хроматографическим методом из экстракта тимуса, – лекарственный препарат Тимоген [18]. Одним из главных моментов, лежащих в основе настоящего исследования, явилось изучение иммунологических механизмов, лежащих в основе профилактического действия препарата в отношении острых и хронических вирусных и бактериальных заболеваний верхних дыхательных путей у здоровых добровольцев.

В данной научно-исследовательской работе (НИР) ключевой являлась оценка воздействия препарата Тимоген в отношении фоновых и индуцированных показателей иммунной системы при профилактическом применении у здоровых добровольцев. Были изучены бактерицидная и фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов, спонтанная и вирус-индуцированная продукция IFN- α клетками периферической крови, содержание IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови. Также проанализированы безопасность и переносимость исследуемого препарата, у здоровых добровольцев при его профилактическом применении в течение 10 дней. Сроки проведения НИР – с 04.06.2021 по 05.07.2021.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 20 здоровых добровольцев мужского пола в возрасте от 18 до 40 лет. Критериями отбора являлись: отсутствие острых и обострения хронических заболеваний как минимум за 1 месяц до включения в исследование; любая вакцинация не менее чем за 6 месяцев до начала исследования.

Исследуемым препаратом являлся Тимоген, спрей назальный дозированный (производитель АО «МБНПК «Цитомед», Россия). Активное вещество – альфа-глутамил-триптофан (Тимоген натрия в пересчёте на Тимоген) 25 мкг/доза. Вспомогательные вещества: натрия хлорид 900 мкг; бензалкония хлорид 10 мкг; вода, очищенная до 0,1 мл. Исследование было одобрено независи-

мым этическим комитетом «БиоЭтика» (протокол № 156 от 27.05.2021) г. Санкт-Петербург.

Субъекты, включённые в исследование, получали препарат Тимоген спрей по единой схеме в дозе 25 мкг (по 1 впрыскиванию) в каждый носовой ход 2 раза в сутки утром и вечером в течение 10 дней. После окончания курса введения препарата наблюдали за состоянием добровольцев ещё в течение 14 дней. Перед началом приёма препарата, а также во время каждого посещения проводился сбор жалоб, анамнеза жизни и медицинского анамнеза, данных о применении лекарственных препаратов, а также физикальное обследование.

Физикальное обследование включало измерение жизненно важных показателей: систолического (САД) и диастолического (ДАД) артериального давления, частоты сердечных сокращений (ЧСС), частоты дыхательных движений (ЧДД), температуры тела (ТТ). Для измерения показателей витальных функций использовали поверенные сертифицированные приборы (ASG, Япония; Армед УХ200, Россия), предназначенные для использования в клинических исследованиях. Всего период приёма препарата и наблюдения для каждого добровольца составил 24 дня и включал в себя 4 посещения (день 1 – до приёма препарата; день 6, день 11; день 24), во время которых проводились полное физикальное обследование и забор крови для лабораторной диагностики.

Иммунологическое обследование включало: определение бактерицидной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови (по данным НСТ-теста (тест восстановления нитросинего тетразолия) спонтанного и индуцированного зимозаном) методом спектрометрии на спектрофотометре (Infinite F50; Tecan, Австрия); оценку фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови (% нейтрофилов, поглотивших дрожжи; фагоцитарный индекс; завершённость фагоцитоза) методом микроскопии на световом микроскопе (Leica DM LS2; Leica, США); оценку спонтанной и индуцированной продукции IFN- α и содержания IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови иммуноферментным методом (коммерческие наборы АО «Вектор Бест», Россия). Спонтанную и индуцированную вирусом болезни Ньюкасла продукцию IFN- α определяли в супернатантах суточной культуры цельной крови. Индекс стимуляции бактерицидности рассчитывали как отношение индуцированной бактерицидности к спонтанной; индекс фагоцитоза – как среднее количество дрожжей, поглощённых одним фагоцитом. Завершённость фагоцитоза рассчитывали как отношение фагоцитарных индексов в образцах с добавлением эмбриональной сыворотки и без неё.

Безопасность и переносимость препарата Тимоген оценивалась по частоте нежелательных явлений (НЯ) и серьёзных нежелательных явлений (СНЯ) по градации переносимости: «хорошая» – отсутствие НЯ; «удовлетворительная» – наличие НЯ лёгкой выраженности, не требующего(-их) медикаментозной коррекции состояния; «неудовлетворительная» – наличие нескольких НЯ, требующих медикаментозного лечения. Также в рамках оценки безопасности исследовали динамику жизненно

важных показателей: САД и ДАД, ЧСС, ЧДД, ТТ. Переносимость оценивали на основании субъективной оценки добровольцев и по сохранению приверженности схеме исследуемого применения препарата (комплаентности).

Статистический анализ

Статистическая обработка данных проведена с применением специализированного программного обеспечения Statgraphics Centurion 18, версия 18.1.12 (Statgraphics Technologies, Inc., США) и RStudio, версия 1.1.442 (RStudio PBC, США), пакеты Rmisc (версия 1.5), psych (версия 2.1.6), nortest (версия 1.0-4). Для проверки нормальности сравниваемых выборок применяли тест Лиллиефорса с критическим значением $p = 0,2$. Сравнение показателей в связанных группах проводили при помощи дисперсионного анализа с повторными измерениями (one-way ANOVA with repeated measures). Сферичность данных проанализирована с использованием теста Моучли с уровнем статистической значимости 95 %. В случае отклонения распределения параметра в группе от нормального применяли непараметрический критерий Фридмана. Полученные данные представлены в виде: средних значений (M), стандартного отклонения (σ), стандартной ошибки среднего (SE) или медианы (Me), квартильных отклонений (Q25%; Q75%) или диапазона квартильных отклонений (IQR, interquartile range) (Q25%–Q75%), минимального (min) и максимального (max) значений. Критическим значением p было принято 0,05.

В случае выявления различий между группами (в разных временных точках) для их определения использовали апостериорные (post-hoc) тесты для попарного сравнения: после дисперсионного анализа – метод Фишера, после теста Фридмана – критерий Бонферрони с поправками на множественные сравнения (с мощностью 95 %).

Объект исследования

Средний возраст добровольцев, включённых в исследование, составил $28,25 \pm 6,69$ года, минимальный – 18 лет, максимальный – 40 лет. Группа была однородна по демографическим и антропометрическим показателям. Полный курс препарата получили 17 добровольцев, неполный курс – 3. В анализ были включены все субъекты исследования – 20 человек.

ТАБЛИЦА 1
СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ IFN- α СУТОЧНОЙ КУЛЬТУРОЙ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Параметры	Референтные значения	Контрольные точки	Me	Q25%	Q75%	min	max
IFN- α спонтанный, пг/мл	3–30	День 1	5	5	7,75	5	19
		День 6	5*	5	5	5	5
		День 11	5	5	5	5	15
		День 24	5	5	5	5	13

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$); Me – медиана; Q25%, Q75% – 25-й и 75-й квартили соответственно; min – минимум; max – максимум.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка спонтанной и индуцированной продукции IFN- α под действием препарата

При изучении спонтанной продукции IFN- α суточной культуры клеток, выделенных из периферической крови добровольцев, в день 1 (Me = 5 пг/мл; IQR = 2,75 пг/мл) до приёма препарата по сравнению с показателями в день 6 (Me = 5 пг/мл; IQR = 0 пг/мл) ($p = 0,026$) были обнаружены статистически значимые различия, однако эти показатели были сходными, и такие различия не являются клинически значимыми (табл. 1).

При оценке продукции IFN- α , индуцированной вирусом болезни Ньюкасла, клетками цельной крови наблюдались статистически значимые различия этого параметра в дни 1 и 11, в дни 1 и 24, а также между днями 6 и 24 ($F = 31,7$; $p = 0,000000604317$) (рис. 1).

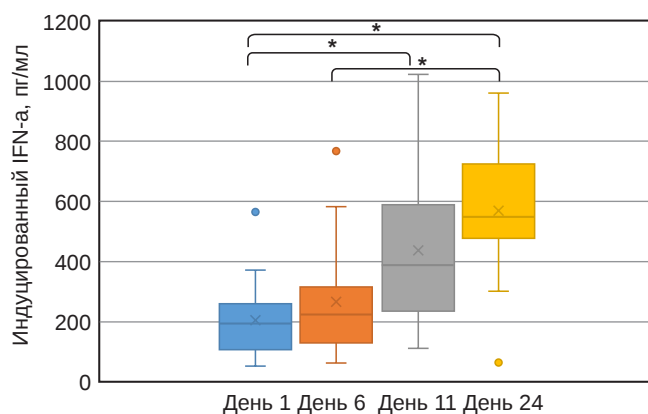


РИС. 1.

Вирус-индуцированная продукция IFN- α суточной культурой цельной крови добровольцев в динамике при 10-дневном приёме Тимоген спрей ($n = 20$): * – статистически значимые различия ($p < 0,001$), непараметрический тест Фридмана; день 1, 6, 11 и 24 – контрольные точки исследования

FIG. 1.

Virus-induced production of IFN- α by whole blood daily culture of volunteers in dynamics during a 10-day intake of Thymogen spray ($n = 20$): * – statistically significant differences ($p < 0,001$), nonparametric Friedman test; days 1, 6, 11 and 24 – study milestones

TABLE 1
SPONTANEOUS PRODUCTION OF IFN- α BY WHOLE BLOOD DAILY CULTURE

В ходе анализа результатов исследования было зафиксировано статистически значимое увеличение индуцированной продукции IFN-α клетками крови во время профилактического применения препарата Тимоген курсом 10 дней к дню 11 наблюдения (день 11: Me = 390,5 пг/мл, IQR = 290,75 пг/мл; день 1: Me = 194,5 пг/мл, IQR = 149,25 пг/мл; $p < 0,001$). Кроме того, показано статистически значимое ($p < 0,001$) повышение этого показателя через 14 дней после окончания курса (день 24: Me = 550,5 пг/мл; IQR = 190,25 пг/мл) в сравнении с днём 1 (Me = 194,5 пг/мл; IQR = 149,25 пг/мл) и днём 6 (Me = 223,5 пг/мл; IQR = 164,5 пг/мл) (рис. 1).

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что вирус-индуцированная продукция IFN-α, отражающая один из механизмов повышения невосприимчивости организма к возбудителям вирусных инфекций, статистически значимо увеличивается к концу применения препарата (через 10 дней) и продолжает нарастать ещё в течение 2 недель наблюдения. Следовательно, профилактическое использование препарата Тимоген в лекарственной форме спрея позволяет активизировать способность клеток периферической крови вырабатывать IFN-α в ответ на воздействие вирусного патогена, и этот эффект сохраняется как минимум в течение 14 дней после окончания курса применения исследуемого препарата.

Результаты оценки сывороточных IFN-α и IFN-γ

Сравнение уровня IFN-α в сыворотке крови здоровых добровольцев при профилактическом применении препарата Тимоген выявило статистически значимые различия этого параметра в дни 6, 11 и 24, несмотря на то, что уровень IFN-α в сыворотке был по абсолютным значениям одинаковым (Me = 5 пг/мл; IQR = 0 пг/мл) в сравнении с показателями в день 1 (Me = 5 пг/мл; IQR = 2,25 пг/мл; $p = 0,0004$), однако это изменение не являлось клинически значимым (табл. 1).

При изучении IFN-γ в сыворотке крови не выявлено статистически значимых различий во всех контрольных

точках ($p > 0,05$). Показатель не менялся на протяжении всего исследования (Me = 2 пг/мл; IQR = 0 пг/мл) (табл. 2).

Результаты оценки фагоцитарной и бактерицидной активности

Согласно полученным результатам, в настоящем исследовании статистически значимых различий в динамике такого параметра, как бактерицидная активность нейтрофилов, включая спонтанную и индуцированную, не выявлено. Показатели не имели статистически значимых колебаний в контрольных точках исследования (табл. 3).

Сходные результаты получены при изучении параметров фагоцитарной активности нейтрофилов (табл. 4), включая фагоцитоз нейтрофилов, завершённость фагоцитоза и индекс фагоцитоза.

В настоящей работе показано, что у здоровых добровольцев без нарушений со стороны иммунной системы и в отсутствие острых заболеваний/состояний профилактическое применение препарата Тимоген спрей 2 раза в сутки курсом 10 дней не влияет на параметры бактерицидной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови, определяемой с помощью НСТ-теста, и не приводит к изменению показателей фагоцитарной активности нейтрофилов.

Анализ безопасности и переносимости

В рамках анализа безопасности и переносимости оценивались в динамике жизненно важные показатели: САД, ДАД, ЧСС, ЧДД и ТТ, – которые не выявили статистически значимых различий ($p > 0,05$) у здоровых добровольцев на протяжении всего периода наблюдения (т. е. в контрольные точки исследования – дни 1, 6, 11 и 24) (табл. 5).

У 11 (55 %) добровольцев в разных контрольных точках исследования наблюдались эпизоды подъёма артериального давления, при этом во всех случаях увеличение САД и/или ДАД не превышало 10 мм рт. ст. по сравнению со значениями, принятыми за референтные. Зафиксированные отклонения классифицировались исследователями как клинически не значимые, не требующие

ТАБЛИЦА 2
УРОВНИ IFN-α И IFN-γ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Параметры	Референтные значения	Контрольные точки	Me	Q25%	Q75%	min	max
IFN-α сыворотка, пг/мл	0–5	День 1	5	2,75	5	1	5
		День 6	5*	5	5	5	5
		День 11	5*	5	5	5	5
		День 24	5*	5	5	5	5
IFN-γ сыворотка, пг/мл	0–5	День 1	2	2	2	2	2
		День 6	2	2	2	2	22
		День 11	2	2	2	2	2
		День 24	2	2	2	2	2

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$); Me – медиана; Q25%, Q75% – 25-й и 75-й квартили соответственно; min – минимум; max – максимум.

TABLE 2
IFN-α AND IFN-γ LEVELS IN BLOOD SERUM

ТАБЛИЦА 3
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ
НЕЙТРОФИЛОВ В ДИНАМИКЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 3
THE RESULTS OF THE EVALUATION OF THE NEUTROPHILS
BACTERICIDAL ACTIVITY IN THE DYNAMICS

Параметры	Референтные значения	Контрольные точки	Me	Q25%	Q75%	min	max
Бактерицидность нейтрофилов спонтанная, ед./млн кл.	70–120	День 1	98	74,25	112,5	68	116
		День 6	93	85	104	62	124
		День 11	92	87,25	102	71	124
		День 24	88	82	98	68	116
Бактерицидность нейтрофилов индуцированная, ед./млн кл.	150–200	День 1	140	116	177,2	94	202
		День 6	152	138	169,8	84	198
		День 11	145	131,5	170,8	88	198
		День 24	156,5	139,8	167,5	102	195
Индекс стимуляции	1,2–2	День 1	1,55	1,3	1,725	1,2	1,8
		День 6	1,6	1,4	1,8	1,3	1,9
		День 11	1,6	1,5	1,725	1,2	1,9
		День 24	1,8	1,575	1,8	1,4	1,9

Примечание. Me – медиана; Q25%, Q75% – 25-й и 75-й квартили соответственно; min – минимум; max – максимум.

ТАБЛИЦА 4
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ
НЕЙТРОФИЛОВ В ДИНАМИКЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 4
THE RESULTS OF THE ASSESSMENT OF THE NEUTROPHILS
PHAGOCYTIC ACTIVITY IN THE DYNAMICS

Параметры	Референтные значения	Контрольные точки	Me	Q25%	Q75%	min	max
Фагоцитоз нейтрофилов, %	65–88	День 1	68	66	68	65	69
		День 6	67,5	66	68	65	69
		День 11	68	66	68	65	69
		День 24	68	67	68	65	69
Завершённость фагоцитоза, коэффициент	1–1,2	День 1	1	1	1	0,9	1
		День 6	1	1	1	0,9	1
		День 11	1	1	1	0,9	1
		День 24	1	1	1	1	1
Индекс фагоцитоза	2,3–3	День 1	2,3	2,3	2,4	2,2	2,8
		День 6	2,3	2,3	2,4	2,2	2,7
		День 11	2,3	2,3	2,4	2,2	2,6
		День 24	2,3	2,3	2,4	2,2	2,5

Примечание. Me – медиана; Q25%, Q75% – 25-й и 75-й квартили соответственно; min – минимум; max – максимум.

терапевтических мероприятий и не имеющие связи с применением препарата Тимоген.

В ходе проведённого исследования не было зарегистрировано ни одного СНЯ. Среди зафиксированных НЯ отмечали слизистые выделения из носа ($n = 1$) и заложен-

ность носа ($n = 1$) с 1-го по 10-й дни исследования, которые купировались самостоятельно. Слизистые выделения наблюдались по утрам в течение 1 часа после применения Тимогена, а заложенность носа – через 20 мин после приёма препарата в течение 3–4 ч, что было расце-

ТАБЛИЦА 5
ДИНАМИКА ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
В ХОДЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 5
DYNAMICS OF VITAL SIGNS DURING THE STUDY

Параметры	Референтные значения	Контрольные точки	M	σ	min	max
САД, мм рт. ст.	110-135	День 1	128,2	7,47	115	145
		День 6	126,45	7,24	110	139
		День 11	125,3	8,09	104	138
		День 24	126,0	7,28	115	139
ДАД, мм рт. ст.	60-85	День 1	79,15	5,58	70	90
		День 6	78,8	7,61	65	94
		День 11	77,6	7,88	64	94
		День 24	77,1	6,82	64	93
ЧСС, уд/мин	60-90	День 1	75,6	11,55	64	89
		День 6	73,05	8,15	49	102
		День 11	73,95	8,89	56	90
		День 24	74,3	8,93	55	92
ЧДД, дыхательных движений/мин	до 22	День 1	16,05	0,94	14	18
		День 6	16,2	1,06	14	18
		День 11	15,9	0,85	14	18
		День 24	16,4	1,05	14	18
ТТ, °С	35,5-36,9	День 1	36,19	0,24	35,8	36,7
		День 6	36,26	0,33	35,7	36,8
		День 11	36,26	0,36	35,5	36,8
		День 24	36,16	0,42	35,0	36,7

Примечание. M – среднее значение; σ – стандартное отклонение; min – минимум; max – максимум.

нено исследователями как состояния, связанные с применением препарата. НЯ имели лёгкую степень тяжести. Клинических проявлений аллергических реакций, таких как крапивница, сыпь, анафилактические реакции, при применении препарата зафиксировано не было.

Таким образом, полученные данные о профилактическом применении Тимогена спрей 2 раза в сутки в течение 10 дней свидетельствуют об удовлетворительной переносимости препарата, его безопасности и отсутствии негативного влияния на основные жизненно важные показатели.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам, полученным в ходе выполнения научно-исследовательской работы, выявлено статистически значимое увеличение вирус-индуцированной продукции IFN- α суточной культурой клеток периферической крови после 10 дней приёма Тимогена и продолжа-

ющийся рост этого показателя ещё в течение 14 дней после окончания курса. Следовательно, профилактическое использование препарата Тимоген спрей позволяет увеличить способность клеток периферической крови вырабатывать IFN- α в ответ на воздействие вирусного патогена непосредственно в период приёма препарата, а также ещё как минимум в течение 2 недель после. Этот механизм биологической активности следует считать эффективным при профилактике и лечении респираторных вирусных инфекций любой этиологии и особенно тех, иммунопатогенез которых сопровождается угнетением синтеза эндогенного интерферона, в частности COVID-19.

В исследовании показано, что сывороточные уровни IFN- α и IFN- γ в течение всего периода исследования оставались на фоновом уровне.

Полученные результаты на здоровых добровольцах согласуются с результатами проведённых ранее исследований, в которых показано, что Тимоген не обладает способностью к стимуляции значительного количества эндогенного интерферона, что связано с его меха-

низмом действия, и является, скорее, регулятором данного процесса, причём в большей степени на фоне первичной антигенной индукции [18].

Другие авторы отмечают, что Тимоген является индуктором выработки эндогенного интерферона, преимущественно альфа- и бета-фракций. Так, в исследовании *in vivo* Тимоген вводили подкожно белым мышам и оценивали уровень интерферона в сыворотке крови, лёгких и мозге [19]. Согласно полученным результатам, уже через 2 часа концентрация IFN в сыворотке достигала 10–20 МЕ/мл, сохранялась до 4 ч и снижалась до нуля через сутки после введения препарата.

Вероятнее всего, различные выводы связаны с разницей во времени оценки выработки эндогенного интерферона – в первые сутки и в отдалённый период, – которые при нормальном течении инфекционного процесса подвержены значительным изменениям, а также с типом изучаемого объекта – животные или человек. В ряде наблюдений при изучении лекарственных препаратов эффекты у животных нередко не повторяют эффекты у человека.

Статистически значимых изменений бактерицидной активности нейтрофильных гранулоцитов, а также фагоцитарной активности нейтрофилов у здоровых добровольцев в ходе исследования не отмечено, что говорит о том, что при отсутствии инфекционного агента препарат не меняет фоновые значения, не вызывает гиперактивацию защитных факторов иммунитета, активируясь только в присутствии патогена.

Следует отметить, что есть научные работы, подтверждающие высокую местную противовирусную активность Тимогена спреями за счёт антисептического действия при подавлении инфекционности вируса SARS-CoV-2 [20] у больных коронавирусной инфекцией. Также в ранее проведённых исследовательских работах, посвящённых изучению динамики иммунологических параметров, у пациентов было выявлено, что на фоне острых инфекционных заболеваний, то есть в условиях преформированного воздействия патогена, или других острых состояний применение Тимогена способствовало более быстрому восстановлению сниженной бактерицидной активности нейтрофилов, определяемой с помощью НСТ-теста. Это было показано для пациентов с тяжёлой механической травмой в сравнении с больными, получавшими традиционное лечение [21], а также для больных хроническими пиодермиями [22]. В отношении фагоцитоза в предшествующих работах были получены данные о стимулирующем действии Тимогена у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом [23].

В ходе работы также показано, что профилактическое применение препарата Тимоген в форме спрея 2 раза в сутки в течение 10 дней не оказывало значимого влияния на основные жизненно важные показатели организма. Выявленные НЯ имели лёгкую степень тяжести и разрешались самостоятельно. Аллергических реакций на применение препарата зафиксировано не было. Также не было эпизодов отмены препарата по инициативе исследователей и субъектов исследования. Полученные данные подтверждают хорошую переносимость и безопасность Тимогена при его профилактическом применении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования было выявлено статистически значимое увеличение вирус-индуцированной продукции INF-α суточной культурой клеток периферической крови у здоровых добровольцев. Зафиксированный эффект от применения препарата Тимоген, спрей назальный дозированный сохранялся в течение всего периода его приёма – 10 дней – и спустя 14 дней после окончания курса. В ходе исследования не было зарегистрировано статистически значимых изменений бактерицидной активности нейтрофильных гранулоцитов (включая спонтанную и индуцированную бактерицидность), а также фагоцитарной активности нейтрофилов (в том числе фагоцитоза нейтрофилов, завершённости фагоцитоза и индекса фагоцитоза). Полученные данные о способности препарата Тимоген активировать реакции врождённого иммунитета, задействуя систему IFN, заслуживают внимания и продолжения изучения механизмов его действия.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Biron CA. Innate immunity. In: Katze MG, Korth MJ, Law GL, Nathenson N (eds). *Viral pathogenesis – From basics to systems biology*. London: Academic Press; 2016: 41–55.
2. Bourdon M, Manet K, Montagutelli X. Host genetic susceptibility to viral infections: The role of type I interferon induction. *Genes Immun*. 2020; 21: 365–379. doi: 10.1038/s41435-020-00116-2
3. Sun L, Wang X, Saredy J, Yuan Z, Yang X, Wang H. Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. *Redox Biol*. 2020; 37: 101759. doi: 10.1016/j.redox.2020.101759
4. Rungelrath V, Kobayashi SD, DeLeo FR. Neutrophils in innate immunity and systems biology-level approaches. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2020; 12(1): e1458. doi: 10.1002/wsbm.1458
5. Chen Y, Lu D, Churov A, Fu R. Research progress on NK cell receptors and their signaling pathways. *Mediators Inflamm*. 2020; 2020: 6437057. doi: 10.1155/2020/6437057
6. Bojang E, Ghuman H, Kumwenda P, Hall RA. Immune sensing of *Candida albicans*. *J Fungi (Basel)*. 2021; 7(2): 119. doi: 10.3390/jof7020119
7. Huang Y, Huai D, Ke R. Principles of effective and robust innate immune response to viral infections: A multiplex network analysis. *Front Immunol*. 2019; 10: 1736. doi: 10.3389/fimmu.2019.01736
8. Silin DS, Lyubomska OV, Ershov FI, Frolov VM, Kutsyna GA. Synthetic and natural immunomodulators acting as interferon inducers. *Curr Pharmaceut Design*. 2009; 15(11): 1238–1247. doi: 10.2174/138161209787846847
9. Gonzalez-Navajas JM, Lee J, David M, Raz E. Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nat Rev Immunol*. 2012; 12: 125–135. doi: 10.1038/nri3133

10. Chiale C, Greene TT, Zuniga EI. Interferon induction, evasion, and paradoxical roles during SARS-CoV-2 I. *Immunol Rev*. 2022; 309(1): 12-24. doi: 10.1111/imir.13113
11. Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J. Presence of genetic variants among young men with severe COVID-19. *JAMA*. 2020; 324: 663-673. doi: 10.1001/jama.2020.13719
12. Rebl A, Goldammer T. Under control: The innate immunity of fish from the inhibitors' perspective. *Fish Shellfish Immunol*. 2018; 77: 328-349. doi: 10.1016/j.fsi.2018.04.016
13. Mifsud EJ, Kuba M, Barr IG. Innate immune responses to influenza virus infections in the upper respiratory tract. *Viruses*. 2021; 13: 2009. doi: 10.3390/v13102090
14. Цыган В.Н., Новик А.А., Дулатова Н.Х., Жоголев К.Д., Козлов В.К., Зубов Н.Н. *Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции*. СПб.: Издательство ВМА; 2001. [Tsygan VN, Novik AA, Dulatova NK, Zhogolev KD, Kozlov VK, Zubov NN. *Chronic fatigue syndrome and immune dysfunction*. Saint Petersburg: Izdatelstvo VMA; 2001. (In Russ.)].
15. Арцимович Н.Г., Глушина Т.С. *Синдром хронической усталости*. М.: Научный мир; 2002. [Artsimovich NG, Glushina TS. *Chronic fatigue syndrome*. Moscow: Nauchnyi mir; 2002. (In Russ.)].
16. Chen X, Shen Y, Wu M, Zhao J. IRF3 from mandarin fish thymus initiates interferon transcription. *Fish Physiol Biochem*. 2019; 45: 133-144. doi: 10.1007/s10695-018-0543-8
17. Pandey R, Dikhit MR, Kumar A, Dehury B, Pandey K, Topno RK, et al. Evaluating the immunomodulatory responses of LdODC-derived MHC Class-II restricted peptides against VL. *Parasite Immunol*. 2020; 42(4): e12699. doi: 10.1007/s10695-018-0543-8
18. Смирнов В.С., Селиванов А.А. *Биорегуляторы в профилактике и лечении гриппа*. СПб.: Наука; 1996. [Smirnov VS, Selivanov AA. *Bioregulators in the prevention and treatment of influenza*. Saint Petersburg: Nauka; 1996. (In Russ.)].
19. Шульдяков А.А., Ляпина Е.П., Соболева Л.А., Романцов М.Г., Перминова Т.А., Кузнецов В.И., и др. Использование индукторов интерферона в клинике инфекционных болезней. *Антибиотики и химиопрофилактика*. 2016; 63: 3-4. [Shuldyakov AA, Lyapina EP, Soboleva LA, Romantsov MG, Perminova TA, Kuznetsov VI, et al. The use of interferon inducers in an infectious disease clinic. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2016; 63(3-4): 28-36. (In Russ.)].
20. Ленева И.А., Смирнов В.С., Кудрявцева Т.А., Файзулов Е.Б., Грачева А.В., Карташова Н.П., и др. Местная противовирусная активность препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный, в отношении коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro*. *Антибиотики и Химиотерапия*. 2021; 66(5-6): 11-16. [Leneva IA, Smirnov VS, Kudryavtseva TA, Fayzuloev EB, Gracheva AV, Kartashova NP, et al. Local antiviral activity of the drug «Thymogen®», nasal dosed spray, against SARS-CoV-2 coronavirus *in vitro*. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66(5-6): 11-16. (In Russ.)]. doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-11-16
21. Смирнов В.С., Зарубаев В.В., Петленко С.В. *Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ*. СПб.: Гиппократ; 2020. [Smirnov VS, Zarubaev VV, Petlenko SV. *Biology of pathogens and control of influenza and acute respiratory viral infection*. Saint Petersburg: Gippokrat; 2020. (In Russ.)].
22. Родионов А.Н., Хавинсон В.Х., Барбинов В.В. Иммунокорректирующая терапия пиодермий, обусловленных стафилококками, полирезистентными к антибиотикам. *Вестник дерматологии и венерологии*. 1990; 1: 42-45. [Rodionov AN, Khavinson VK, Barbinov VV. Immunocorrective therapy for pyoderma caused by staphylococci multiresistant to antibiotics. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 1990; 1: 42-45. (In Russ.)].
23. Пинелис И.С., Кузник Б.И., Пинелис Ю.И. Особенности биорегулирующей терапии стоматологических заболеваний. *Забайкальский медицинский вестник*. 2019; 1: 173-186. [Pinelis IS, Kuznik BI, Pinelis Yul. Features of bioregulatory therapy of dental diseases. *The Transbaikalian Medical Bulletin*. 2019; 1: 173-186. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Рудева Анна Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела вакцинопрофилактики и поствакцинальной патологии, ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России, e-mail: ruleanna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5888-6313>

Краснов Алексей Александрович – доктор медицинских наук, доцент кафедры медико-валеологических дисциплин, ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», e-mail: dr.krasnov_28@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8732-6390>

Петленко Сергей Викторович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», e-mail: petlenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2752-4598>

Заплутанов Василий Андреевич – научный сотрудник лаборатории химии пептидов отдела биогеронтологии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», e-mail: vasily@zaplutanov.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5294-6533>

Апратина Вера Анатольевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейробиологии и молекулярной фармакологии, Институт трансляционной биомедицины, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: vera1577@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9819-6835>

Information about the authors

Anna A. Ruleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Vaccinal Prevention and Postvaccinal Pathology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Federal Medical Biological Agency, e-mail: ruleanna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5888-6313>

Alexey A. Krasnov – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of the Medical Valeological Subjects, Herzen State Pedagogical University, e-mail: dr.krasnov_28@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8732-6390>

Sergey V. Petlenko – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer, Golikov Research Center of Toxicology, e-mail: petlenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2752-4598>

Vasily A. Zaplutanov – Research Officer at the Laboratory of Peptide Chemistry of the Department of Biological Gerontology, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, e-mail: vasily@zaplutanov.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5294-6533>

Vera A. Apryatina – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Neurobiology and Molecular Pharmacology, Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, e-mail: vera1577@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9819-6835>

ГРИПП У ДЕТЕЙ: КЛИНИЧЕСКИЕ, ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ПАРАМЕТРЫ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ

Казанцева Е.Д.,
Петрова А.Г.,
Даренская М.А.,
Москалева Е.В.,
Рычкова Л.В.,
Семенова Н.В.

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

Автор, ответственный за переписку:
Казанцева Екатерина Дмитриевна,
e-mail: kat.smile7@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Болезни органов дыхания занимают ведущее место в структуре патологии детского возраста. Удельный вес гриппа и острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ) среди всех инфекционных болезней составляет 90 %. В литературе описаны гендерные различия в иммунном ответе при респираторных инфекциях у детей, однако существует пробел в описании цитокинового профиля у детей с гриппом.

Цель исследования. Провести анализ клинических и лабораторных показателей, а также параметров цитокинового профиля у детей с гриппом.

Материал и методы. Проведено одномоментное сравнительное исследование с участием 50 детей от 1 года до 11 лет с диагнозом грипп, которые находились на стационарном лечении в ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» с декабря 2018 по январь 2019 г. Определялись клинические, лабораторные особенности течения гриппа у детей, продолжительность лечения. Концентрация цитокинов интерлейкина (IL) 1 β , IL-4, IL-6, IL-8, фактора некроза опухоли α (TNF- α , tumor necrosis factor α), интерферона (INF) α , INF- γ и высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) в плазме крови определялась методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностических тест-систем производства «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на анализаторе Мультикан EX (Thermo Electron, Германия). Контрольную группу составляли практически здоровые дети без признаков ОРВИ ($n = 50$; средний возраст $5,3 \pm 2,6$ года).

Результаты. При сравнении клинико-лабораторных данных и параметров цитокинового профиля у детей с гриппом гендерных различий не выявлено. Отмечается статистически значимое повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , INF- α , а также СРБ, противовоспалительного цитокина IL-4 при гриппе во всех возрастных категориях, в отличие от контрольной группы ($p < 0,05$).

Заключение. Грипп у детей разного пола протекает классически без статистической разницы в клинико-лабораторных показателях и в уровне цитокинов.

Ключевые слова: грипп, клиническая картина, цитокины, дети

Статья поступила: 22.07.2023

Статья принята: 11.12.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Даренская М.А., Москалева Е.В., Рычкова Л.В., Семенова Н.В. Грипп у детей: клинические, лабораторные показатели и параметры цитокинового профиля. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 41-50. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.5

FLU IN CHILDREN: CLINICAL, LABORATORY INDICATORS AND CYTOKINE PROFILE PARAMETERS

Kazantseva E.D.,
Petrova A.G.,
Darenskaya M.A.,
Moskaleva E.V.,
Rychkova L.V.,
Semenova N.V.

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

Corresponding author:
Ekaterina D. Kazantseva,
e-mail: kat.smile7@yandex.ru

ABSTRACT

Introduction. Respiratory diseases occupy a leading place in the structure of pathology of childhood. The proportion of influenza and acute respiratory viral infections among all infectious diseases is 90 %. The literature describes gender differences in the immune response to respiratory infections in children, but there is a gap in the description of the cytokine profile in children with influenza depending on gender and age.

The aim. To analyze clinical and laboratory parameters as well as cytokine profile parameters in children with influenza.

Materials and methods. A single-stage descriptive study was conducted with the participation of 50 children from 1 to 11 years of age with a diagnosis of influenza who were on inpatient treatment at the Irkutsk Regional Infectious Diseases Clinical Hospital from December 2018 to January 2019. The clinical and laboratory features of the course of influenza in children, the duration of treatment were determined. The concentration of cytokines interleukin (IL) 1 β , IL-4, IL-6, IL-8, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interferon alpha and gamma (INF- α , INF- γ) in blood plasma was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using diagnostic test systems manufactured by Vector-Best (Novosibirsk, Russian Federation) on the analyzer Multiscan EX (Thermo Electron, Germany). The control group consisted of practically healthy children without signs of acute respiratory viral infection ($n = 50$; mean age 5.3 ± 2.6 years).

Results. When comparing clinical and laboratory data and cytokine profile parameters in children with influenza, no gender differences were found. There was a statistically significant increase in the level of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , INF- α , as well as CRP, anti-inflammatory cytokine IL-4 in influenza in all age categories, in contrast to the control group ($p < 0.05$).

Conclusion. Influenza in children of different sexes proceeds classically without a statistical difference in clinical and laboratory parameters and in the level of cytokines.

Key words: flu, clinic, cytokines, children

Received: 22.07.2023
Accepted: 11.12.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Kazantseva E.D., Petrova A.G., Darenskaya M.A., Moskaleva E.V., Rychkova L.V., Semenova N.V. Flu in children: Clinical, laboratory indicators and cytokine profile parameters. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 41-50. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.5

ВВЕДЕНИЕ

Из всей этиологически многообразной группы респираторных вирусных инфекций более серьёзную проблему представляет грипп, который остаётся неконтролируемой глобальной инфекцией, наносящей колоссальный социально-экономический ущерб. По оценке Всемирной организации здравоохранения, гриппом и респираторными заболеваниями ежегодно в мире болеют 100 млн человек (от 5 до 30 % населения земного шара). По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, экономические потери от гриппа и острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ) составляют 86 % от всего ущерба, наносимого инфекционными болезнями. Величину ущерба, наносимого гриппом и гриппоподобными инфекциями здоровью населения и экономике любой страны, можно сравнить с таковыми для травматизма, сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных новообразований [1].

Маркерами тяжёлого течения пандемического гриппа АН1N1pdm09 у подростков и взрослых людей является повышение в крови концентрации цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α (TNF- α , tumor necrosis factor α) и интерлейкин (IL) 6 [2]. Также при пандемическом гриппе, осложнённом пневмонией, но в детском возрасте, наблюдается повышенный синтез противовоспалительных медиаторов и снижена концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α [3]. Этим же маркерам отводится ведущая роль в развитии цитокинового шторма у больных гриппом [4, 5].

У детей с избыточной массой тела описаны более высокие концентрации IL-6 в плазме крови и TNF- α в образцах носоглоточных смывов [6, 7]. У этих детей также более высокая заболеваемость и смертность при гриппе и высокий риск развития вторичных бактериальных инфекций [8].

Отмечается одинаковый характер секреции провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6 при гриппе А и В у детей. При гриппе, вызванном вирусом гриппа А, наблюдается продукция цитокинов с преобладанием Th2-воспаления; особенно повышена продукция IL-4, чего нельзя отметить при гриппе В [9].

Существует неодинаковое мнение разных авторов в отношении того, какой вариант вируса гриппа – сезонный или пандемический – преобладает в детском возрасте. Одни авторы пишут, что сезонный грипп чаще вызывает заболевание у детей до 2 лет: особенно тяжело протекает инфекция у детей до 6-месячного возраста; пандемический грипп, наоборот, чаще поражает детей дошкольного возраста, встречается чаще у детей старше 5 лет [10]. Другие авторы отмечают обратное: пандемический вариант гриппа статистически значимо чаще отмечается у детей первого года жизни, сезонный вариант – у детей младшего школьного возраста [11].

Грипп имеет среднетяжёлую форму у детей раннего возраста, и лишь в 16 % случаев отмечено тяжёлое течение заболевания. Из симптомов преобладают катаральное воспаление верхних дыхательных путей и интоксикационный синдром [12].

В клинической картине гриппа у детей встречается ацетонемический синдром – в 26,3 % случаев, а также единичные случаи нейротоксикоза и геморрагического синдрома [13, 14].

На сегодняшний день доказано, что грипп типа А, в особенности подтип вируса, содержащий нейраминидазу N2, связан с более тяжёлым течением инфекции, чаще осложняется присоединением вторичной бактериальной инфекции [15, 16].

При респираторных вирусных инфекциях в механизмы поддержания нарушений гомеостатических процессов активно включается окислительный стресс; при этом антиоксидантные препараты, такие как витамин С, N-ацетилцистеин, кверцетин, глутатион, жирорастворимые витамины и полиненасыщенные жирные кислоты, хорошо себя зарекомендовали в клинических исследованиях при гриппе, пневмонии и других респираторных заболеваниях [17, 18].

У лиц мужского пола отмечается более высокий уровень синтеза провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и TNF- α ; у лиц женского пола – высокий уровень синтеза противовоспалительного цитокина IL-10. Гендерные различия в иммунном ответе связывают с гормональным фактором. Высказываются предположения о том, что защита женщин от инфекций связана с провоспалительным эффектом эстрадиола, при этом восприимчивость мужчин к инфекциям связана с иммуносупрессией благодаря эффектам тестостерона, возможно, с участием специфических рецепторов [19].

Наблюдается существенная разница между девочками и мальчиками в концентрации С-реактивного белка (СРБ), скорости оседания эритроцитов (СОЭ), нейтрофилов при воспалительных процессах у детей с пневмонией, пиелонефритом, бронхолитом [20].

В настоящее время имеется ограниченное количество работ, посвящённых изучению параметров цитокинового профиля у детей с гриппом; недостаточно сведений и о гендерных различиях при острых респираторных вирусных инфекциях у детей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ клинических и лабораторных показателей, а также оценку параметров цитокинового профиля у детей с гриппом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное сравнительное исследование с участием 50 детей в возрасте от 1 года до 11 лет, которые с декабря 2018 по январь 2019 г. находились на стационарном лечении в ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» с диагнозом грипп.

Распределение детей по возрастным группам проводилось по периодизации детского возраста с использованием схемы Н.П. Гундобина: раннее детство – от 1 до 3 лет; дошкольный возраст, среднее детство

или 1-й период детства – от 3 до 7 лет; младший школьный возраст, старшее детство или 2-й период детства – девочки от 7 до 11 лет, мальчики от 7 до 12 лет.

Анализ клинических особенностей течения гриппа у детей проводился с учётом длительности заболевания, количества дней пребывания в стационаре, основного и сопутствующего диагнозов, наличия осложнений, исхода заболевания, наличия в анамнезе вакцинопрофилактики гриппа. Клиническая картина оценивалась по предъявляемым жалобам, наличию, характеру и длительности симптомов ринита, кашля, интоксикации (вялость, отказ от еды, тошнота или рвота на пике лихорадки, общая слабость, нарушение сна) и лихорадки (учитывалось повышение температуры тела от 37,2 до 38,0 °C – субфебрильная лихорадка; от 38,1 до 39,0 °C – фебрильная лихорадка; от 39,1 до 40,0 °C – пиретическая лихорадка), другим клиническим проявлениям (сыпь, судороги, боль в горле, головная, мышечная боли), отклонениям лабораторных показателей общего и биохимического анализов крови и общего анализа мочи при поступлении, объёму и продолжительности инфузионной, противовирусной и антибактериальной лекарственной терапии в течение всего заболевания.

Определение концентрации высокочувствительного СРБ и цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, TNF- α , INF- α , INF- γ в сыворотке крови проводилось методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностических тест-систем производства «Вектор-Бест» (Новосибирск) на микропланшетном фотометре МультиканEX (Thermo Electron, Германия). Забор крови для определения уровня СРБ и цитокинов проводили в первые 3 суток заболевания при поступлении в стационар. Основную группу составили дети с диагнозом грипп ($n = 50$), контрольную группу – 50 практически здоровых детей без признаков ОРВИ или спустя 14 дней после перенесённой острой вирусной инфекции (средний возраст детей – $5,3 \pm 2,6$ года). Протокол исследования был одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (выписка из протокола заседания № 8.4 от 02.11.2018).

Анализ и статистическая обработка информации проводились с помощью программы MS Excel (Microsoft Corp., США) и прикладного пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Подсчёт доверительного интервала с уровнем значимости 95 % (95% ДИ) для частот и долей производился онлайн-калькулятором на ресурсе Vassar Stats: Website for Statistical Computation¹. Качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных величин (P), количественные признаки представлены с указанием медианы (Me) и 25-го и 75-го квартилей (Q_{25} – Q_{75}). При анализе качественных признаков проводилась оценка относительной частоты признака (распространённость) P и 95% ДИ. Статистическая значимость межгрупповых различий по качественным признакам оценивалась с помощью критерия χ^2 : при $P_{\text{абс.}} < 10$ – с поправкой Йетса, при $P_{\text{абс.}} < 5$ – с использованием двустороннего точного критерия Фишера. Статистическая значимость двух несвязанных групп

оценивалась по критерию Манна – Уитни (U-test). Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез о существовании различий показателей между группами (p) принят равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследуемой группе распределение по полу было почти равным: доля мальчиков составила 52 % ($n = 26$), девочек – 48 % ($n = 24$). Средний возраст детей – $3 \pm 2,6$ года.

Диагноз гриппа лабораторно верифицирован методом полимеразной цепной реакции комплексной диагностикой с типированием штаммов гриппа A/B у 96 % детей ($n = 48$) в группе исследования. В этиологической структуре преобладал серотип гриппа A H1N1sw2009: он определялся в 76 % случаев ($n = 38$). Второе место по частоте выявления занимает грипп AH3N2 – 16 % ($n = 8$). Клинически грипп А был зарегистрирован у 4 % пациентов ($n = 2$), микст-вирусная инфекция гриппа AH1N1 + респираторно-синцициальная инфекция – у 2 % ($n = 1$), микст-вирусная инфекция гриппа А H1N1 + бока-вирусная инфекция – у 2 % ($n = 1$).

Наряду с основным диагнозом учитывалась сопутствующая патология: острая кишечная инфекция (рота-норвирусной этиологии) – в 16 % случаев ($n = 8$), атопический дерматит – в 2 % ($n = 1$), гипохромная анемия – в 6 % ($n = 3$). Осложнения основного заболевания регистрировались у 30 % пациентов ($n = 15$): синдром ацетонемической рвоты или синдром кетоацидоза – у 12 % ($n = 6$), пневмония – у 16 % ($n = 8$), острый обструктивный бронхит – у 2 % ($n = 1$).

Средняя длительность госпитализации детей в стационаре составила $5 \pm 1,6$ дня. При анализе прививочного анамнеза удалось установить, что вакцинопрофилактика гриппа проводилась в 16 % случаев ($n = 8$), не вакцинировались от гриппа 72 % заболевших ($n = 36$), у 12 % пациентов ($n = 6$) сведения о вакцинации отсутствовали.

Клинические особенности течения гриппа у детей оценивались по наличию жалоб и данных объективного осмотра. Распространённость жалоб и клинических проявлений в группе исследования были следующими: гиперемия зева – 96 % ($n = 48$), ринорея – 66 % ($n = 33$), кашель – 84 % ($n = 42$), боль в горле и боль при глотании – 6 % ($n = 3$), боль в животе и жидкий стул – 8 % ($n = 4$), синдром интоксикации – 38 % ($n = 19$), в том числе повышение температуры тела – 92 % ($n = 46$), вялость, сонливость – 44 % ($n = 22$), слабость – 34 % ($n = 17$), рвота – 28 % ($n = 14$), снижение аппетита – 26 % ($n = 13$), головная боль – 8 % ($n = 4$), судороги – 4 % ($n = 2$), боль в ушах и головокружение – в единичных случаях, мышечная и суставная боль ни у кого не отмечалась. При описании характера и продолжительности респираторных симптомов установлено, что у детей с диагнозом грипп преобладали: слизистый насморк – 72 % ($n = 36$) с длительностью проявлений $5 \pm 2,48$ дня; кашель сухой – 84 % ($n = 42$) и влажный – 6 % ($n = 3$). Медиана лихорадки составила $38,5 \pm 0,68^\circ$, длительность лихорадки – $2 \pm 1,45$ дня.

Клиника гриппа у детей соответствует классической картине: преобладают слизистый насморк, сухой кашель,

¹ <http://vassarstats.net/>

лихорадка, гиперемия зева в 96 % случаев. Статистические различия в зависимости от пола ребенка не выявлены как по распространённости клинических проявлений (табл. 1), так и по продолжительности основных симптомов (табл. 2).

При сравнении основных гематологических и биохимических показателей крови и мочи у детей при гриппе также не выявлены различия между гендерными группами (табл. 3).

В эпидемический сезон 2009 г., по данным исследований С.А. Чаваниной и соавт. (2011), среди особенностей сезонного гриппа было отмечено, что больные в 25 % случаев госпитализировались на 6–9-е сутки от начала заболевания, часто на фоне уже развившихся осложнений. Высота лихорадки была больше у детей, больных сезонным гриппом АН1N1 (в среднем 39,2 °С против 37,9 °С – при пандемическом гриппе АН1N1sw2009); выраженную интоксикацию и геморрагический синдром статистически значимо чаще регистрировали при сезонном гриппе АН1N1 [21]. При анализе гематологических изменений была выявлена большая частота лейкоцитоза у пациентов с гриппом АН1N1 (33,3 %) [22], мы же в своём исследовании получили данные о том, что лейкоцитоз у детей с гриппом наблюдался в 6 % случаев, синдром ускоренного СОЭ – в 42 % случаев.

Длительность инфузионной, противовирусной и антибактериальной терапии при гриппе у детей разных полов не имела различий. Все госпитализированные дети выписались с выздоровлением.

Определение концентрации цитокинов и высокочувствительного СРБ у детей с гриппом в первые дни госпитализации проводилось в сравнении с группой здоровых детей, стандартизированной методом «копия – пара». В основе метода лежит подбор для каждой единицы наблюдения исследуемой группы по одному или нескольким признакам, в данном случае – по полу, возрасту; этот способ отбора целесообразно применять для изучения редких явлений. Уровни исследуемых параметров цитокинового профиля и СРБ у здоровых детей находились в диапазоне референсных значений в соответствии с инструкцией производителя тест-систем: СРБ < 5 pg/ml; IL-1β < 11 pg/ml; IL-4 < 4 pg/ml; IL-6 < 10 pg/ml; IL-8 < 12 pg/ml; TNF-α < 6 pg/ml; INF-α < 11 pg/ml; INF-γ < 20 pg/ml. При этом в сыворотке детей с гриппом концентрации IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α, INF-α, INF-γ и СРБ значительно превышали верхнюю границу диапазона.

В ряде литературных источников представлены возрастные и половые различия уровней про- и противовоспалительных цитокинов у детей, что важно учитывать при интерпретации параметров цитокинового статуса [2, 21, 23].

ТАБЛИЦА 1
ОСНОВНЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ СИМПТОМЫ У ДЕТЕЙ
С ГРИППОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА (n = 50)

Показатели	Грипп А, мальчики (n = 26)	Грипп А, девочки (n = 24)	P (точный критерий Фишера)
Слизистый ринит	19 (73 %)	17 (70,8 %)	0,554
Сухой кашель	17 (65,4 %)	19 (79,2 %)	0,222
Лихорадка	15 (57,7 %)	22 (91,6 %)	0,539
Интоксикация	10 (38,5 %)	9 (37,5 %)	0,588
Гиперемия зева	25 (96,2 %)	23 (95,8 %)	0,734
Сонливость, вялость	11 (42,3 %)	11 (45,8 %)	0,513
Слабость	9 (34,6 %)	8 (33,3 %)	0,581
Рвота	6 (23,1 %)	7 (29,2 %)	0,433

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

TABLE 1
MAIN CLINICAL SYMPTOMS IN CHILDREN
WITH INFLUENZA DEPENDING ON THE SEX (n = 50)

ТАБЛИЦА 2
ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ОСНОВНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ С ГРИППОМ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА

Длительность симптомов (дни)	Грипп А, мальчики (n = 26) Me (Q25; Q75)	Грипп А, девочки (n = 24) Me (Q25; Q75)	p (U-test)
Ринит	5 (3; 6)	5 (1,5; 5)	0,302
Кашель	5 (4; 6)	5 (4; 7)	0,380
Лихорадка	2 (2; 4,25)	2 (1; 3)	0,482

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

TABLE 2
DURATION OF THE MAIN CLINICAL INDICATORS
IN CHILDREN WITH INFLUENZA DEPENDING ON THE SEX

ТАБЛИЦА 3
ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДЕТЕЙ С ГРИППОМ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА

TABLE 3
LABORATORY PARAMETERS IN CHILDREN
WITH INFLUENZA DEPENDING ON THE SEX

Показатели	Грипп А, мальчики (n = 26) Me (Q25; Q75)	Грипп А, девочки (n = 24) Me (Q25; Q75)	p (U-test)
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,35 (4,06; 4,70)	4,36 (4,07; 4,79)	0,917
Гемоглобин, г/л	120 (113,00; 127,00)	120 (113,25; 127,00)	0,796
Тромбоциты, $\times 10^9$	226 (191,75; 250,75)	226 (187,25; 252,25)	0,358
Лейкоциты, $\times 10^9$	3,57 (2,73; 5,00)	3,59 (2,74; 4,93)	0,796
Палочкоядерные нейтрофилы, $\times 10^9$	1,84 (0,98; 3,34)	1,84 (0,98; 3,16)	0,876
Сегментоядерные нейтрофилы, $\times 10^9$	0,84 (0; 2,27)	0,00 (0,00; 1,37)	0,515
Лимфоциты, $\times 10^9$	1,32 (1,08; 1,89)	1,32 (1,09; 1,88)	0,764
Моноциты, $\times 10^9$	0,43 (0,34; 3,00)	0,48 (0,34; 3,00)	0,287
Эозинофилы, $\times 10^9$	0,03 (0,01; 0,06)	0,03 (0,01; 0,07)	0,392
СОЭ, мм/ч	12 (5,00; 19,00)	12 (5,00; 19,00)	0,179
СРБ, мг/л	17,10 (3,87; 18,30)	15,10 (5,57; 18,10)	0,926
Общий белок, г/л	67,10 (60,25; 70,93)	67,60 (60,63; 70,98)	0,983
Глюкоза, ммоль/л	4,02 (3,52; 4,58)	4,02 (3,54; 4,49)	0,664
АСТ, Ед/л	51,25 (38,15; 68,38)	51,25 (38,36; 67,53)	0,529
АЛТ, Ед/л	15,25 (10,95; 21,25)	15,25 (10,85; 20,95)	0,860
Креатинин, мкмоль/л	44,9 (41,12; 53,15)	45,35 (41,33; 53,25)	0,278
Мочевина, ммоль/л	1,53 (0,00; 3,86)	1,53 (0,00; 3,79)	0,967
Амилаза, Ед/л	0 (0,00; 34,30)	0 (0,00; 35,10)	0,332
Удельный вес мочи, г/л	1020 (1013,75; 1020,00)	1020 (1015; 1020)	0,470
Кетоны в моче, мг/дл	0 (0,00; 0,50)	0 (0,00; 0,50)	0,489

Примечание. АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

ТАБЛИЦА 4
УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ С ГРИППОМ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА

TABLE 4
CYTOKINES WITH INFLUENZA
DEPENDING ON THE SEX

Концентрация цитокинов (пг/мл)	Грипп А, мальчики (n = 26) Me (Q25; Q75)	Грипп А, девочки (n = 24) Me (Q25; Q75)	p (U-test)
IL-1 β	8,10 (3,25; 12,45)	8,30 (2,75; 21,80)	0,853
IL-4	3,80 (1,95; 6,60)	3,2 (1,92; 4,45)	0,593
IL-6	18,30 (13,42; 32,77)	22,50 (14,20; 41,82)	0,509
IL-8	157,55 (72,02; 233,17)	183,70 (102,85; 287,30)	0,361
TNF- α	2,25 (1,70; 4,03)	2,55 (1,30; 4,52)	0,961
IFN- α	27,35 (4,90; 54,80)	21,4 (13,75; 59,03)	0,838
IFN- γ	1,60 (0,85; 5,50)	1,2 (0,35; 3,17)	0,289

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Анализ уровня цитокинов при гриппе у детей разного пола не выявил статистически значимых различий (табл. 4).

ТАБЛИЦА 5

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ И С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА У ДЕТЕЙ С ГРИППОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

TABLE 5

CYTOKINES AND CRP LEVELS IN CHILDREN WITH INFLUENZA DEPENDING ON THE AGE

Показатели	Грипп А, Ме (Q25; Q75)	p (U-test)
IL-1 β ¹	5,50 (12,89; 28,64)	0,614
IL-1 β ²	6,60 (9,29; 17,26)	0,159
IL-1 β ³	14,50 (23,85; 63,29)	0,299
IL-4 ¹	3,60 (1,95; 4,33)	0,470
IL-4 ²	3,35 (2,70; 5,02)	0,792
IL-4 ³	3,45 (1,86; 4,94)	0,760
IL-6 ¹	14,80 (28,59; 63,55)	0,626
IL-6 ²	18,90 (11,00; 20,43)	0,278
IL-6 ³	31,60 (44,40; 117,85)	0,215
IL-8 ¹	119,65 (88,71; 197,13)	0,581
IL-8 ²	199,24 (70,69; 131,32)	0,121
IL-8 ³	247,80 (76,87; 204,04)	0,161
TNF- α ¹	3,15 (3,15; 7,00)	0,277
TNF- α ²	1,75 (1,18; 2,20)	0,769
TNF- α ³	2,70 (15,69; 41,66)	0,117
IFN- γ ¹	2,55 (2,93; 6,51)	0,284
IFN- γ ²	1,20 (2,19; 4,07)	0,953
IFN- γ ³	1,40 (2,75; 7,31)	0,451
IFN- α ¹	31,85 (17,04; 37,86)	0,338
IFN- α ²	17,00 (43,39; 80,61)	0,364
IFN- α ³	45,75 (45,96; 121,99)	0,230
СРБ ¹	14,55 (5,615; 12,477)	0,322
СРБ ²	17,20 (5,84; 10,85)	0,953
СРБ ³	15,25 (5,95; 15,80)	0,439

Примечание. ¹ – возрастная категория детей от 1 года до 2 лет 11 мес. 29 дней ($n = 14$); ² – возрастная категория детей от 3 лет до 6 лет 11 мес. 29 дней ($n = 22$); ³ – возрастная категория детей от 7 до 11 лет включительно ($n = 14$); * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Анализ уровня цитокинов и СРБ при гриппе у детей разного возраста показал, что у детей младшего школьного возраста наблюдается повышенный синтез IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- α , в отличие от детей раннего возраста, однако статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 5).

У детей раннего возраста наблюдается повышенный синтез IL-4, TNF- α , IFN- γ , в отличие от детей дошкольного и младшего школьного возраста; статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 5).

У детей дошкольного возраста отмечается повышенный синтез СРБ, в отличие от детей других возрастных категорий; статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 5). Провоспалительные цитокины IL-1 β , IL-6, IL-8 и противовоспалительный IFN- α у детей с сезонным гриппом превышены в сыворотке крови в сравнении со здоровыми, при этом концентрация IL-6 статистически значимо увеличена во всех возрастных группах ($p < 0,05$). В возрастной группе 7–11 лет установлено более значимое увеличение, по сравнению с детьми раннего и дошкольного возраста в сыворотке крови: IL-1 β – 14,50 (23,85; 63,29) pg/ml, IL-8 – 247 (76,87; 204,04) pg/ml, IFN- α – 45,75 (45,96; 121,99) pg/ml. Возможно, такие результаты у детей школьного возраста можно объяснить как более эффективной реализацией функций фагоцитирующих нейтрофилов, так и более выраженной активностью воспаления. Увеличение в сыворотке крови интерлейкинов 1- β , IL-8 и INF- α некоторыми авторами рассценивается как неблагоприятные прогностические признаки в отношении развития пневмонии и её затяжного и осложнённого течения [21, 24, 25]. Интерпретация увеличения уровней провоспалительных цитокинов, по литературным данным, имеет противоречивый характер и в дальнейшем требует анализа взаимосвязи системных концентраций IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF- α с выраженностью и продолжительностью интоксикационного синдрома, особенностями течения гриппа.

Одним из ключевых цитокинов в реализации противовирусного и противоинфекционного иммунитета является IL-4, который осуществляет индукцию иммунного ответа по гуморальному пути. Клеточно-опосредованный Th1-тип ответа наиболее эффективен при вирусных инфекциях, поэтому при ряде заболеваний гиперпродукция IL-4 на фоне снижения IFN- γ рассценивается как неблагоприятный прогностический признак [26]. Вместе с тем есть исследование, в котором установлено, что повышение уровня противовоспалительного цитокина IL-4 является прогностически благоприятным при течении пневмонии у недоношенных новорождённых, в то время как увеличение TNF- α указывало на неблагоприятный исход заболевания [27]. При гриппе у детей мы выявили статистически значимое повышение IL-4 во всех возрастных группах, в отличие от группы контроля ($p < 0,05$). Уровень IFN- γ при гриппе у детей 2-й и 3-й возрастных групп был выше, чем у здоровых детей, а в раннем возрасте не имел статистически значимых различий в острый период гриппа, что позволяет предположить несостоятельность системы интерферонов у детей до 3 лет и может рассцениваться как снижение противовирусной защиты и как предиктор осложнённого, длительного течения вирусной инфекции в данной возрастной группе.

Анализ уровня СРБ как маркера острой фазы воспаления имеет большую диагностическую значимость при бактериальных инфекциях, а при вирусных заболеваниях повышение СРБ определяется реже, при этом значитель-

ное увеличение СРБ в сыворотке крови при гриппе может являться прогностически неблагоприятным признаком в отношении развития бактериальных осложнений.

Нами была исследована взаимосвязь параметров цитокинового статуса и СРБ у детей с гриппом в зависимости от наличия такого осложнения, как пневмония (табл. 6). В результате у детей с не осложнённым пневмонией гриппом выявлена положительная корреляционная связь между уровнями СРБ и IL-1 β , что свидетельствует об активности воспаления и своевременной активации факторов врождённого иммунитета. Отрицательная корреляционная связь между уровнями СРБ и IFN- γ у детей с гриппом без пневмонии даёт возможность говорить о недостаточности системы интерферона в детском возрасте в острую фазу вирусной инфекции.

Грипп с пневмонией у детей характеризовался статистически значимой прямой корреляционной связью между уровнями СРБ и IL-4, что свидетельствует о девиации дифференцировки Th0-лимфоцитов по CD4+/Th2-типу и является определяющим фактором, влияющим на степень тяжести клинических проявлений и исход гриппозной инфекции [28, 29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клинические проявления гриппа у детей в возрасте от 1 года до 11 лет, госпитализированных в инфекционный стационар, соответствуют классической картине: преобладают слизистый насморк, сухой кашель, лихорадка, гиперемия зева – в 96 % случаев. Осложнения основного заболевания регистрировались у 30 % пациентов ($n = 15$) в виде синдрома ацетонемической рвоты или синдрома кетоацидоза, пневмонии, обструктивного синдрома. У детей с гриппом в зависимости от половой принадлежности, распространённости клинических проявлений, продолжительности основных симптомов, дли-

тельности и интенсивности проведённой инфузионной, противовирусной и антибактериальной терапии статистически значимые различия не выявлены. Также по результатам анализа островоспалительных, общеклинических, биохимических показателей крови, мочи, параметров цитокинового профиля у детей при гриппе статистически значимые различия отсутствуют.

В проведённом исследовании установлены особенности цитокинового статуса у детей в острую фазу гриппа. Повышение концентрации СРБ, системного уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8 и противовоспалительного IFN- α при гриппе у детей во всех возрастных группах, особенно в возрасте 7–11 лет, требует в дальнейшем дополнительного анализа и выявления взаимосвязи уровня IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF- α с особенностями клинической картины, в частности с выраженностью интоксикационного синдрома, с целью определения степени влияния каждого из цитокинов на течение и исход гриппа в детском возрасте.

Отсутствие в раннем возрасте статистически значимых различий уровня IFN- γ в острый период вирусной инфекции в сравнении со здоровыми детьми настораживает в отношении риска длительного и осложнённого течения гриппа, особенно если снижение IFN- γ сопровождается повышенным уровнем IL-4. Статистически значимыми признаками осложнённого пневмонией течения гриппа в детском возрасте можно считать увеличение системного уровня IL-4 наряду с высокой концентрацией СРБ.

Выявленные особенности цитокинового статуса при гриппе у детей позволяют немного приблизиться к пониманию характера инфекционного процесса. Исследования в этом направлении необходимо продолжить, поскольку они будут иметь практическую значимость: определение маркеров неблагоприятного течения гриппа, разработка персонализированного подхода в терапии острых респираторных инфекций у детей в возрасте до 3 лет и своевременное назначение в про-

ТАБЛИЦА 6
КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ УРОВНЯМИ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА И ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ С ГРИППОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ОСЛОЖНЕНИЯ ПНЕВМОНИЕЙ

Цитокины	Дети с гриппом без осложнений ($n = 42$)		Дети с гриппом, осложнённым пневмонией ($n = 8$)	
	r	p	r	p
IL-1 β	0,309	0,008*	-0,142	0,735
IL-4	0,094	0,257	0,754	0,031*
IL-6	0,206	0,155	0,261	0,530
IL-8	0,217	0,123	0,428	0,289
TNF- α	0,265	0,088	0,144	0,732
IFN- α	-0,066	0,284	-0,595	0,119
IFN- γ	-0,477	0,001*	-0,239	0,567

Примечание. r – коэффициент корреляции Спирмена; p – статистическая значимость различий; * – различия статистически значимы ($p < 0,05$).

TABLE 6
CORRELATION BETWEEN THE LEVELS OF CRP AND CYTOKINES IN CHILDREN WITH INFLUENZA DEPENDING ON THE OCCURRENCE OF COMPLICATION WITH PNEUMONIA

филактических и терапевтических целях лекарственных средств на основе интерферона и его индукторов, а также разработка программ иммунореабилитации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Грипп и другие ОРВИ в период продолжающейся пандемии COVID 19: профилактика и лечение*. Методические рекомендации. М., 2022. [Influenza and other acute respiratory viral infections during the ongoing COVID-19 pandemic: Prevention and treatment. Guidelines. Moscow, 2022. (In Russ.)]
2. Иванов В.В., Шипилов М.В. Провоспалительные цитокины и их значение при гриппе pH1N1. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2012; 4: 70-72. [Ivanov VV, Shipilov MV. Inflammatory cytokines and their importance in influenza pH1N1. *Medical News of North Caucasus*. 2012; 4: 70-72. (In Russ.)]
3. Мироманова Н.А., Баранчугова Т.С. Клинико-эпидемиологический анализ течения высокопатогенного гриппа А H1N1 у детей Забайкальского края. *Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины: Материалы Х юбилейной научно-практической конференции молодых учёных*. СПб.; 2010: 187-188. [Miromanova NA, Baranchugova TS. Clinical and epidemiological analysis of the course of highly pathogenic influenza A H1N1 in children of the Transbaikalian region. *Aktual'nye voprosy klinicheskoy i eksperimental'noy meditsiny: Materialy X yubileynoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh*. Saint Petersburg; 2010: 187-188. (In Russ.)]
4. Hagau N, Slavcovici A, Gongnanu DN, Oltean S, Dirzu DS, Brezozski ES. Clinical aspects and cytokine response in severe H1N1 influenza A virus infection. *Crit Care Med*. 2010; 14(6): 203. doi: 10.1186/cc9324
5. Lai C, Wang X, Yang P. Cytokines network and influenza virus infection. *Clin Microbiol*. 2014; 3(147): 3. doi: 10.4172/2327-5073.1000147
6. Arias-Bravo G, Valderrama G, Inostroza J, Tapia C, Toro-Ascuy D, Ramilo O, et al. Overnutrition, nasopharyngeal pathogenic bacteria and proinflammatory cytokines in infants with viral lower respiratory tract infections. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19: 8781. doi: 10.3390/ijerph19148781
7. Лузина Е.В., Ларева Н.В. Тяжелые респираторные осложнения как причина неблагоприятного исхода при гриппе А (H1N1sw2009) у больных с ожирением. *Пульмонология*. 2011; 3: 96-100. [Luzina EV, Lareva NV. Severe respiratory complications as a cause of poor outcome of influenza A (H1N1sw2009) in obese patients. *Pulmonologiya*. 2011; (3): 96-100. (In Russ.)]. doi: 10.18093/0869-0189-2011-0-3-96-100
8. Garcia-Sastre A. Induction and evasion of type I interferon responses by influenza viruses. *Virus Res*. 2011; 162: 12-18. doi: 10.1016/j.virusres.2011.10.017
9. Masatoki S, Mitsuaki H, Peter FW. Differences in serum cytokine levels between influenza virus A and B infections in children. *Cytokine*. 2009; 47(1): 65-68. doi: 10.1016/j.cyto.2009.05.003
10. Principi N, Esposito S. Severe influenza in children: incidence and risk factors. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016; 14(10): 961-968. doi: 10.1080/14787210.2016.1227701
11. Лобзин Ю.В., Бабаченко И.В., Васильев В.В., Усков А.Н. Особенности гриппа у детей, современные возможности лечения и профилактики. *Consilium Medicum*. 2016; 18(3): 12-17. [Lobzin YuV, Babachenko IV, Vasiliev VV, Uskov AN. Features of influenza in children possibility of modern management and prevention. *Consilium Medicum*. 2016; 18(3): 12-17. (In Russ.)]. doi: 10.26442/2075-1753_2016.3.12-17
12. Кочкина С.С., Лернер Е.В., Бахарева Т.Б., Кремнева Н.Ю., Рябикова Е.С. Особенности гриппа в 2019 году у детей раннего возраста в г. Ярославле. *Детские инфекции*. 2019; 18 (Спецвыпуск): 47. [Kochkina SS, Lerner EV, Bakhareva TB, Kremneva NYu, Ryabikova ES. Features of influenza in 2019 in young children in Yaroslavl. *Children Infections*. 2019; 18 (Special Issue): 47. (In Russ.)]
13. Келешева И.Ю., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Москалева Е.В. Ретроспективный анализ клинического течения гриппа у детей с ожирением. *Детские инфекции*. 2019; 18(5): 70-71. [Kelesheva IYu, Petrova AG, Rychkova LV, Moskaeva EV. Retrospective analysis of the clinical course of influenza in obese children. *Children Infections*. 2019; 18(5): 70-71. (In Russ.)]. doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15
14. Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Ваняркина А.С., Келешева И.Ю., Москалева Е.В., Новикова Е.А. Клинико-лабораторные характеристики гриппа у детей с ожирением. *Вопросы практической педиатрии*. 2020; 15(4): 8-14. [Petrova AG, Rychkova LV, Vanyarkina AS, Kelesheva IYu, Moskaeva EV, Novikova EA. Clinical laboratory features of influenza in children with obesity. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2020; 15(4): 8-14. (In Russ.)]. doi: 10.20953/1817-7646-2020-4-8-14
15. Скрябина А.А., Никифоров В.В., Шахмарданов М.З., Застрожин М.С. Бактериальные осложнения гриппа (обзор литературы). *Лечащий врач*. 2022; 11(25): 48-54. [Skryabina AA, Nikiforov VV, Shakhmardanov MZ, Zastrozhin MS. Bacterial complications of influenza (literature review). *Lechaschi vrach*. 2022; 1(11): 48-54. (In Russ.)]. doi: 10.51793/OS.2022.25.11.008
16. Абрамович М.Л., Плоскирева А.А. Особенности гематологических показателей при острых респираторных инфекциях у детей разного возраста. *Лечащий врач*. 2015. [Abramovich ML, Ploskireva AA. Features of hematological parameters in acute respiratory infections in children of different ages. *Lechaschi vrach*. 2015.]. URL: <https://www.lvrach.ru/2015/11/15436342> [дата доступа: 20.07.2023].
17. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Ассоциация респираторных вирусов с окислительным стрессом и антиоксидантами. Последствия для пандемии COVID-19. *Current Pharmaceutical Design*. 2021; 27(13): 1618-1627. [Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. The association of respiratory viruses with oxidative stress and antioxidants. implications for the COVID-19 pandemic. *Current Pharmaceutical Design*. 2021; 27(13): 1618-1627. (In Russ.)]. doi: 10.2174/1381612827666210222113351
18. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. COVID-19: окислительный стресс и актуальность антиоксидантной терапии. *Вестник РАМН*. 2020; 75(4): 318-325. [Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. COVID-19: oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy. *Annals of the Russian Academy of Medical sciences*. 2020; 75(4): 318-325. (In Russ.)]. doi: 10.15690/vramn1360
19. Casimir GJ, Mulier S, Hanssens L, Zylberberg K, Duchateau J. Gender differences in inflammatory markers in children. *Shock*. 2010; 33(3): 258-262. doi: 10.1097/SHK.0b013e3181b2b36b
20. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016; 16: 626-638. doi: 10.1038/nri.2016.90

21. Чаванина С.А., Богомолова И.К., Левченко Н.В. Клиническое течение и иммунологические показатели при пневмониях у детей в период эпидемии гриппа А/Н1Н1/09. *Сибирское медицинское обозрение*. 2011; 6: 21–24. [Chavanina SA, Bogomolova IK, Levchenko NV. Clinical course and immunological indicators in children with pneumonia in the period of grippе A/H1N1/09 pandemic. *Siberian Medical Review*. 2011; 6: 21–24. (In Russ.)].

22. Головачева Е.Г., Афанасьева В.С., Осидак Л.В., Афанасьева О.И., Образцова Е.В., Королева Е.Г., и др. Особенности динамики иммунного ответа при гриппе у детей на фоне интерферонотерапии. *Детские инфекции*. 2017; 1: 7–12. [Golovacheva EG, Afanasyeva VS, Osidak LV, Afanasyeva OI, Obraztsova EV, Koroleva EG, et al. The dynamics of the immune response to influenza in children treated with interferon. *Children Infections*. 2017; 16(1): 7–12. (In Russ.)]. doi: 10.22627/2072-8107-2017-16-1-7-12

23. Колесникова Н.В., Кондратьева Е.И., Нестерова И.В., Гаприндашвили Е.Г., Пономаренко Ю.Б., Асекретова Т.В., и др. Возрастные и половые особенности некоторых цитокинов крови здоровых детей. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2011; 6(129): 68–72. [Kolesnikova NV, Kondratieva EI, Nesterova IV, Gaprindashvili EG, Ponomarenko YuB, Asecretova TV, et al. Age and sexual features of some cytokines healthy children. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2011; 6(129): 68–72. (In Russ.)].

24. Чаванина С.А., Богомолова И.К., Левченко Н.В. Изменение уровней цитокинов при осложненном течении гриппа А/Н1Н1/09 у детей. *Детские инфекции*. 2012; 11: 90–91. [Chavanina SA, Bogomolova IK, Levchenko NV. Changes in cytokine levels during the complicated course of influenza A/H1N1/09 in children. *Children Infections*. 2012; 11: 90–91. (In Russ.)].

25. Совалкин В.И., Соколова Т.Ф., Сабитова О.Н. Содержание ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-8 у больных с различными клиническими

факторами риска затяжной внебольничной пневмонии и их прогностическая значимость. *Сибирский медицинский журнал*. 2013; 122(7): 56–60. [Sovalkin VI, Sokolova TF, Sabitova ON. The content of TNF-α, IL-1β, IL-8 in patients with different clinical risk factors for prolonged community-acquired pneumonia and their prognostic significance. *Siberian Medical Journal*. 2013; 122(7): 56–60. (In Russ.)].

26. Касохов Т.Б., Сохиева Ф.А., Цораева З.А., Мазур А.И., Царева А.А. Показатели цитокинового профиля у детей с респираторными аллергиями. *Эффективная фармакотерапия*. 2019; 15(37): 14–16. [Kasokhov TB, Sokhiyeva FA, Tsorayeva ZA, Mazur AI, Tsareva AA. Indicators of the cytokine profile in children with respiratory allergies. *Effective Pharmacotherapy*. 2019; 15(37): 14–16. (In Russ.)]. doi: 10.33978/2307-3586-2019-15-37-14-16

27. Журавлева Л.Н., Новикова В.И. Роль цитокинов в патогенезе пневмоний у недоношенных новорожденных. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2018; 3: 33–38. [Zhuravleva LN, Novikova VI. The role of cytokines in the pathogenesis of pneumonia in preterm newborns. *International Journal of Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2018; 3: 33–38. (In Russ.)]. doi: 10.14427/jipai.2018.3.33

28. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций. *Цитокины и воспаление*. 2009; 8(1): 10–17. [Zheleznikova GF. Cytokines as predictors of infection course and outcome. *Cytokines & Inflammation*. 2009; 8(1): 10–17. (In Russ.)].

29. Головачева Е.Г., Афанасьева О.И., Осидак Л.В., Образцова Е.В., Волощук Л.В. Влияние системы интерферона на направленность поляризации иммунного реагирования при гриппе у детей. *Педиатрия*. 2014; 3: 51–57. [Golovacheva EG, Afanasyeva OI, Osidak LV, Obraztsova EV, Voloshchuk LV. The influence of the interferon system on the direction of polarization of the immune response during influenza in children. *Pediatrician*. 2014; 3: 51–57. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Казанцева Екатерина Дмитриевна – врач-педиатр, аспирант, лаборант-исследователь лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Петрова Алла Германовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Москалева Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mkaterina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

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/0000-0002-0117-2563>

Семенова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Information about the authors

Ekaterina D. Kazantseva – Pediatrician, Postgraduate, Laboratory Assistant at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Alla G. Petrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Marina A. Darenskaya – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer, Professor of the RAS, 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>

Ekaterina V. Moskaleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mkaterina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), Deputy Director for Science, Chief Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

КАРДИОЛОГИЯ CARDIOLOGY

ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РИВАРОКСАБАНА И БЛОКАТОРОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ABCB1 (rs1045642 И rs4148738) У ПАЦИЕНТОВ 80 ЛЕТ И СТАРШЕ С НЕКЛАПАННОЙ ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

Сычев Д.А.¹,
Мирзаев К.Б.¹,
Черняева М.С.^{2,3},
Шахгильдян Н.В.⁴,
Абдуллаев Ш.П.¹,
Денисенко Н.П.¹,
Созаева Ж.А.¹,
Качанова А.А.¹,
Шастина В.Р.^{3,5},
Горбатенкова С.В.³

¹ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1, Россия)

² ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (121359, г. Москва, ул. Маршала Тимошенко, 19, стр. 1А, Россия)

³ ГБУЗ «Госпиталь для ветеранов войн № 2 Департамента здравоохранения города Москвы» (109472, г. Москва, Волгоградский просп., 168, Россия)

⁴ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, Россия)

⁵ ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Черняева Марина Сергеевна,
e-mail: doctor@cherniaeva.ru

Статья поступила: 04.06.2023

Статья принята: 14.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Применение ингибиторов гликопротеина Р (Р-гр) и носительство определённых полиморфизмов ABCB1 могут привести к увеличению концентрации ривароксабана и развитию кровотечений.

Цель работы. Изучить особенности межлекарственного взаимодействия (МЛВД) ривароксабана у пациентов старше 80 лет с неклапанной фибрилляцией предсердий в зависимости от генотипа ABCB1 (rs1045642 и rs4148738) на примере верапамила (ингибитор Р-гр) и амлодипина.

Материалы и методы. Обследовано 128 пациентов (медиана возраста – 87,5 [83–90] лет). Проведены генотипирование, определение минимальной равновесной концентрации ривароксабана ($C_{min,ss}$) со стандартизацией на суточную дозу ($C_{min,ss}/D$), коагулограмма и анализ медицинской документации на наличие клинически значимых небольших кровотечений (КЗНК). Анализ по МЛВД проводился в зависимости от генотипа ABCB1.

Результаты. Применение ривароксабана с верапамилом в сравнении с пациентами, не принимающими блокаторы кальциевых каналов (БКК), приводит к высоким значениям $C_{min,ss}$ у генотипа CC (rs1045642, rs4148738); $C_{min,ss}$ и $C_{min,ss}/D$ – у генотипа CT (rs1045642); протромбинового времени – у генотипа CC (rs1045642); более частому возникновению КЗНК у генотипа TT (rs1045642, rs4148738). В сравнении с пациентами, принимающими амлодипин, применение ривароксабана с верапамилом приводит к высоким значениям $C_{min,ss}$ у генотипа CT (rs1045642), более частому возникновению КЗНК у генотипа TT (rs1045642, rs4148738). Применение ривароксабана с амлодипином в сравнении с пациентами, не принимающими БКК, приводит к высоким значениям $C_{min,ss}$ и $C_{min,ss}/D$ у генотипа CC (rs1045642) ($p < 0,017$).

Заключение. Применение верапамила с ривароксабаном у носителей генотипа TT ABCB1 (rs4148738 и rs4148738) приводит к развитию КЗНК в 75 % и 78 % случаев соответственно. У пациентов, принимающих ривароксабан, целесообразно исследование генотипа ABCB1 (rs4148738 и rs4148738) перед добавлением к терапии ингибитора Р-гр.

Ключевые слова: межлекарственные взаимодействия, ривароксабан, верапамил, ABCB1 (rs1045642 и rs4148738), терапевтический лекарственный мониторинг, пожилые пациенты

Для цитирования: Сычев Д.А., Мирзаев К.Б., Черняева М.С., Шахгильдян Н.В., Абдуллаев Ш.П., Денисенко Н.П., Созаева Ж.А., Качанова А.А., Шастина В.Р., Горбатенкова С.В. Особенности межлекарственного взаимодействия ривароксабана и блокаторов кальциевых каналов в зависимости от генотипа ABCB1 (rs1045642 и rs4148738) у пациентов 80 лет и старше с неклапанной фибрилляцией предсердий. Acta biomedica scientifica. 2023; 8(6): 51-80. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.6

FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS RIVAROXABAN AND CALCIUM CHANNEL BLOCKERS DEPENDING ON THE ABCB1 GENOTYPE (rs1045642 AND rs4148738) IN PATIENTS 80 YEARS OF AGE AND OLDER WITH NON-VALVULAR ATRIAL FIBRILLATION

Sychev D.A.¹,
Mirzaev K.B.¹,
Cherniaeva M.S.^{2,3},
Shakhgildyan N.V.⁴,
Abdullaev Sh.P.¹,
Denisenko N.P.¹,
Sozaeva Zh.A.¹,
Kachanova A.A.¹,
Shastina V.R.^{3,5},
Gorbatenkova S.V.³

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Barrikadnaya str. 2/1, building 1, Moscow 125993, Russian Federation)

² Central State Medical Academy of the Administrative Directorate of the President of the Russian Federation (Marshala Timoshenko str. 19, building 1A, Moscow 121359, Russian Federation)

³ War Veterans Hospital No. 2 of the Department of Health Services of Moscow (Volgogradskiy Ave. 168, Moscow 109472, Russian Federation)

⁴ Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory str. 1, Moscow 119991, Russian Federation)

⁵ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Trubetskaya str. 8, building 2, Moscow 119991, Russian Federation)

Corresponding author:
Marina S. Cherniaeva,
e-mail: doctor@cherniaeva.ru

ABSTRACT

Background. The use of P-glycoprotein (P-gp) inhibitors and carriage of certain ABCB1 polymorphisms can lead to increased concentrations of rivaroxaban and the development of bleeding.

The aim of the study. To study the features of drug-drug interactions (DDI) of rivaroxaban in patients over 80 years of age with non-valvular atrial fibrillation depending on the ABCB1 genotype (rs1045642 and rs4148738) using the example of verapamil (P-gp inhibitor) and amlodipine.

Materials and methods. One hundred and twenty-eight patients were examined (median age – 87.5 [83–90] years). Genotyping, determination of the minimum equilibrium concentration of rivaroxaban ($C_{min,ss}$), with standardization for the daily dose ($C_{min,ss}/D$), coagulogram and analysis of medical documentation for the presence of clinically relevant non-major bleeding (CRNM) were carried out. Analysis of CRNM was performed depending on the ABCB1 genotype.

Results. The use of rivaroxaban with verapamil in comparison with patients not taking calcium channel blockers (CCBs) leads to high $C_{min,ss}$ values in the CC genotype (rs1045642, rs4148738); $C_{min,ss}$ and $C_{min,ss}/D$ in the CT genotype (rs1045642); prothrombin time in the CC genotype (rs1045642), more frequent occurrence of CRNM in the TT genotype (rs1045642, rs4148738). In comparison with patients taking amlodipine, it leads to high $C_{min,ss}$ values in the CT genotype (rs1045642), a more frequent occurrence of CRNM in the TT genotype (rs1045642, rs4148738). The use of rivaroxaban with amlodipine in comparison with patients not taking CCBs leads to high $C_{min,ss}$ and $C_{min,ss}/D$ values in the CC genotype (rs1045642) ($p < 0.017$).

Conclusion. The use of verapamil with rivaroxaban in ABCB1 TT carriers (rs4148738 and rs4148738) leads to the development of CRNM in 75 and 78 % of cases, respectively. In patients taking rivaroxaban, it is advisable to test the ABCB1 genotype (rs4148738 and rs4148738) before adding a P-gp inhibitor to therapy.

Key words: drug-drug interactions, rivaroxaban, verapamil, ABCB1 (rs1045642 and rs4148738), therapeutic drug monitoring, older patients

For citation: Sychev D.A., Mirzaev K.B., Cherniaeva M.S., Shakhgildyan N.V., Abdullaev Sh.P., Denisenko N.P., Sozaeva Zh.A., Kachanova A.A., Shastina V.R., Gorbatenkova S.V. Features of drug-drug interactions rivaroxaban and calcium channel blockers depending on the ABCB1 genotype (rs1045642 and rs4148738) in patients 80 years of age and older with non-valvular atrial fibrillation. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 51-80. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.6

Received: 04.06.2023

Accepted: 14.11.2023

Published: 29.12.2023

АКТУАЛЬНОСТЬ

Ривароксабан является субстратом белка-переносчика гликопротеина P (P-gr), кодируемого геном *ABCB1*, который регулирует абсорбцию ривароксабана из просвета желудочно-кишечного тракта, а также участвует в выведении его через печень и почки. Кроме того, ривароксабан метаболизируется цитохромом P-450 (CYP450), в основном за счёт CYP3A4, с незначительным вкладом CYP2J2 [1, 2]. Совместное применение лекарственных средств (ЛС), которые ингибируют эти метаболические пути, может привести к увеличению концентрации ривароксабана и увеличить риск развития нежелательных реакций (НР), в том числе кровотечений [3]. В нашем предыдущем исследовании было показано, что совместное применение верапамила (сильного ингибитора P-gr и умеренного ингибитора CYP3A4) в сочетании с ривароксабаном, приводило к более высокой минимальной равновесной концентрации ($C_{\min,ss}$) ривароксабана по сравнению с контрольной группой (Ме – 73,8 [50,6–108,8] против 40,5 [25,6–74,3] нг/мл соответственно; $p = 0,003$) и, как следствие, к более частыми НР в виде небольших клинически значимых (CRNM, clinically relevant nonmajor) кровотечений (33 % против 13 % соответственно; $p = 0,036$) [4].

Также на активность P-gr могут влиять генетические факторы. В гене *ABCB1*, кодирующем P-gr, были идентифицированы многочисленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP, single nucleotide polymorphism), которые могут быть связаны с вариациями экспрессии и активности P-gr у людей в исследованиях *in vitro* с использованием клеточных линий (*in vitro* cell lines) [5–8]. Полиморфизмы и гаплотипы *ABCB1* были связаны с изменениями в распределении ЛС и развитием НР на различные субстраты ЛС [9–11], хотя мнения до сих пор противоречивы [12, 13]. Несмотря на то, что ранее в своём исследовании мы не получили статистически значимых различий по фармакокинетическому профилю у пациентов 80 лет и старше с неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП) в зависимости от полиморфизма гена *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738), тем не менее, мы показали, что у пациентов-носителей гомозиготного типа (ТТ) гена *ABCB1* (rs1045642) в сравнении с пациентами-носителями дикого типа (СС) чаще встречались НР в виде клинически значимых небольших кровотечений (29,3 % против 4,5 % случаев; $p < 0,050$) и статистически значимо выше были показатели протромбинового времени (ПВ). У пациентов-носителей гомозиготного типа (ТТ) гена *ABCB1* (rs4148738) статистически значимо чаще встречались клинически значимые небольшие кровотечения в сравнении с пациентами-носителями дикого типа (СС) (39,3 % против 8,1 % случаев; $p < 0,050$) и гетерозиготного типа (СТ) (39,3 % против 14,3 % случаев; $p < 0,050$) гена *ABCB1* (rs4148738) [14].

В связи с этим в продолжение наших исследований мы решили отдельно проанализировать фармакокинетический профиль пациентов-носителей каждого из генотипов (СС, СТ и ТТ) гена *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738) в зависимости от сопутствующей терапии блокатора-

ми кальциевых каналов (БКК), где совместное применение ривароксабана (субстрат P-gr) с амлодипином (дигидропиридиновый БКК (ДБКК)) (субстрат P-gr) может приводить к межлекарственному взаимодействию за счёт конкурентной борьбы субстратов за места связывания на клеточных мембранах, а совместное применение ривароксабана с верапамилом (неДБКК) (сильного ингибитора P-gr и умеренного ингибитора CYP3A4) может приводить к межлекарственным взаимодействиям за счёт ингибирования ведущих транспортных и метаболических путей ривароксабана.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности межлекарственного взаимодействия ривароксабана у пациентов старше 80 лет с неклапанной фибрилляцией предсердий в зависимости от генотипа *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738) на примере верапамила (ингибитор P-gr) и амлодипина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн и этика исследования

Проведено кросс-секционное исследование пациентов 80 лет и старше с неклапанной ФП, набранных с января 2019 г. по февраль 2020 г. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (протокол № 1 от 22.01.2019) и было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией с соблюдением правил надлежащей клинической практики. Устное и письменное информированное согласие было получено от всех участников, включённых в исследование.

Пациенты

Нами обследовано 128 пациентов старше 80 лет (медиана возраста – 87,5 [83–90] лет; 75 % женщин) европеоидной расы с неклапанной ФП, находившиеся на лечении в многопрофильном стационаре г. Москвы. Пациенты были последовательно включены в исследование, если они соответствовали критериям включения. Критерии включения в исследование: 1) пациенты с неклапанной ФП обоего пола; 2) возраст на момент включения в исследование – 80 лет и старше; 3) продолжительность предшествующего приёма ривароксабана с верапамилом, амлодипином или без БКК – не менее 1 года от момента включения в исследование; 4) подписание добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Основные критерии не включения: 1) возраст менее 80 лет; 2) сопутствующая лекарственная терапия, которая может сопровождаться известным межлекарственным взаимодействием с ривароксабаном (флуконазол, кетоконазол и другие азоловые противогрибковые лекарственные препараты; ритонавир и другие ингибиторы протеазы вируса иммунодефицита человека; амиодарон, кларитромицин, эритромицин; ин-

гитаторы агрегации тромбоцитов (в том числе ацетилсалициловая кислота); нестероидные противовоспалительные средства; селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норэпинефрина; рифампицин, фенитоин, карбамазепин, фенобарбитал, препараты зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*)); 3) нарушение пациентом процедур плана обследования и лечения; 4) отказ от участия в исследовании.

Все пациенты принимали ривароксабан (однократно) для профилактики ишемического инсульта в дозе 15 мг/сут. (86,7 % пациентов) и 20 мг/сут. (13,3 % пациентов). Каждому пациенту были проведены генотипирование по исследуемому полиморфизму, определение минимальной равновесной концентрации ривароксабана ($C_{\min,ss}$). Дополнительно произведена стандартизация минимальной равновесной концентрации ривароксабана на суточную дозу (daily drug dose) ($C_{\min,ss}/D$). Кроме того, всем пациентам проводили исследование клинического и биохимического анализа крови, общий анализ мочи, коагулограммы с определением ПВ в плазме. Анализировали медицинскую документацию на наличие НР в виде CRNM-кровотечений на фоне приёма ривароксабана в течение предшествующего года от момента включения в исследование [15, 16].

Генотипирование

Материалом для выделения ДНК служила венозная кровь, которую собирали в вакуумные пробирки Vacuette® с антикоагулянтом КЗ ЭДТА объёмом 4 мл. Генотипирование по полиморфизмам rs1045642 и rs4148738 гена *ABCB1* проводили с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени на ДНК-амплификаторе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories Inc., США) на базе Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

Определение концентрации ривароксабана в плазме

Забор венозной крови для определения $C_{\min,ss}$ ривароксабана осуществляли на 7-е сутки приёма фиксированной дозы антикоагулянта (не менее чем через 5 периодов полувыведения) непосредственно перед приёмом очередной дозы лекарственного средства. Определение $C_{\min,ss}$ ривароксабана в крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Пробы анализировали на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) (в составе – четырёхканальный насос, дегазатор подвижной фазы, термостат хроматографических колонок). В работе использовалась колонка Agilent Extend-C18 (Agilent Technologies, США) (длина 100 мм, внутренний диаметр 2,1 мм, зернение 3,5 мкм). Более подробно методика описана в нашем предыдущем исследовании [14].

Лабораторные исследования

Венозную кровь для определения коагулограммы, клинического анализа крови и общего анализа мочи (утренняя порция) собирали одновременно с забором крови для определения $C_{\min,ss}$ ривароксабана. Коагулограмму определяли с использованием автоматического коагулометра ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, США); клинический анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе ADVIA® 2120i (Siemens, США), биохимический анализ крови – с использованием интегрированного анализатора для выполнения биохимических, иммунохимических анализов, а также определения электролитов Siemens Dimension X and Plus (Siemens, США); общий анализ мочи выполняли на автоматическом анализаторе мочи Aution Max™ AX-4280 Automated Urine Chemistry Analyzer (ARKRAY Factory Inc., Россия). Все исследования выполняли в соответствии с инструкциями производителя. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формуле CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) [17].

Статистическая обработка

Статистическая обработка данных выполнялась в программном пакете IBM SPSS Statistics 26 (IMB Corp., США). Описание выборки для ненормально распределённых параметров производили с помощью подсчёта медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 2-го и 75-го процентилей (C25 и C75); для нормально распределённых параметров – путём определения среднего значения (Mean) со стандартным отклонением (SD, standart deviation). Нормальность распределения полученных параметров оценивалась при помощи критерия Шапиро – Уилка. Для ненормально распределённых показателей применялся непараметрический критерий U Манна – Уитни; категориальные данные оценивались с использованием точного критерия Фишера, где различия принято считать статистически значимыми при $p < 0,050$. Для уменьшения вероятности возникновения ошибок первого типа при проведении множественных сравнений оценку статистической значимости различий выполняли с поправкой Бонферрони, разделив величину 0,05 на количество сравнений (3) [18], при этом пороговой величиной статистической значимости различий считали $p < 0,017$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенности межлекарственного взаимодействия ривароксабана и блокаторов кальциевых каналов в зависимости от генотипа *ABCB1* (rs1045642)

В зависимости от генотипа *ABCB1* (rs1045642) пациенты были разделены на три группы: группа 1 – носители дикого генотипа CC ($n = 22$); группа 2 – носители гетерозиготного генотипа CT ($n = 65$); группа 3 – носители гомозиготного генотипа TT ($n = 41$). Анализ по изучению особенностей межлекарственного взаимодействия проводился внутри каждой из групп в зависимости от сопутствующей терапии: у пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, предполагается отсутствие межлекарственных

взаимодействий; у пациентов, принимающих ривароксабан + ДБКК амлодипин, – потенциально возможное межлекарственное взаимодействие за счёт конкурентной борьбы субстратов за места связывания на клеточных мембранах; у пациентов, принимающих ривароксабан + неДБКК (верапамил), сильный ингибитор Р-гр, приём данных препаратов может приводить к межлекарственным взаимодействиям за счёт ингибирования ведущих транспортных и метаболических путей ривароксабана.

Группа 1. Носители дикого типа (СС) гена *ABCB1* (rs1045642)

В зависимости от сопутствующей терапии мы разделили пациентов группы 1 ($n = 22$) на подгруппы: подгруппа 1 – 7 пациентов, принимающих ривароксабан без БКК (медиана возраста – 91 [81,0–91,0] год; 71,4 % женщин); подгруппа 2 – 11 пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин (медиана возраста – 89,0 [81,0–90,0] лет; 90,9 % женщин); подгруппа 3 – 4 пациента, принимающих ривароксабан + верапамил (медиана возраста – 90,5 [85,3–93,5] года; 100 % женщин). Исходная характеристика включённых в подгруппы пациентов представлена в таблице 1. У па-

циентов в подгруппе 3 (ривароксабан + верапамил) чаще встречался инсульт в анамнезе, чем у пациентов в подгруппе 1 (ривароксабан без БКК). По остальным параметрам пациенты в изучаемых подгруппах были сопоставимы.

У пациентов-носителей дикого типа (СС) гена *ABCB1* (rs1045642), уровень $C_{\min,ss}$ ривароксабана был статистически значимо выше в подгруппе 3 (ривароксабан + верапамил) в сравнении с подгруппой 1 (ривароксабан без БКК) ($p = 0,014$) и статистически значимо выше в подгруппе 2 (ривароксабан + амлодипин) в сравнении с подгруппой 1 ($p = 0,002$).

В подгруппе 2 (ривароксабан + амлодипин) уровень $C_{\min,ss}/D$ ривароксабана был статистически значимо выше, чем в подгруппе 1 (ривароксабан без БКК) ($p = 0,023$).

Уровень ПВ в подгруппе 3 (ривароксабан + верапамил) был выше, чем в подгруппе 1, (ривароксабаном без БКК) и подгруппе 2 (ривароксабан + амлодипин), но без достижения статистической значимости различий ($p = 0,059$ и $p = 0,358$ соответственно) (табл. 2).

ТАБЛИЦА 1
ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА СС ГЕНА *ABCB1* (rs1045642)

TABLE 1
INITIAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS CARRYING
THE CC GENOTYPE OF THE *ABCB1* GENE (rs1045642)

Параметры	Генотип СС ($n = 22$) гена <i>ABCB1</i> (rs1045642)					p
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	Ривароксабан без БКК и ривароксабан + амлодипин	Ривароксабан и амлодипин и ривароксабан + верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	7/22 (31,8)	11/22 (50)	4/22 (18,2)	18/22 (81,8)	15/22 (68,2)	–
Возраст (лет), Me [C25–C75]	91,0 [81,0–91,0]	89,0 [81,0–90,0]	90,5 [85,3–93,5]	89,5 [81,0–91,0]	89,0 [84,0–91,0]	$p_4 = 0,596$ $p_5 = 0,315$ $p_6 = 0,280$ $p_7 = 0,262$ $p_8 = 1,000$
Женщины, абс. (%)	5/7 (71,4)	10/11 (90,9)	4/4 (100)	18/18 (100)	14/15 (93,3)	$p_4 = 0,280$ $p_5 = 0,237$ $p_6 = 0,533$ $p_7 = 0,380$ $p_8 = 0,163$
ИМТ (кг/м ²), Me [C25–C75]	27,2 [24,1–30,3]	25,6 [24,2–29,8]	29,3 [22,1–33,1]	25,6 [24,3–29,5]	26,5 [24,2–31,4]	$p_4 = 0,792$ $p_5 = 0,762$ $p_6 = 0,539$ $p_7 = 0,554$ $p_8 = 1,000$
Шкала CHA ₂ DS ₂ -VASc (баллы), Me [C25–C75]	5,0 [3,0–6,0]	6,0 [5,3–6,0]	7,0 [4,5–8,8]	6,0 [5,0–6,0]	6,0 [5,3–6,0]	$p_4 = 0,282$ $p_5 = 0,257$ $p_6 = 0,461$ $p_7 = 0,277$ $p_8 = 0,180$
HAS-BLED (баллы), Me [C25–C75]	4,5 [3,0–6,0]	3,0 [3,0–3,8]	4,5 [3,0–5,0]	3,0 [3,0–6,0]	3,0 [3,0–4,0]	$p_4 = 0,081$ $p_5 = 0,762$ $p_6 = 0,073$ $p_7 = 0,382$ $p_8 = 0,151$

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

Количество ЛС (баллы), Ме [С25–С75]	6,0 [5,0–8,0]	6,0 [5,0–9,0]	6,0 [5,3–7,5]	6,0 [5,0–8,3]	6,0 [5,0–8,0]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,851$ $p_7 = 0,837$ $p_8 = 1,000$
Количество ЛС ≥ 5 , абс. (%)	6/7 (85,7)	11/11 (100)	4/4 (100)	17/18 (94,4)	15/15 (100)	$p_4 = 0,197$ $p_5 = 0,428$ $p_6 = -$ $p_7 = 0,629$ $p_8 = 0,134$
Доза ривароксабана 15 мг, абс. (%)	6/7 (85,7)	9/11 (81,8)	3/4 (75)	15/18 (83,3)	12/15 (80)	$p_4 = 0,829$ $p_5 = 0,658$ $p_6 = 0,770$ $p_7 = 0,696$ $p_8 = 0,746$
Доза ривароксабана 20 мг, абс. (%)	1/7 (14,3)	2/11 (18,2)	1/4 (25)	3/18 (16,7)	3/15 (20)	$p_4 = 0,829$ $p_5 = 0,658$ $p_6 = 0,770$ $p_7 = 0,696$ $p_8 = 0,746$
Креатинин (мкмоль/л), Ме [С25–С75]	96,8 [79,4–104,0]	97,4 [82,8–129,5]	91,8 [58,9–106,9]	97,3 [82,3–109,0]	96,4 [82,8–111,8]	$p_4 = 0,497$ $p_5 = 0,648$ $p_6 = 0,343$ $p_7 = 0,386$ $p_8 = 0,856$
Гемоглобин (г/л), Ме [С25–С75]	116,0 [112,0–147,0]	118,0 [112,0–126,0]	120,5 [108,0–132,3]	117,0 [112,0–131,3]	118,0 [112,0–127,0]	$p_4 = 0,536$ $p_5 = 0,648$ $p_6 = 0,753$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 0,490$
Тромбоциты ($10^9/л$), Ме [С25–С75]	248,0 [191,0–263,0]	245,0 [192,0–305,0]	164,5 [156,0–254,8]	246,5 [191,8–271,5]	245,0 [188,0–283,0]	$p_4 = 0,536$ $p_5 = 0,527$ $p_6 = 0,078$ $p_7 = 0,141$ $p_8 = 0,837$
Сопутствующие заболевания						
ИБС, абс. (%)	7/7 (100)	11/11 (100)	4/4 (100)	18/18 (100)	15/15 (100)	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$
Стенокардия напряжения, абс. (%)	6/7 (85,7)	10/11 (90,9)	4/4 (100)	16/18 (88,9)	14/15 (93,3)	$p_4 = 0,732$ $p_5 = 0,428$ $p_6 = 0,360$ $p_7 = 0,533$ $p_8 = 1,000$
Сердечная недостаточность, абс. (%)	7/7 (100)	11/11 (100)	4/4 (100)	18/18 (100)	15/15 (100)	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$
Артериальная гипертензия, абс. (%)	6/7 (85,7)	9/11 (81,8)	4/4 (100)	15/18 (83,3)	13/15 (86,7)	$p_4 = 0,829$ $p_5 = 0,428$ $p_6 = 0,360$ $p_7 = 0,380$ $p_8 = 0,952$
Перенесённый инфаркт миокарда в анамнезе, абс. (%)	2/7 (28,6)	9/11 (81,8)	2/4 (50)	8/18 (44,4)	8/15 (53,3)	$p_4 = 0,280$ $p_5 = 0,477$ $p_6 = 0,876$ $p_7 = 0,840$ $p_8 = 0,277$

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

ОНМК в анамнезе, абс. (%)	0/7 (0)	2/11 (18,2)	3/4 (75)	2/18 (11,1)	5/15 (33,3)	$p_4 = 0,231$ $p_5 = 0,007$ $p_6 = 0,039$ $p_7 = 0,006$ $p_8 = 0,082$
Бронхиальная астма, абс. (%)	0/7 (0)	0/11 (0)	1/4 (25)	0/18 (0)	1/15 (6,7)	$p_4 = -$ $p_5 = 0,165$ $p_6 = 0,086$ $p_7 = 0,030$ $p_8 = 0,484$
Атеросклероз нижних конечностей, абс. (%)	0/7 (0)	0/11 (0)	1/4 (25)	0/18 (0)	1/15 (6,7)	$p_4 = -$ $p_5 = 0,165$ $p_6 = 0,086$ $p_7 = 0,030$ $p_8 = 0,484$
Хронический бронхит, абс. (%)	3/7 (42,9)	4/11 (36,4)	0/4 (0)	7/18 (38,9)	4/15 (26,7)	$p_4 = 0,783$ $p_5 = 0,125$ $p_6 = 0,159$ $p_7 = 0,131$ $p_8 = 0,448$
Сахарный диабет 2-го типа, абс. (%)	3/7 (42,9)	3/11 (27,3)	0/4 (0)	6/18 (33,3)	3/15 (20)	$p_4 = 0,494$ $p_5 = 0,125$ $p_6 = 0,243$ $p_7 = 0,176$ $p_8 = 0,262$
Индекс коморбидности Чарлсона (абс.), Me [C25–C75]	11,0 [9,0–12,0]	10,0 [9,0–12,0]	11,0 [10,3–14,0]	10 [9–12]	10,0 [9,0–12,0]	$p_4 = 0,860$ $p_5 = 0,527$ $p_6 = 0,280$ $p_7 = 0,300$ $p_8 = 0,945$
СКФ (CKD-EPI) (мл/мин/1,73м ²), Me [C25–C75]	45,8 [41,9–59,9]	44,1 [32,9–55,3]	47,2 [38,2–76,6]	44,1 [41,2–56,1]	44,8 [36,7–55,3]	$p_4 = 0,246$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,412$ $p_7 = 0,594$ $p_8 = 0,488$
ХБП С4 (СКФ < 30 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	0/7 (0)	2/11 (18,2)	0	2/18 (11,1)	2/15 (13,3)	$p_4 = 0,231$ $p_5 = -$ $p_6 = 0,360$ $p_7 = 0,484$ $p_8 = 0,293$
СКФ при ХБП С4 (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	–	20,5 [19,5–20,5]	–	20,5 [19,5–20,5]	20,4 [19,5–20,4]	–
ХБП С3Б (СКФ = 30–44 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	3/7 (42,9)	5/11 (45,5)	1/4 (25)	8/18 (44,4)	5/15 (33,3)	$p_4 = 0,914$ $p_5 = 0,554$ $p_6 = 0,475$ $p_7 = 0,474$ $p_8 = 0,751$
СКФ при ХБП С3Б (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	41,9 [40,4–41,9]	42,8 [37,9–44,1]	36,59	42,3 [39,4–44,1]	42,7 [36,6–44,1]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,500$ $p_6 = 0,333$ $p_7 = 0,222$ $p_8 = 1,000$
ХБП С3А (СКФ = 45–59 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	2/7 (28,6)	3/11 (27,3)	2/4 (50)	5/18 (27,8)	5/15 (33,3)	$p_4 = 0,952$ $p_5 = 0,477$ $p_6 = 0,409$ $p_7 = 0,388$ $p_8 = 0,751$

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

СКФ при ХБП С3А (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	50,6 [45,8–50,6]	54,8 [45,5–54,8]	47,2 [45,9–47,2]	54,8 [45,6–56,1]	48,5 [45,7–55,8]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 1,000$ $p_7 = 0,857$ $p_8 = 0,293$
ХБП С2 (СКФ = 60–89 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/7 (14,3)	1/11 (9,1)	1/4 (25)	2/18 (11,1)	2/15 (13,3)	$p_4 = 0,732$ $p_5 = 0,658$ $p_6 = 0,432$ $p_7 = 0,464$ $p_8 = 0,571$
СКФ при ХБП С2 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	59,87	81,1	85,97	70,5 [59,9–70,5]	83,5 [81,1–83,5]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 1,000$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 1,000$
ХБП С1 (СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/7 (14,3)	–	–	1/18 (5,6)	0/15 (0)	$p_4 = 0,197$ $p_5 = 0,428$ $p_6 = –$ $p_7 = 0,629$ $p_8 = 0,147$
СКФ при ХБП С1 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	96,96	–	–	96,96	–	–

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_7 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, + пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_8 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании со всеми БКК (амлодипин + верапамил); ИМТ – индекс массы тела; CHA2DS2-VASc – шкала оценки риска инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий (Congestive heart failure; Hypertension; Age ≥ 75 years; Diabetes mellitus; prior Stroke or TIA or thromboembolism; Vascular disease; Age 65–74 years; Sex Category); HAS-BLED – шкала оценки риска кровотечений при мерцательной аритмии (Hypertension; Abnormal renal-liver function; Stroke; Bleeding history or predisposition; Labile international normalized ratio; Elderly (65 years); Drugs or alcohol concomitantly); ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

ТАБЛИЦА 2

**ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА СС ГЕНА ABCB1 (rs1045642)**

TABLE 2

**FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS IN PATIENTS
CARRYING THE CC GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE
(rs1045642)**

Параметры	Генотип СС (n = 22) гена ABCB1 (rs1045642)			p
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	7/22 (31,8)	11/22 (50)	4/22 (18,2)	–
C _{min, ss} ривароксабана (нг/мл), Ме [C25–C75]	15,3 [12,0–28,4]	69,4 [45,6–100,8]	67,8 [45,0–76,9]	$p_4 = 0,002$ $p_5 = 0,014$ $p_6 = 0,602$
C _{min, ss} /D ривароксабана (нг/мл/мг), Ме [C25–C75]	1,0 [0,8–1,9]	4,6 [3,0–6,4]	4,0 [2,8–5,1]	$p_4 = 0,003$ $p_5 = 0,023$ $p_6 = 0,647$
Протромбиновое время (с), Ме [C25–C75]	12,6 [12,3–13,8]	13,4 [12,3–14,5]	14,2 [12,9–18,3]	$p_4 = 0,388$ $p_5 = 0,059$ $p_6 = 0,358$
Данные обо всех клинически значимых небольших кровотечениях в ответ на приём ривароксабана по данным анамнеза, абс. (%)	1/7 (14,3)	0/11 (0)	0/4 (0)	$p_4 = 0,197$ $p_5 = 0,428$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил).

Группа 2. Носители гетерозиготного типа (СТ) гена *ABCB1* (rs1045642)

В зависимости от сопутствующей терапии мы разделили пациентов группы 2 ($n = 65$) на 3 подгруппы: подгруппа 1 – 28 пациентов, принимающих ривароксабан без БКК (медиана возраста – 88,0 [84,0–90,0] лет; 71,4 % женщин); подгруппа 2 – 23 пациента, принимающих ривароксабан + амлодипин (медиана возраста – 85,0 [83,0–88,0] лет; 82,6 % женщин); подгруппа 3 – 14 пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил (медиана возраста – 88,0 [81,0–89,3] лет; 64,3 % женщин). Исходная характеристика включённых в подгруппы пациентов представлена в таблице 3. По основным параметрам пациенты в изучаемых группах были сопоставимы.

У пациентов-носителей гетерозиготного типа (СТ) гена *ABCB1* (rs1045642), уровень $C_{\min, ss}$ ривароксабана был статистически значимо выше в подгруппе 3 (ривароксабан + верапамил) в сравнении с подгруппой 1 (ривароксабан без БКК) ($p = 0,011$) и в сравнении с подгруппой 2 (ривароксабан + амлодипин) ($p = 0,017$). Уровень $C_{\min, ss}/D$ ривароксабана был статистически значимо выше в подгруппе 3 (ривароксабан + верапамил) в сравнении с подгруппой 1 (ривароксабан без БКК) ($p = 0,014$) (табл. 4).

Различий в уровне ПВ и количестве пациентов, у которых встречались НР в виде клинически значимых небольших кровотечений, между сравниваемыми подгруппами обнаружено не было ($p > 0,017$) (табл. 4).

ТАБЛИЦА 3
ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА СТ ГЕНА *ABCB1* (rs1045642)

TABLE 3
INITIAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS CARRYING
THE CT GENOTYPE OF THE *ABCB1* GENE (rs1045642)

Параметры	Генотип СТ ($n = 65$) гена <i>ABCB1</i> (rs1045642)					P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	Ривароксабан без БКК и ривароксабан + амлодипин	Ривароксабан и амлодипин и ривароксабан + верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	28/65 (43,1)	23/65 (35,4)	14/65 (21,5)	51/65 (78,5)	37/65 (56,9)	–
Возраст (лет), Me [C25–C75]	88,0 [84,0–90,0]	85,0 [83,0–88,0]	88,0 [81,0–89,3]	87 [83–90]	86,0 [82,0–89,0]	$p_4 = 0,243$ $p_5 = 0,308$ $p_6 = 0,865$ $p_7 = 0,481$ $p_8 = 0,184$
Женщины, абс. (%)	20/28 (71,4)	19/23 (82,6)	9/14 (64,3)	39/51 (76,5)	28/37 (75,7)	$p_4 = 0,349$ $p_5 = 0,637$ $p_6 = 0,208$ $p_7 = 0,358$ $p_8 = 0,700$
ИМТ (кг/м ²), Me [C25–C75]	28,5 [26,0–31,1]	30,5 [26,9–32,3]	30,0 [25,4–32,0]	30,1 [26,2–31,2]	30,5 [26,6–32,1]	$p_4 = 0,271$ $p_5 = 0,424$ $p_6 = 0,624$ $p_7 = 0,805$ $p_8 = 0,237$
Шкала CHA ₂ DS ₂ -VASc (баллы), Me [C25–C75]	6,0 [5,0–7,0]	6,0 [5,0–7,3]	7,0 [5,0–8,0]	6 [5–7]	8,0 [5,0–8,0]	$p_4 = 0,321$ $p_5 = 0,145$ $p_6 = 0,531$ $p_7 = 0,244$ $p_8 = 0,157$
HAS-BLED (баллы), Me [C25–C75]	3,0 [2,0–4,0]	3,0 [3,0–3,5]	3,0 [2,0–4,0]	3 [2–4]	3,0 [2,5–4,0]	$p_4 = 0,812$ $p_5 = 0,945$ $p_6 = 0,932$ $p_7 = 0,923$ $p_8 = 0,866$
Количество ЛС (баллы), Me [C25–C75]	6,0 [5,0–7,0]	8,0 [6,0–9,0]	6,0 [5,8–7,0]	6 5–8]	7,0 6,0–8,0]	$p_4 = 0,03$ $p_5 = 0,452$ $p_6 = 0,028$ $p_7 = 0,506$ $p_8 = 0,012$
Количество ЛС ≥ 5 , абс. (%)	23/28 (82,1)	22/23 (95,7)	12/14 (85,7)	45/51 (88,2)	34/37 (91,9)	$p_4 = 0,136$ $p_5 = 0,770$ $p_6 = 0,283$ $p_7 = 0,799$ $p_8 = 0,124$
Доза ривароксабана 15 мг, абс. (%)	25/28 (89,3)	19/23 (82,6)	13/14 (92,9)	44/51 (86,3)	32/37 (86,5)	$p_4 = 0,491$ $p_5 = 0,710$ $p_6 = 0,377$ $p_7 = 0,507$ $p_8 = 0,734$

ТАБЛИЦА 3 (продолжение)

TABLE 3 (continued)

Доза ривароксабана 20 мг, абс. (%)	3/28 (10,7)	4/23 (17,4)	1/14 (7,1)	7/51 (13,7)	4/37 (10,8)	$p_4 = 0,491$ $p_5 = 0,710$ $p_6 = 0,377$ $p_7 = 0,507$ $p_8 = 0,990$
Креатинин (мкмоль/л), Ме [C25–C75]	108,0 [92,9–130,8]	94,8 [86,0–110,0]	99,6 [83,4–117,5]	101 [90,3–123]	97,0 [85,8–113,5]	$p_4 = 0,065$ $p_5 = 0,249$ $p_6 = 0,963$ $p_7 = 0,503$ $p_8 = 0,061$
Гемоглобин (г/л), Ме [C25–C75]	123,0 [112,5–135,3]	125,0 [11,0–132,0]	127,0 [116,5–134,3]	125 [112–133]	125,0 [112,0–133,0]	$p_4 = 0,726$ $p_5 = 0,823$ $p_6 = 0,506$ $p_7 = 0,626$ $p_8 = 0,895$
Тромбоциты ($10^9/л$), Ме [C25–C75]	222,0 [165,3–260,3]	217,0 [190,0–293,0]	203,0 [169,5–257,5]	219 [175–264]	215,0 [176,0–274,0]	$p_4 = 0,449$ $p_5 = 0,947$ $p_6 = 0,546$ $p_7 = 0,714$ $p_8 = 0,624$
Сопутствующие заболевания						
ИБС, абс. (%)	28/28 (100)	23/23 (100)	14/14 (100)	51/51 (100)	37/37 (100)	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$
Стенокардия напряжения, абс. (%)	24/28 (85,7)	20/23 (87,0)	12/14 (85,7)	44/51 (86,3)	32/37 (86,5)	$p_4 = 0,898$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,915$ $p_7 = 0,957$ $p_8 = 0,929$
Сердечная недостаточность, абс. (%)	27/28 (96,4)	21/23 (91,3)	12/14 (85,7)	48/51 (94,1)	33/37 (89,2)	$p_4 = 0,439$ $p_5 = 0,204$ $p_6 = 0,595$ $p_7 = 0,296$ $p_8 = 0,278$
Артериальная гипертензия, абс. (%)	27/28 (96,4)	22/23 (95,7)	13/14 (92,9)	49/51 (96,1)	35/37 (94,6)	$p_4 = 0,887$ $p_5 = 0,608$ $p_6 = 0,715$ $p_7 = 0,611$ $p_8 = 0,727$
Перенесённый инфаркт миокарда в анамнезе, абс. (%)	5/28 (17,9)	4/23 (17,4)	2/14 (14,3)	9/51 (17,6)	6/37 (16,2)	$p_4 = 0,965$ $p_5 = 0,770$ $p_6 = 0,804$ $p_7 = 0,766$ $p_8 = 0,861$
ОНМК в анамнезе, абс. (%)	6/28 (21,4)	5/23 (21,7)	3/14 (21,4)	11/51 (21,6)	8/37 (21,6)	$p_4 = 0,979$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,982$ $p_7 = 0,991$ $p_8 = 0,985$
Бронхиальная астма, абс. (%)	0/28 (0)	1/23 (4,3)	2/14 (14,3)	1/51 (2)	3/37 (8,1)	$p_4 = 0,265$ $p_5 = 0,040$ $p_6 = 0,283$ $p_7 = 0,052$ $p_8 = 0,123$
Атеросклероз нижних конечностей, абс. (%)	3/28 (10,7)	5/23 (21,7)	3/14 (21,4)	8/51 (15,7)	8/37 (21,6)	$p_4 = 0,281$ $p_5 = 0,350$ $p_6 = 0,982$ $p_7 = 0,612$ $p_8 = 0,246$
Хронический бронхит, абс. (%)	10/28 (35,7)	8/23 (34,8)	6/14 (42,9)	18/51 (35,3)	14/37 (37,8)	$p_4 = 0,045$ $p_5 = 0,653$ $p_6 = 0,623$ $p_7 = 0,603$ $p_8 = 0,861$

ТАБЛИЦА 3 (продолжение)

TABLE 3 (continued)

Сахарный диабет 2-го типа, абс. (%)	8/28 (28,6)	7/23 (30,4)	4/14 (28,6)	15/51 (29,4)	11/37 (29,7)	$p_4 = 0,884$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,904$ $p_7 = 0,951$ $p_8 = 0,919$
Индекс коморбидности Чарлсона (абс.), Ме [C25–C75]	10,0 [9,0–11,0]	10,0 [9,0–12,0]	10,0 [9,0–12,0]	10 9–11]	10,0 [9,0–12,0]	$p_4 = 0,869$ $p_5 = 0,927$ $p_6 = 0,841$ $p_7 = 0,864$ $p_8 = 0,946$
СКФ (СКД-EPI) (мл/мин/1,73м ²), Ме [C25–C75]	42,8 [36,0–49,8]	46,5 [40,5–54,2]	51,7 [36,8–56,1]	48,0 [37,1–57,6]	47,8 [38,9–54,4]	$p_4 = 0,153$ $p_5 = 0,119$ $p_6 = 0,632$ $p_7 = 0,231$ $p_8 = 0,075$
ХБП С4 (СКФ < 30 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	2/28 (7,1)	2/23 (8,7)	1/14 (7,1)	4/51 (7,8)	4/37 (10,8)	$p_4 = 0,837$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,867$ $p_7 = 0,931$ $p_8 = 0,990$
СКФ при ХБП С4 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	24,3 [19,3–24,3]	27,0 [24,6–27,0]	26,4	26,9 [20,7–29,4]	27,8 [25,0–29,6]	$p_4 = 0,667$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 1,000$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 0,857$
ХБП С3Б (СКФ = 30–44 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	13/28 (46,4)	7/23 (30,4)	4/14 (64,3)	20/51 (39,2)	10/37 (27,0)	$p_4 = 0,244$ $p_5 = 0,116$ $p_6 = 0,550$ $p_7 = 0,218$ $p_8 = 0,182$
СКФ при ХБП С3Б (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	37,8 [32,5–39,1]	40,5 [33,2–41,9]	36,12 [34,3–42,8]	37,8 [32,9–41,6]	38,9 [34,6–42,1]	$p_4 = 0,485$ $p_5 = 0,521$ $p_6 = 0,517$ $p_7 = 0,457$ $p_8 = 0,497$
ХБП С3А (СКФ = 45–59 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	12/28 (42,9)	11/23 (47,8)	9/14 (64,3)	23/51 (45,1)	19/37 (51,4)	$p_4 = 0,723$ $p_5 = 0,190$ $p_6 = 0,330$ $p_7 = 0,203$ $p_8 = 0,497$
СКФ при ХБП С3А (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	49,3 [46,4–53,1]	50,5 [46,6–54,2]	53,9 [47,9–56,4]	50,3 [46,6–53,7]	52,6 [47,8–54,9]	$p_4 = 0,525$ $p_5 = 0,247$ $p_6 = 0,412$ $p_7 = 0,246$ $p_8 = 0,177$
ХБП С2 (СКФ = 60–89 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/28 (3,6)	3/23 (13)	1/14 (7,1)	4/51 (7,8)	4/37 (10,8)	$p_4 = 0,211$ $p_5 = 0,608$ $p_6 = 0,575$ $p_7 = 0,931$ $p_8 = 0,278$
СКФ при ХБП С2 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	62,37	68,0 [63,3–68,0]	66,76	65,6 [62,6–71,7]	67,4 [64,1–71,7]	$p_4 = 0,500$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 1,000$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 0,400$
ХБП С1 (СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	0/28 (100)	0/23 (0)	0/14 (0)	0/51 (0)	0/37 (0)	–
СКФ при ХБП С1 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	–	–	–	–	–	–

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_7 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, + пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_8 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании со всеми БКК (амлодипин + верапамил); ИМТ – индекс массы тела; CHA2DS2-VASc – шкала оценки риска инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий (Congestive heart failure; Hypertension; Age ≥ 75 years; Diabetes mellitus; prior Stroke or TIA or thromboembolism; Vascular disease; Age 65–74 years; Sex Category); HAS-BLED – шкала оценки риска кровотечений при мерцательной аритмии (Hypertension; Abnormal renal-liver function; Stroke; Bleeding history or predisposition; Labile international normalized ratio; Elderly (65 years); Drugs or alcohol concomitantly); ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

Группа 3. Носители гомозиготного типа (ТТ) гена ABCB1 (rs1045642)

В зависимости от сопутствующей терапии мы разделили пациентов группы 3 ($n = 41$) на 3 подгруппы: подгруппа 1 – 12 пациентов, принимающих ривароксабан без БКК (медиана возраста – 88,0 [83,0–88,8] лет; 75 % женщин); подгруппа 2 – 17 пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин (медиана возраста – 86,0 [82,0–88,0] лет; 88,2 % женщин); подгруппа 3 – 12 пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил (медиана возраста – 89,5 [85,5–92,0] года; 41,7 % женщин). Исходная характеристика включённых в подгруппы пациентов представлена в таблице 5. Среди пациентов подгруппы 3 (ривароксабан + верапамил) было больше мужчин, чем среди пациентов подгруппы 2 (ривароксабан + амлодипин); также они чаще, чем пациенты подгруппы 1 (риварокса-

бан без БКК), страдали атеросклерозом нижних конечностей и имели более высокий индекс коморбидности Чарльсона. По остальным параметрам пациенты в изучаемых подгруппах были сопоставимы.

У пациентов-носителей гомозиготного типа (ТТ) гена ABCB1 (rs1045642) были получены исходно более высокие значения $C_{\min,ss}$ ривароксабана, $C_{\min,ss}/D$ ривароксабана и ПВ, причём различий между сравниваемыми подгруппами по данным параметрам обнаружено не было ($p > 0,017$) (табл. 6).

Наряду с этим НР в виде клинически значимых небольших кровотечений встречались в 75 % (!) случаев в подгруппе 3 (ривароксабан + верапамил), и этот показатель был статистически значимо выше в сравнении с подгруппой 1 (ривароксабан без БКК) ($p = 0,001$) и в сравнении с подгруппой 2 (ривароксабан + амлодипин) ($p = 0,001$) (табл. 6).

ТАБЛИЦА 4
ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА СТ ГЕНА ABCB1 (rs1045642)

Параметры	Генотип СТ ($n = 65$) гена ABCB1 (rs1045642)			P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	28/65 (43,1)	23/65 (35,4)	14/65 (21,5)	–
$C_{\min,ss}$ ривароксабана (нг/мл), Ме [C25–C75]	41,7 [25,7–70,7]	48,6 [28,2–65,5]	90,7 [51,7–140,8]	$p_4 = 0,910$ $p_5 = 0,011$ $p_6 = 0,017$
$C_{\min,ss}/D$ ривароксабана (нг/мл/мг), Ме [C25–C75]	2,7 [1,7–4,0]	3,2 [1,9–4,0]	6,1 [3,2–9,4]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,014$ $p_6 = 0,020$
Протромбиновое время (с), Ме [C25–C75]	14,0 [12,6–14,6]	13,2 [12,6–14,3]	14,6 [13,2–16,1]	$p_4 = 0,602$ $p_5 = 0,157$ $p_6 = 0,121$
Данные обо всех клинически значимых небольших кровотечениях в ответ на приём ривароксабана по данным анамнеза, абс. (%)	4/28 (14,3)	5/23 (21,7)	1/14 (7,1)	$p_4 = 0,487$ $p_5 = 0,500$ $p_6 = 0,243$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с БКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с БКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неБКК (верапамил).

TABLE 4
FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS IN PATIENTS
CARRYING THE CT GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE
(rs1045642)

ТАБЛИЦА 5
ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА ТТ ГЕНА ABCB1 (rs1045642)

Параметры	Генотип ТТ ($n = 41$) гена ABCB1 (rs1045642)					P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	Ривароксабан без БКК и ривароксабан + амлодипин	Ривароксабан и амлодипин и ривароксабан + верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	12/41 (29,3)	17/41 (41,4)	12/41 (29,3)	29/41 (70,7)	29/41 (70,7)	–
Возраст (лет), Ме [C25–C75]	88,0 [83,0–88,8]	86,0 [82,0–88,0]	89,5 [85,5–92,0]	87 [82–88]	87,0 [83,0–90,0]	$p_4 = 0,394$ $p_5 = 0,319$ $p_6 = 0,08$ $p_7 = 0,106$ $p_8 = 0,944$

TABLE 5
INITIAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS CARRYING
THE TT GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE (rs1045642)

ТАБЛИЦА 5 (продолжение)

TABLE 5 (continued)

Женщины, абс. (%)	9/12 (75)	15/17 (88,2)	5/12 (41,7)	24/29 (82,8)	20/29 (69,0)	$p_4 = 0,353$ $p_5 = 0,098$ $p_7 = 0,009$ $p_8 = 0,699$
ИМТ (кг/м ²), Ме [C25–C75]	26,6 [23,5–33,0]	27,5 [24,3–31,6]	25,6 [24,2–29,4]	27,4 [24,3–31,9]	26,9 [24,3–30,9]	$p_4 = 0,909$ $p_5 = 0,630$ $p_7 = 0,260$ $p_8 = 0,328$ $p_8 = 0,873$
Шкала CHA ₂ DS ₂ -VASc (баллы), Ме [C25–C75]	6,0 [5,0–7,0]	6,0 [5,3–7,5]	6,0 [5,0–6,0]	6 [5–7]	6,0 [5,0–6,0]	$p_4 = 0,762$ $p_5 = 0,863$ $p_7 = 0,657$ $p_8 = 0,707$ $p_8 = 0,946$
HAS-BLED (баллы), Ме [C25–C75]	3,0 [2,0–4,0]	3,0 [3,0–4,0]	3,0 [2,0–4,0]	3 [2,5–4]	3,0 [3,0–4,0]	$p_4 = 0,606$ $p_5 = 0,941$ $p_7 = 0,442$ $p_8 = 0,611$ $p_8 = 0,847$
Количество ЛС (баллы), Ме [C25–C75]	6,0 [4,3–7,0]	7,0 [5,5–8,5]	7,0 [4,0–8,8]	6,0 [5,0–8,0]	7,0 [5,0–8,5]	$p_4 = 0,166$ $p_5 = 0,755$ $p_7 = 0,444$ $p_8 = 0,724$ $p_8 = -$
Количество ЛС ≥ 5, абс. (%)	9/12 (75)	16/17 (94,1)	7/12 (58,3)	25/29 (86,2)	23/29 (79,3)	$p_4 = 0,141$ $p_5 = 0,386$ $p_7 = 0,019$ $p_8 = 0,05$ $p_8 = 0,762$
Доза ривароксабана 15 мг, абс. (%)	9/12 (75)	16/17 (94,1)	11/12 (91,7)	25/29 (86,2)	27/29 (93,1)	$p_4 = 0,141$ $p_5 = 0,273$ $p_7 = 0,798$ $p_8 = 0,627$ $p_8 = 0,107$
Доза ривароксабана 20 мг, абс. (%)	3/12 (25)	1/17 (5,9)	1/12 (8,3)	4/29 (13,8)	2/29 (6,9)	$p_4 = 0,141$ $p_5 = 0,273$ $p_7 = 0,798$ $p_8 = 0,627$ $p_8 = 0,107$
Креатинин (мкмоль/л), Ме [C25–C75]	97,4 [80,5–121,8]	92,7 [79,7–120,5]	107 [94–137]	97,0 [79,7–121,5]	97,9 [87,9–120,5]	$p_4 = 0,744$ $p_5 = 0,378$ $p_7 = 0,097$ $p_8 = 0,127$ $p_8 = 0,810$
Гемоглобин (г/л), Ме [C25–C75]	133,0 [94,0–138,0]	127,0 [119,5–132,0]	111 [106–119]	128,0 [119,0–133,8]	121,0 [111,0–130,0]	$p_4 = 0,547$ $p_5 = 0,211$ $p_7 = 0,007$ $p_8 = 0,016$ $p_8 = 0,308$
Тромбоциты (10 ⁹ /л), Ме [C25–C75]	239,0 [198,0–293,0]	239,0 [190,0–313,5]	221,0 [177,3–279,0]	239,0 [194,3–297,5]	226,0 [180,5–291,5]	$p_4 = 0,926$ $p_5 = 0,413$ $p_7 = 0,444$ $p_8 = 0,358$ $p_8 = 0,654$
Сопутствующие заболевания						
ИБС, абс. (%)	11/12 (91,7)	17/17 (100)	12/12 (100)	28/29 (96,6)	29/29 (100)	$p_4 = 0,226$ $p_5 = 0,307$ $p_7 = -$ $p_8 = 0,515$ $p_8 = 0,116$
Стенокардия напряжения, абс. (%)	8/12 (66,7)	10/17 (58,8)	9/12 (75)	18/29 (62,1)	19/29 (65,5)	$p_4 = 0,668$ $p_5 = 0,653$ $p_7 = 0,367$ $p_8 = 0,427$ $p_8 = 0,944$

ТАБЛИЦА 5 (продолжение)

TABLE 5 (continued)

Сердечная недостаточность, абс. (%)	11/12 (91,7)	16/17 (94,1)	11/12 (91,7)	27/29 (93,1)	27/29 (93,1)	$p_4 = 0,798$ $p_5 = 1,000$ $p_5 = 0,798$ $p_7 = 0,872$ $p_8 = 0,872$
Артериальная гипертензия, абс. (%)	12/12 (100)	17/17 (100)	10/12 (83,3)	29/29 (100)	27/29 (93,1)	$p_4 = -$ $p_5 = 0,140$ $p_5 = 0,081$ $p_7 = 0,024$ $p_8 = 0,351$
Перенесённый инфаркт миокарда в анамнезе, абс. (%)	5/12 (41,7)	4/17 (23,5)	5/12 (41,7)	9/29 (31)	9/29 (31)	$p_4 = 0,298$ $p_5 = 1,000$ $p_5 = 0,298$ $p_7 = 0,514$ $p_8 = 0,514$
ОНМК в анамнезе, абс. (%)	0/12 (0)	6/17 (35,3)	3/12 (25)	6/29 (20,7)	9/29 (31)	$p_4 = 0,021$ $p_5 = 0,064$ $p_5 = 0,555$ $p_7 = 0,762$ $p_8 = 0,029$
Бронхиальная астма, абс. (%)	1/12 (8,3)	1/17 (5,9)	3/12 (25)	2/29 (6,9)	4/29 (13,8)	$p_4 = 0,798$ $p_5 = 0,273$ $p_5 = 0,141$ $p_7 = 0,107$ $p_8 = 0,627$
Атеросклероз нижних конечностей, абс. (%)	0/12 (0)	6/17 (35,3)	5/12 (41,7)	6/29 (20,7)	11/29 (37,9)	$p_4 = 0,021$ $p_5 = 0,012$ $p_5 = 0,728$ $p_7 = 0,168$ $p_8 = 0,013$
Хронический бронхит, абс. (%)	5/12 (41,7)	3/17 (17,6)	3/12 (25)	8/29 (27,6)	6/29 (20,7)	$p_4 = 0,154$ $p_5 = 0,386$ $p_5 = 0,630$ $p_7 = 0,865$ $p_8 = 0,168$
Сахарный диабет 2-го типа, абс. (%)	1/12 (8,3)	5/17 (29,4)	2/12 (16,7)	6/29 (20,7)	7/29 (24,1)	$p_4 = 0,168$ $p_5 = 0,537$ $p_5 = 0,430$ $p_7 = 0,767$ $p_8 = 0,245$
Индекс коморбидности Чарлсона (абс.), Ме [C25–C75]	9,0 [9,0–10,0]	10,0 [9,0–11,5]	11,5 [10,0–13,8]	9 [9–11]	10,0 [9,0–12,0]	$p_4 = 0,471$ $p_5 = 0,008$ $p_5 = 0,048$ $p_7 = 0,01$ $p_8 = 0,083$
СКФ (CKD-EPI) (мл/мин/1,73м ²), Ме [C25–C75]	47,9 [39,0–59,4]	49,5 [35,3–55,5]	47,4 [39,3–52,5]	48,0 [37,1–57,6]	47,9 [37,4–53,7]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,843$ $p_5 = 0,948$ $p_7 = 0,877$ $p_8 = 0,899$
ХБП С4 (СКФ < 30 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	0/12 (0)	1/17 (5,9)	1/12 (8,3)	1/29 (3,4)	2/29 (6,9)	$p_4 = 0,393$ $p_5 = 0,328$ $p_5 = 0,798$ $p_7 = 0,509$ $p_8 = 0,351$
СКФ при ХБП С4 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	–	28,6	26,8	28,6	27,7 [26,8–27,7]	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_5 = 1,000$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 0,351$
ХБП СЗБ (СКФ = 30–44 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	5/12 (41,7)	5/17 (29,4)	3/12 (25)	10/29 (34,5)	8/29 (27,6)	$p_4 = 0,494$ $p_5 = 0,304$ $p_5 = 0,793$ $p_7 = 0,553$ $p_8 = 0,378$

ТАБЛИЦА 5 (продолжение)

TABLE 5 (continued)

СКФ при ХБП СЗБ (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	38,6 [34,5–41,7]	35,1 [33,1–38,3]	38,4 [36,4–38,4]	35,3 [34,5–40,5]	35,9 [34,7–40,4]	$p_4 = 0,548$ $p_5 = 1,000$ $p_7 = 0,371$ $p_8 = 0,378$
ХБП СЗА (СКФ = 45–59 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	5/12 (41,7)	9/17 (52,9)	7/12 (58,3)	14/29 (48,3)	16/29 (55,2)	$p_4 = 0,550$ $p_5 = 0,292$ $p_7 = 0,774$ $p_8 = 0,558$ $p_8 = 0,431$
СКФ при ХБП СЗА (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	48,2 [47,9–59,3]	51,3 [47,9–54,1]	51,9 [46,8–52,5]	51,2 [47,9–55,5]	51,5 [47,5–54,3]	$p_4 = 0,833$ $p_5 = 0,530$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 0,699$ $p_8 = 0,431$
ХБП С2 (СКФ = 60–89 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	2/12 (16,7)	2/17 (11,8)	1/12 (8,3)	4/29 (13,8)	3/29 (10,3)	$p_4 = 0,706$ $p_5 = 0,484$ $p_7 = 0,765$ $p_8 = 0,627$ $p_8 = 0,574$
СКФ при ХБП С2 (мл/ мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	61,6 [61,1–61,6]	65,1 [59,7–65,1]	64,19	62,1 [60,4–65,3]	65,1 [64,2–65,1]	$p_4 = 0,800$ $p_5 = 0,667$ $p_7 = 1,000$ $p_8 = 1,000$ $p_8 = 0,574$
ХБП С1 (СКФ ≥ 90 мл/ мин/1,73 ²), абс. (%)	–	–	–	–	–	–
СКФ при ХБП С1 (мл/ мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	–	–	–	–	–	–

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_7 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_8 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании со всеми БКК (амлодипин + верапамил); ИМТ – индекс массы тела; CHA2DS2-VASc – шкала оценки риска инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий (Congestive heart failure; Hypertension; Age ≥ 75 years; Diabetes mellitus; prior Stroke or TIA or thromboembolism; Vascular disease; Age 65–74 years; Sex Category); HAS-BLED – шкала оценки риска кровотечений при мерцательной аритмии (Hypertension; Abnormal renal-liver function; Stroke; Bleeding history or predisposition; Labile international normalized ratio; Elderly (65 years); Drugs or alcohol concomitantly); ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

ТАБЛИЦА 6

**ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА ТТ ГЕНА ABCB1 (rs1045642)**

TABLE 6

**FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS IN PATIENTS
CARRYING THE TT GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE
(rs1045642)**

Параметры	Генотип ТТ (n = 41) гена ABCB1 (rs1045642)			P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	12/41 (29,3)	17/41 (41,4)	12/41 (29,3)	–
C _{min, ss} ривароксабана (нг/мл), Ме [C25–C75]	57,5 [36,3–91,2]	63,5 [33,5–114,5]	71,2 [33,7–89,1]	$p_4 = 0,859$ $p_5 = 0,908$ $p_6 = 0,912$
C _{min, ss} /D ривароксабана (нг/мл/мг), Ме [C25–C75]	3,6 [2,2–5,7]	4,2 [2,2–7,1]	4,6 [2,3–5,4]	$p_4 = 0,690$ $p_5 = 0,603$ $p_6 = 0,912$
Протромбиновое время (с), Ме [C25–C75]	14,1 [13,5–14,5]	14,0 [12,4–15,8]	15,9 [13,4–17,8]	$p_4 = 0,842$ $p_5 = 0,126$ $p_6 = 0,066$
Данные обо всех клинически значимых небольших кровотечениях в ответ на приём ривароксабана по данным анамнеза, абс. (%)	1/12 (8,3)	2/17 (11,8)	9/12 (75)	$p_4 = 0,765$ $p_5 = 0,001$ $p_6 = 0,001$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил).

Особенности межлекарственного взаимодействия ривароксабана и блокаторов кальциевых каналов в зависимости от генотипа ABCB1 (rs4148738)

В зависимости от генотипа ABCB1 (rs4148738) пациенты были разделены на три группы: группа 1 – носители дикого генотипа CC ($n = 37$); группа 2 – носители гетерозиготного генотипа CT ($n = 63$); группа 3 – носители гомозиготного генотипа TT ($n = 28$). Анализ по изучению особенностей межлекарственного взаимодействия проводился внутри каждой из групп в зависимости от сопутствующей терапии, так же, как и для предыдущего полиморфизма.

Группа 1. Носители дикого типа (CC) гена ABCB1 (rs4148738)

В зависимости от сопутствующей терапии мы разделили пациентов группы 1 ($n = 37$) на подгруппы: подгруппа 1 – 14 пациентов, принимающих ривароксабан без БКК (медиана возраста – 88,0 [83,3–91,0] лет; 71,4 % женщин); подгруппа 2 – 14 пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин (медиана возраста – 88,0 [82,8–90,3] лет; 85,7 % женщин); подгруппа 3 – 9 пациентов, принимающих

ривароксабан + верапамил (медиана возраста – 89,0 [81,0–92,0] лет; 66,7 % женщин). Исходная характеристика пациентов в зависимости от генотипа rs4148738 (ABCB1) представлена в таблице 7. По основным параметрам пациенты в изучаемых группах были сопоставимы.

Среди носителей дикого типа (CC) гена ABCB1 (rs4148738), уровень $C_{min,ss}$ ривароксабана был статистически значимо выше в группе пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил, в сравнении с группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК (Me – 77,6 [47,4–115,3] против 29,4 [14,5–61,9] нг/мл; $p = 0,014$). В группе пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил, уровень $C_{min,ss}/D$ ривароксабана был выше, чем в группе пациентов, не принимающих БКК в сочетании с ривароксабаном, однако без достижения статистической значимости (Me – 5,2 [2,3–7,7] против 2,0 [1,0–3,8] нг/мл/мг; $p = 0,020$). Статистически значимых различий в уровне ПВ и количестве пациентов, у которых встречались НР в виде клинически значимых небольших кровотечений, между сравниваемыми группами обнаружено не было ($p > 0,017$) (табл. 8).

ТАБЛИЦА 7

ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОТИПА CC ГЕНА ABCB1 (rs4148738)

TABLE 7

INITIAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS CARRYING THE CC GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE (rs4148738)

Параметры	Генотип CC ($n = 37$) гена ABCB1 (rs4148738)					P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	Ривароксабан без БКК и ривароксабан + амлодипин	Ривароксабан и амлодипин и ривароксабан + верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	14/37 (37,85)	14/37 (37,85)	9/37 (24,3)	28/37 (75,7)	23/37 (62,2)	–
Возраст (лет), Me [C25–C75]	88,0 [83,3–91,0]	88,0 [82,8–90,3]	89,0 [81,0–92,0]	88,0 [83,3–90,75]	88,0 [82,0–91,0]	$p_4 = 0,982$ $p_5 = 0,975$ $p_6 = 0,926$ $p_7 = 0,931$ $p_8 = 0,963$
Женщины, абс. (%)	10/14 (71,4)	12/14 (85,7)	6/9 (66,7)	22/28 (78,6)	18/23 (78,3)	$p_4 = 0,357$ $p_5 = 0,809$ $p_6 = 0,280$ $p_7 = 0,469$ $p_8 = 0,639$
ИМТ (кг/м ²), Me [C25–C75]	29,1 [25,3–30,7]	28,6 [25,6–31,9]	28,6 [23,6–30,9]	29,1 [25,4–31,2]	28,6 [25,6–31,5]	$p_4 = 0,894$ $p_5 = 0,804$ $p_6 = 0,851$ $p_7 = 0,789$ $p_8 = 0,957$
Шкала CHA ₂ DS ₂ -VASc (баллы), Me [C25–C75]	4,5 [3,0–5,8]	6,0 [5,3–6,0]	6,0 [5,0–8,5]	5,0 [4,0–6,0]	6,0 [5,5–6,5]	$p_4 = 0,057$ $p_5 = 0,064$ $p_6 = 0,524$ $p_7 = 0,129$ $p_8 = 0,019$
HAS-BLED (баллы), Me [C25–C75]	4,0 [2,3–5,0]	3,0 [3,0–3,0]	4,0 [2,0–5,0]	3,0 [3,0–4,8]	3,0 [3,0–4,0]	$p_4 = 0,208$ $p_5 = 0,799$ $p_6 = 0,284$ $p_7 = 0,767$ $p_8 = 0,295$
Количество ЛС (баллы), Me [C25–C75]	6,0 [5,0–7,3]	7,0 [5,0–9,0]	6,0 [4,5–8,0]	6,0 [5,0–8,8]	6,0 [5,0–8,0]	$p_4 = 0,285$ $p_5 = 0,877$ $p_6 = 0,277$ $p_7 = 0,614$ $p_8 = 0,429$

ТАБЛИЦА 7 (продолжение)

TABLE 7 (continued)

Количество ЛС ≥ 5 , абс. (%)	12/14 (85,7)	14/14 (100)	7/9 (77,8)	26/28 (92,9)	21/23 (91,3)	$p_4 = 0,142$ $p_5 = 0,624$ $p_6 = 0,065$ $p_7 = 0,205$ $p_8 = 0,595$
Доза ривароксабана 15 мг, абс. (%)	12/14 (85,7)	11/14 (78,6)	8/9 (88,9)	23/28 (82,1)	19/23 (82,6)	$p_4 = 0,622$ $p_5 = 0,825$ $p_6 = 0,524$ $p_7 = 0,633$ $p_8 = 0,804$
Доза ривароксабана 20 мг, абс. (%)	2/14 (14,3)	3/14 (21,4)	1/9 (11,1)	5/28 (17,9)	4/23 (17,4)	$p_4 = 0,622$ $p_5 = 0,825$ $p_6 = 0,524$ $p_7 = 0,633$ $p_8 = 0,804$
Креатинин (мкмоль/л), Ме [C25–C75]	106,5 [95,9–127,5]	99,2 [93,6–152,5]	102,0 [92,7–118,0]	121,0 [112,5–129,8]	99,2 [93,6–126,5]	$p_4 = 0,839$ $p_5 = 0,643$ $p_6 = 0,829$ $p_7 = 0,689$ $p_8 = 0,689$
Гемоглобин (г/л), Ме [C25–C75]	123,5 [114,8–140,3]	121,0 [104,8–125,5]	127,0 [119,0–133,6]	121,0 [112,5–130,8]	124,0 [112,0–128,0]	$p_4 = 0,246$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,159$ $p_7 = 0,453$ $p_8 = 0,411$
Тромбоциты (10^9 /л), Ме [C25–C75]	247 [188,5–264,5]	239,5 [195,8–328,3]	202,0 [170,0–344,5]	246,0 [193,0–270,5]	220,0 [190,0–328,0]	$p_4 = 0,401$ $p_5 = 0,926$ $p_6 = 0,336$ $p_7 = 0,542$ $p_8 = 0,610$
Сопутствующие заболевания						
ИБС, абс. (%)	14/14 (100)	14/14 (100)	9/9 (100)	28/28 (100)	23/23 (100)	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$
Стенокардия напряжения, абс. (%)	12/14 (85,7)	13/14 (92,9)	8/9 (88,9)	25/28 (89,3)	21/23 (91,3)	$p_4 = 0,541$ $p_5 = 0,825$ $p_6 = 0,742$ $p_7 = 0,973$ $p_8 = 0,595$
Сердечная недостаточность, абс. (%)	14/14 (100)	13/14 (92,9)	8/9 (88,9)	27/28 (96,4)	21/23 (91,3)	$p_4 = 0,309$ $p_5 = 0,202$ $p_6 = 0,742$ $p_7 = 0,384$ $p_8 = 0,257$
Артериальная гипертензия, абс. (%)	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	8/9 (88,9)	26/28 (92,9)	21/23 (91,3)	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,742$ $p_6 = 0,742$ $p_7 = 0,704$ $p_8 = 0,867$
Перенесённый инфаркт миокарда в анамнезе, абс. (%)	1/14 (7,1)	4/14 (28,6)	3/9 (33,3)	5/28 (17,9)	7/23 (30,4)	$p_4 = 0,139$ $p_5 = 0,106$ $p_6 = 0,809$ $p_7 = 0,327$ $p_8 = 0,095$
ОНМК в анамнезе, абс. (%)	0/14 (0)	4/14 (28,6)	3/9 (33,3)	4/28 (14,3)	7/23 (30,4)	$p_4 = 0,031$ $p_5 = 0,021$ $p_6 = 0,809$ $p_7 = 0,204$ $p_8 = 0,022$
Бронхиальная астма, абс. (%)	0/14 (0)	1/14 (7,1)	2/9 (22,2)	1/28 (3,6)	3/23 (13)	$p_4 = 0,309$ $p_5 = 0,064$ $p_6 = 0,295$ $p_7 = 0,075$ $p_8 = 0,159$

ТАБЛИЦА 7 (продолжение)

TABLE 7 (continued)

Атеросклероз нижних конечностей, абс. (%)	0/14 (0)	2/14 (14,3)	1/9 (11,1)	2/28 (7,1)	3/23 (13)	$p_4 = 0,142$ $p_5 = 0,202$ $p_6 = 0,825$ $p_7 = 0,704$ $p_8 = 0,159$
Хронический бронхит, абс. (%)	5/14 (35,7)	4/14 (28,6)	4/9 (44,4)	9/28 (32,1)	8/23 (24,8)	$p_4 = 0,686$ $p_5 = 0,675$ $p_6 = 0,435$ $p_7 = 0,501$ $p_8 = 0,954$
Сахарный диабет 2-го типа, абс. (%)	5/14 (35,7)	5/14 (35,7)	0/9 (0)	10/28 (35,7)	5/23 (21,7)	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,043$ $p_6 = 0,043$ $p_7 = 0,036$ $p_8 = 0,353$
Индекс коморбидности Чарлсона (абс.), Ме [C25–C75]	10,5 [9,0–11,0]	10,0 [9,0–12,0]	11,0 [9,0–12,5]	10,0 [9,0–11,0]]	10,0 [9,0–12,0]	$p_4 = 0,667$ $p_5 = 0,403$ $p_6 = 0,734$ $p_7 = 0,519$ $p_8 = 0,467$
СКФ (CKD-EPI) (мл/мин/1,73м ²), Ме [C25–C75]	41,2 [36,5–49,3]	43,3 [33,1–47,5]	44,6 [35,7–48,2]	42,2 [36,2–45,9]	44,1 [35,7–48,0]	$p_4 = 0,910$ $p_5 = 0,877$ $p_6 = 0,734$ $p_7 = 0,768$ $p_8 = 0,962$
ХБП С4 (СКФ < 30 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/14 (7,1)	3/14 (21,4)	0/9 (0)	4/28 (14,3)	3/23 (13,0)	$p_4 = 0,280$ $p_5 = 0,412$ $p_6 = 0,136$ $p_7 = 0,230$ $p_8 = 0,546$
СКФ при ХБП С4 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	29,3	21,4 [19,5–21,4]	0	23,0 [19,9–28,3]	21,4 [19,5–21,4]	$p_4 = 0,500$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = 0,500$
ХБП С3Б (СКФ = 30–44 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	9/14 (64,3)	6/14 (42,9)	4/9 (44,4)	15/28 (53,6)	10/23 (43,5)	$p_4 = 0,256$ $p_5 = 0,349$ $p_6 = 0,940$ $p_7 = 0,634$ $p_8 = 0,270$
СКФ при ХБП С3Б (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	38,7 [36,3–42,7]	40,8 [36,5–44,1]	35,7 [34,3–37,2]	39,0 [36,7–43,5]	37,1 [35,7–44,1]	$p_4 = 0,456$ $p_5 = 0,106$ $p_6 = 0,067$ $p_7 = 0,049$ $p_8 = 1,000$
ХБП С3А (СКФ = 45–59 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/14 (7,1)	3/14 (21,4)	4/9 (44,4)	4/28 (14,3)	7/23 (30,4)	$p_4 = 0,280$ $p_5 = 0,034$ $p_6 = 0,242$ $p_7 = 0,056$ $p_8 = 0,236$
СКФ при ХБП С3А (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	45,8	46,1 [45,5–46,1]	46,5 [44,7–48,4]	45,9 [45,6–50,3]	47,9 [45,5–51,6]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,629$ $p_7 = 0,686$ $p_8 = 0,667$
ХБП С2 (СКФ = 60–89 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	2/14 (14,3)	2/14 (14,3)	1/9 (11,1)	4/28 (14,3)	2/23 (8,7)	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,825$ $p_6 = 0,825$ $p_7 = 0,809$ $p_8 = 0,837$
СКФ при ХБП С2 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	61,1 [59,9–61,1]	70,4 [59,7–70,4]	85,97	61,1 [59,8–76,4]	83,5 [81,1–83,5]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,667$ $p_6 = 0,667$ $p_7 = 0,400$ $p_8 = 0,667$

ТАБЛИЦА 7 (продолжение)

TABLE 7 (continued)

ХБП С1 (СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/14 (7,1)	0/14 (0)	0/9 (0)	1/28 (3,6)	–	$p_4 = 0,309$ $p_5 = 0,412$ $p_6 = –$ $p_7 = 0,565$ $p_8 = 0,204$
СКФ при ХБП С1 (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	96,9	0	0	96,96	–	$p_4 = –$ $p_5 = –$ $p_6 = –$ $p_7 = –$ $p_8 = –$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_7 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, + пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_8 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании со всеми БКК (амлодипин + верапамил); ИМТ – индекс массы тела; CHA2DS2-VASc – шкала оценки риска инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий (Congestive heart failure; Hypertension; Age ≥ 75 years; Diabetes mellitus; prior Stroke or TIA or thromboembolism; Vascular disease; Age 65–74 years; Sex Category); HAS-BLED – шкала оценки риска кровотечений при мерцательной аритмии (Hypertension; Abnormal renal-liver function; Stroke; Bleeding history or predisposition; Labile international normalized ratio; Elderly (65 years); Drugs or alcohol concomitantly); ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

ТАБЛИЦА 8
ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА СС ГЕНА ABCB1 (rs4148738)

TABLE 8
FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS IN PATIENTS
CARRYING THE CC GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE
(rs4148738)

Параметры	Генотип СС (n = 37) гена ABCB1 (rs4148738)			P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	14/37 (37,85)	14/37 (37,85)	9/37 (24,3)	–
$C_{\min, ss}$ ривароксабана (нг/мл), Me [C25–C75]	29,4 [14,5–61,9]	71,2 [28,3–102,8]	77,6 [47,4–115,3]	$p_4 = 0,081$ $p_5 = 0,014$ $p_6 = 0,571$
$C_{\min, ss}/D$ ривароксабана (нг/мл/мг), Me [C25–C75]	2,0 [1,0–3,8]	4,6 [1,9–6,9]	5,2 [2,3–7,7]	$p_4 = 0,098$ $p_5 = 0,020$ $p_6 = 0,378$
Протромбиновое время (с), Me [C25–C75]	12,7 [12,3–14,2]	13,3 [12,2–14,7]	13,5 [13,1–15,6]	$p_4 = 0,581$ $p_5 = 0,243$ $p_6 = 0,488$
Данные обо всех клинически значимых небольших кровотечениях в ответ на приём ривароксабана по данным анамнеза, абс. (%)	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	1/9 (11,1)	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,742$ $p_6 = 0,742$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил).

Группа 2. Носители гетерозиготного типа (СТ) гена ABCB1 (rs4148738)

В зависимости от сопутствующей терапии мы разделили пациентов группы 2 ($n = 63$) на подгруппы: подгруппа 1 – 24 пациента, принимающих ривароксабан без БКК (медиана возраста – 88,0 [83,0–91,0] лет; 70,8 % женщин); подгруппа 2 – 27 пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин (медиана возраста – 86,0 [83,0–88,0] лет; 81,5 % женщин); подгруппа 3 – 12 пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил (медиана возраста – 88,5 [81,3–90,0] лет; 75,0 % женщин). Исходная характеристика пациентов в зависимости от генотипа rs4148738 (ABCB1) представлена в таблице 9. По основным параметрам пациенты в изучаемых группах были сопоставимы.

Среди носителей гетерозиготного типа (СТ) гена ABCB1 (rs4148738), уровни $C_{\min, ss}$ ривароксабана и $C_{\min, ss}/D$ ривароксабана были выше в группе пациентов, которые принимали ривароксабан + верапамил и ривароксабан + амлодипин, чем в группе пациентов, не принимающих БКК в сочетании с ривароксабаном, однако эти различия не достигли статистической значимости (табл. 10). Уровень ПВ был выше в группе пациентов, которые принимали ривароксабан + верапамил, чем в группе пациентов, не принимающих БКК в сочетании с ривароксабаном, однако эти различия также не достигли статистической значимости (14,6 [13,5–16,8] против 14,0 [12,8–14,5] с; $p = 0,083$) (табл. 10). Различий в количестве пациентов, у которых встречались НР в виде клинически значимых небольших кровотечений, между сравниваемыми группами обнаружено не было ($p > 0,017$) (табл. 10).

ТАБЛИЦА 9
ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ,
НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОТИПА СТ ГЕНА ABCB1 (rs4148738)

TABLE 9
INITIAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS CARRYING
THE CT GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE (rs4148738)

Параметры	Генотип СТ (n = 63) гена ABCB1 (rs4148738)					p
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	Ривароксабан без БКК и ривароксабан + амлодипин	Ривароксабан и амлодипин и ривароксабан + верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	24/63 (38,1)	27/63 (42,9)	12/63 (19)	51/63 (81)	39/63 (61,9)	–
Возраст (лет), Me [C25–C75]	88,0 [83,0–91,0]	86,0 [83,0–88,0]	88,5 [81,3–90,0]	87,0 [83,0–90,0]	87,0 [82,0–89,0]	p ₄ = 0,320 p ₅ = 0,908 p ₆ = 0,391 p ₇ = 0,661 p ₈ = 0,756
Женщины, абс. (%)	17/24 (70,8)	22/27 (81,5)	9/12 (75,0)	39/51 (76,5)	31/39 (79,5)	p ₄ = 0,371 p ₅ = 0,792 p ₆ = 0,644 p ₇ = 0,914 p ₈ = 0,434
ИМТ (кг/м ²), Me [C25–C75]	28,5 [25,5–31,1]	30,1 [25,6–31,4]	31,3 [24,1–32,8]	29,0 [25,6–31,2]	30,4 [25,0–31,8]	p ₄ = 0,695 p ₅ = 0,440 p ₆ = 0,786 p ₇ = 0,554 p ₈ = 0,523
Шкала CHA ₂ DS ₂ -VASc (баллы), Me [C25–C75]	6 [5–7]	6,0 [5,0–8,0]	5,5 [5,0–8,0]	6,0 [5,0–7,0]	6,0 [5,0–8,0]	p ₄ = 0,669 p ₅ = 0,914 p ₆ = 0,603 p ₇ = 0,715 p ₈ = 0,789
HAS-BLED (баллы), Me [C25–C75]	3 [2–3]	3,0 [3,0–3,75]	3,0 [2,75–4,0]	3,0 [3,0–3,0]	3,0 [3,0–4,0]	p ₄ = 0,708 p ₅ = 0,604 p ₆ = 0,812 p ₇ = 0,669 p ₈ = 0,568
Количество ЛС (баллы), Me [C25–C75]	6 [5–7]	7,0 [6,0–9,0]	6,0 [5,25–7,0]	6,0 [5,0–8,0]	7,0 [6,0–8,0]	p ₄ = 0,019 p ₅ = 0,753 p ₆ = 0,080 p ₇ = 0,396 p ₈ = 0,056
Количество ЛС ≥ 5, абс. (%)	20/24 (83,3)	25/27 (92,6)	10/12 (83,3)	45/51 (88,2)	35/39 (89,7)	p ₄ = 0,306 p ₅ = 1,000 p ₆ = 0,379 p ₇ = 0,646 p ₈ = 0,244
Доза ривароксабана 15 мг, абс. (%)	21/24 (87,5)	24/27 (88,9)	11/12 (91,7)	45/51 (88,2)	35/39 (89,7)	p ₄ = 0,878 p ₅ = 0,708 p ₆ = 0,792 p ₇ = 0,734 p ₈ = 0,783
Доза ривароксабана 20 мг, абс. (%)	3/24 (12,5)	3/27 (11,1)	1/12 (8,3)	6/51 (11,8)	3/39 (7,7)	p ₄ = 0,878 p ₅ = 0,708 p ₆ = 0,792 p ₇ = 0,734 p ₈ = 0,783
Креатинин (мкмоль/л), Me [C25–C75]	104,0 [89,5–124,3]	97,9 [83,6–122,0]	92,3 [83,6–101,5]	98,1 [86,0–122,0]	94,7 [83,6–110,0]	p ₄ = 0,336 p ₅ = 0,146 p ₆ = 0,578 p ₇ = 0,270 p ₈ = 0,179

ТАБЛИЦА 9 (продолжение)

TABLE 9 (continued)

Гемоглобин (г/л), Ме [C25–C75]	123,0 [110,3–136,0]	125,0 [113,0–129,0]	124,5 [101,5–132,3]	125,0 [112,0–132,0]	125,0 [112,0–130,0]	$p_4 = 0,799$ $p_5 = 0,497$ $p_6 = 0,869$ $p_7 = 0,649$ $p_8 = 0,630$
Тромбоциты (10^9 /л), Ме [C25–C75]	215,0 [160,5–259,0]	236,0 [190,0–305,0]	194,5 [161,3–260,5]	224,0 [175,0–276,0]	222,0 [178,0–293,0]	$p_4 = 0,122$ $p_5 = 0,987$ $p_6 = 0,168$ $p_7 = 0,436$ $p_8 = 0,240$
Сопутствующие заболевания						
ИБС, абс. (%)	24/24 (100)	27/27 (100)	12/12 (100)	51/51 (100)	39/39 (100)	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$
Стенокардия напряжения, абс. (%)	21/24 (87,5)	20/27 (74,1)	9/12 (75)	41/51 (80,4)	29/39 (74,4)	$p_4 = 0,228$ $p_5 = 0,343$ $p_6 = 0,951$ $p_7 = 0,678$ $p_8 = 0,211$
Сердечная недостаточность, абс. (%)	23/24 (95,8)	25/27 (92,6)	10/12 (83,3)	48/51 (94,1)	35/39 (89,7)	$p_4 = 0,623$ $p_5 = 0,201$ $p_6 = 0,379$ $p_7 = 0,214$ $p_8 = 0,385$
Артериальная гипертензия, абс. (%)	23/24 (95,8)	26/27 (96,3)	11/12 (91,7)	49/51 (96,1)	37/39 (94,9)	$p_4 = 0,932$ $p_5 = 0,607$ $p_6 = 0,545$ $p_7 = 0,518$ $p_8 = 0,862$
Перенесённый инфаркт миокарда в анамнезе, абс. (%)	9/24 (37,5)	6/27 (22,2)	3/12 (25)	15/51 (29,4)	9/39 (23,1)	$p_4 = 0,232$ $p_5 = 0,453$ $p_6 = 0,849$ $p_7 = 0,761$ $p_8 = 0,218$
ОНМК в анамнезе, абс. (%)	6/24 (25,0)	6/27 (22,2)	3/12 (25)	12/51 (23,5)	9/39 (23,1)	$p_4 = 0,815$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,849$ $p_7 = 0,914$ $p_8 = 0,862$
Бронхиальная астма, абс. (%)	0/24 (0)	0/27 (0)	2/12 (16,7)	0/51 (0)	2/39 (5,1)	$p_4 = -$ $p_5 = 0,040$ $p_6 = 0,029$ $p_7 = 0,003$ $p_8 = 0,260$
Атеросклероз нижних конечностей, абс. (%)	3/24 (12,5)	7/27 (25,9)	4/12 (33,3)	10/51 (19,6)	11/39 (28,2)	$p_4 = 0,228$ $p_5 = 0,137$ $p_6 = 0,635$ $p_7 = 0,303$ $p_8 = 0,145$
Хронический бронхит, абс. (%)	11/24 (45,8)	9/27 (33,3)	5/12 (41,7)	20/51 (39,2)	14/39 (35,9)	$p_4 = 0,361$ $p_5 = 0,813$ $p_6 = 0,617$ $p_7 = 0,876$ $p_8 = 0,434$
Сахарный диабет 2-го типа, абс. (%)	7/24 (29,2)	7/27 (25,9)	3/12 (25)	14/51 (27,5)	10/39 (25,6)	$p_4 = 0,796$ $p_5 = 0,792$ $p_6 = 0,951$ $p_7 = 0,863$ $p_8 = 0,759$

ТАБЛИЦА 9 (продолжение)

TABLE 9 (continued)

Индекс коморбидности Чарлсона (абс.), Me [C25–C75]	10,0 [9,3–11,0]	10,0 [9,0–11,0]	10,0 [9,0–11,0]	10,0 [9,0–11,0]	10,0 [9,0–11,0]	$p_4 = 0,369$ $p_5 = 0,631$ $p_6 = 0,916$ $p_7 = 0,844$ $p_8 = 0,240$
СКФ (CKD-EPI) (мл/мин/1,73м ²), Me [C25–C75]	41,2 [36,5–49,3]	43,3 [33,1–47,5]	44,6 [35,7–48,2]	42,2 [36,2–45,9]	51,8 [40,5–56,0]	$p_4 = 0,910$ $p_5 = 0,877$ $p_6 = 0,734$ $p_7 = 0,768$ $p_8 = 0,374$
ХБП С4 (СКФ < 30 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	2/24 (8,3)	3/27 (11,1)	1/12 (8,3)	5/51 (9,8)	4/39 (10,3)	$p_4 = 0,739$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,792$ $p_7 = 0,876$ $p_8 = 0,801$
СКФ при ХБП С4 (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	29,3	21,4 [19,5–21,4]	0	23,0 [19,9–28,3]	28,9 [26,9–29,5]	$p_4 = 0,500$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = 0,800$
ХБП С3Б (СКФ = 30–44 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	8/24 (33,3)	9/27 (33,3)	1/12 (8,3)	17/51 (33,3)	10/39 (25,6)	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,102$ $p_6 = 0,099$ $p_7 = 0,085$ $p_8 = 0,512$
СКФ при ХБП С3Б (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	38,7 [36,3–42,7]	40,8 [36,5–44,1]	35,7 [34,3–37,2]	39,0 [36,7–43,5]	38,0 [34,2–41,9]	$p_4 = 0,456$ $p_5 = 0,106$ $p_6 = 0,067$ $p_7 = 0,049$ $p_8 = 0,897$
ХБП С3А (СКФ = 45–59 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	13/24 (54,2)	11/27 (40,7)	8/12 (66,7)	24/51 (47,1)	19/39 (48,7)	$p_4 = 0,338$ $p_5 = 0,473$ $p_6 = 0,135$ $p_7 = 0,222$ $p_8 = 0,674$
СКФ при ХБП С3А (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	45,8	46,1 [45,5–46,1]	46,5 [44,7–48,4]	45,9 [45,6–50,3]	53,9 [50,5–55,8]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,629$ $p_7 = 0,686$ $p_8 = 0,077$
ХБП С2 (СКФ = 60–89 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/24 (4,2)	4/27 (14,8)	2/12 (16,7)	5/51 (9,8)	6/39 (15,4)	$p_4 = 0,202$ $p_5 = 0,201$ $p_6 = 0,882$ $p_7 = 0,496$ $p_8 = 0,169$
СКФ при ХБП С2 (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	61,1 [59,9–61,1]	70,4 [59,7–70,4]	85,97	61,1 [59,8–76,4]	66,1 [63,4–69,2]	$p_4 = 1,000$ $p_5 = 0,667$ $p_6 = 0,667$ $p_7 = 0,607$ $p_8 = 0,286$
ХБП С1 (СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	–	–	–	–	–	–
СКФ при ХБП С1 (мл/мин/1,73 ²), Me [C25–C75]	96,6	96,9	0	0		$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_7 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, + пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_8 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании со всеми БКК (амлодипин + верапамил); ИМТ – индекс массы тела; CHA2DS2-VASc – шкала оценки риска инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий (Congestive heart failure; Hypertension; Age ≥ 75 years; Diabetes mellitus; prior Stroke or TIA or thromboembolism; Vascular disease; Age 65–74 years; Sex Category); HAS-BLED – шкала оценки риска кровотечений при мерцательной аритмии (Hypertension; Abnormal renal-liver function; Stroke; Bleeding history or predisposition; Labile international normalized ratio; Elderly (65 years); Drugs or alcohol concomitantly); ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

Группа 3. Носители гомозиготного типа (ТТ) гена *ABCB1* (rs4148738)

В зависимости от сопутствующей терапии мы разделили пациентов группы 3 ($n = 28$) на подгруппы: подгруппа 1 – 9 пациентов, принимающих ривароксабан без БКК (медиана возраста – 88,0 [84,0–89,5] лет; 77,8 % женщин); подгруппа 2 – 10 пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин (медиана возраста – 84,0 [81,8–89,3] лет; 100 % женщин); подгруппа 3 – 9 пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил (медиана возраста – 88,0 [86,0–92,0] лет; 33,3 % женщин). Исходная характеристика пациентов в зависимости от генотипа rs4148738 (*ABCB1*) представлена в таблице 11. Среди пациентов подгруппы 3 (ривароксабан + верапамил) была выше доля женщин, у них был выше уровень креатинина и ниже уровень гемоглобина, чем в подгруппе 2 (ривароксабан + амлодипин), а также они имели более высокий индекс ко-

морбидности Чарлсона, чем пациенты в подгруппе 1 (ривароксабан без БКК). По остальным параметрам пациенты в изучаемых подгруппах были сопоставимы.

Среди носителей гомозиготного типа (ТТ) гена *ABCB1* (rs4148738), уровень $C_{\min,ss}$ ривароксабана, $C_{\min,ss}/D$ ривароксабана и ПВ был выше у пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил в сравнении со всеми исследуемыми группами, но без достижения статистической значимости различий. НР в виде клинически значимых небольших кровотечений встречались довольно часто – в 77,8 % случаев в группе пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил, и этот показатель был статистически значимо выше в сравнении с группой пациентов, не принимающих БКК в сочетании с ривароксабаном (11,1 %; $p = 0,004$), а в сравнении с группой пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин, разница достигла статистической значимости (30 %; $p = 0,037$) (табл. 12).

ТАБЛИЦА 10
ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА СТ ГЕНА *ABCB1* (rs4148738)

TABLE 10
FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS IN PATIENTS
CARRYING THE CT GENOTYPE OF THE *ABCB1* GENE
(rs4148738)

Параметры	Генотип СТ ($n = 63$) гена <i>ABCB1</i> (rs4148738)			P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	24/63 (38,1)	27/63 (42,9)	12/63 (19)	–
$C_{\min,ss}$ ривароксабана (нг/мл), Ме [C25–C75]	41,7 [25,4–58,2]	56,4 [29,3–91,3]	56,0 [34,1–114,2]	$p_4 = 0,093$ $p_5 = 0,112$ $p_6 = 0,738$
$C_{\min,ss}/D$ ривароксабана (нг/мл/мг), Ме [C25–C75]	2,6 [1,7–3,4]	3,8 [2,0–4,6]	3,7 [2,1–7,6]	$p_4 = 0,093$ $p_5 = 0,131$ $p_6 = 0,715$
Протромбиновое время (с), Ме [C25–C75]	14,0 [12,7–14,5]	13,3 [12,6–14,6]	14,6 [13,5–16,8]	$p_4 = 0,962$ $p_5 = 0,083$ $p_6 = 0,117$
Данные обо всех клинически значимых небольших кровотечениях в ответ на приём ривароксабана по данным анамнеза, абс. (%)	4/24 (16,7)	3/27 (11,1)	2/12 (16,7)	$p_4 = 0,565$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,632$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил).

ТАБЛИЦА 11
ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ,
НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОТИПА ТТ ГЕНА *ABCB1* (rs4148738)

TABLE 11
INITIAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS CARRYING
THE TT GENOTYPE OF THE *ABCB1* GENE (rs4148738)

Параметры	Генотип ТТ ($n = 28$) гена <i>ABCB1</i> (rs4148738)					P
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	Ривароксабан без БКК и ривароксабан + амлодипин	Ривароксабан и амлодипин и ривароксабан + верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	9/28 (32,1)	10/28 (35,8)	9/28 (32,1)	19/28 (67,9)	19/28 (67,9)	–
Возраст (лет), Ме [C25–C75]	88,0 [84,0–89,5]	84,0 [81,8–89,3]	88,0 [86,0–92,0]	86,0 [82,0–89,0]	87,0 [83,0–90,0]	$p_4 = 0,400$ $p_5 = 0,666$ $p_6 = 0,113$ $p_7 = 0,243$ $p_8 = 0,809$

ТАБЛИЦА 11 (продолжение)

TABLE 11 (continued)

Женщины, абс. (%)	7/9 (77,8)	10/10 (100)	3/9 (33,3)	17/19 (89,5)	13/19 (68,4)	$p_4 = 0,115$ $p_5 = 0,058$ $p_6 = 0,002$ $p_7 = 0,002$ $p_8 = 0,609$
ИМТ (кг/м ²), Ме [C25–C75]	25,6 [23,9–32,6]	27,0 [23,8–33,7]	26,8 [25,0–30,1]	26,9 [24,2–33,1]	26,9 [24,7–31,1]	$p_4 = 0,968$ $p_5 = 0,931$ $p_6 = 0,604$ $p_7 = 0,699$ $p_8 = 1,000$
Шкала CHA ₂ DS ₂ -VASc (баллы), Ме [C25–C75]	6,0 [5,0–7,0]	6,0 [4,0–6,5]	6,0 [5,3–7,0]	6,0 [5,0–8,0]	6,0 [5,0–7,0]	$p_4 = 0,639$ $p_5 = 0,694$ $p_6 = 0,435$ $p_7 = 0,473$ $p_8 = 1,000$
HAS-BLED (баллы), Ме [C25–C75]	3,0 [1,75–4,5]	3,0 [3,0–4,5]	3,0 [2,0–4,0]	3,0 [3,0–4,0]	3,0 [5,0–7,0]	$p_4 = 0,429$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,222$ $p_7 = 0,442$ $p_8 = 0,765$
Количество ЛС (баллы), Ме [C25–C75]	6,0 [4,0–8,0]	7,0 [6,0–8,0]	6,0 [4,0–9,0]	6,0 [5,0–8,0]	7,0 [6,0–8,0]	$p_4 = 0,243$ $p_5 = 0,666$ $p_6 = 0,842$ $p_7 = 0,923$ $p_8 = 0,332$
Количество ЛС ≥ 5 , абс. (%)	6/9 (66,7)	10/10 (100)	6/9 (66,7)	16/19 (84,2)	16/19 (84,2)	$p_4 = 0,047$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,047$ $p_7 = 0,291$ $p_8 = 0,291$
Доза ривароксана 15 мг, абс. (%)	7/9 (77,8)	9/10 (90)	8/9 (88,9)	16/19 (84,2)	17/19 (89,5)	$p_4 = 0,466$ $p_5 = 0,527$ $p_6 = 0,937$ $p_7 = 0,741$ $p_8 = 0,409$
Доза ривароксана 20 мг, абс. (%)	2/9 (22,2)	1/10 (10)	1/9 (11,1)	3/19 (15,8)	2/19 (10,5)	$p_4 = 0,466$ $p_5 = 0,527$ $p_6 = 0,937$ $p_7 = 0,741$ $p_8 = 0,409$
Креатинин (мкмоль/л), Ме [C25–C75]	97,0 [84,9–117,5]	89,7 [85,0–95,5]	112 [98,6–146,5]	92,9 [85,6–97,7]	94,8 [86,9–112,0]	$p_4 = 0,156$ $p_5 = 0,161$ $p_6 = 0,006$ $p_7 = 0,014$ $p_8 = 0,962$
Гемоглобин (г/л), Ме [C25–C75]	132,5 [98,0–144,3]	132,5 [117,8–138,0]	110 [106–117]	132,5 [115,5–138,0]	119,0 [110,0–136,0]	$p_4 = 0,762$ $p_5 = 0,277$ $p_6 = 0,01$ $p_7 = 0,027$ $p_8 = 0,696$
Тромбоциты (10 ⁹ /л), Ме [C25–C75]	264,5 [201,3–296,8]	208 [172,0–275,0]	216 [165–256]	215,0 [189,3–290,8]	213,0 [175,0–264,0]	$p_4 = 0,146$ $p_5 = 0,093$ $p_6 = 0,905$ $p_7 = 0,322$ $p_8 = 0,066$
Сопутствующие заболевания						
ИБС, абс. (%)	8/9 (88,9)	10/10 (100)	9/9 (100)	18/19 (94,7)	19/19 (100)	$p_4 = 0,279$ $p_5 = 0,303$ $p_6 = -$ $p_7 = 0,483$ $p_8 = 0,139$
Стенокардия напряжения, абс. (%)	5/9 (55,6)	7/10 (70)	8/9 (88,9)	12/19 (63,2)	15/19 (78,9)	$p_4 = 0,515$ $p_5 = 0,114$ $p_6 = 0,313$ $p_7 = 0,159$ $p_8 = 0,201$

ТАБЛИЦА 11 (продолжение)

TABLE 11 (continued)

Сердечная недостаточность, абс. (%)	8/9 (88,9)	10/10 (100)	9/9 (100)	18/19 (94,7)	19/19 (100)	$p_4 = 0,279$ $p_5 = 0,303$ $p_6 = -$ $p_7 = 0,483$ $p_8 = 0,139$
Артериальная гипертензия, абс. (%)	9/9 (100)	9/10 (90)	8/9 (88,9)	18/19 (94,7)	17/19 (89,5)	$p_4 = 0,330$ $p_5 = 0,303$ $p_6 = 0,937$ $p_7 = 0,575$ $p_8 = 0,312$
Перенесённый инфаркт миокарда в анамнезе, абс. (%)	2/9 (22,2)	4/10 (40)	3/9 (33,3)	6/19 (31,6)	7/19 (36,8)	$p_4 = 0,405$ $p_5 = 0,599$ $p_6 = 0,764$ $p_7 = 0,926$ $p_8 = 0,439$
ОНМК в анамнезе, абс. (%)	0/9 (0)	3/10 (30)	3/9 (33,3)	3/19 (15,8)	6/19 (31,6)	$p_4 = 0,073$ $p_5 = 0,058$ $p_6 = 0,876$ $p_7 = 0,291$ $p_8 = 0,057$
Бронхиальная астма, абс. (%)	1/9 (11,1)	1/10 (10)	2/9 (22,2)	2/19 (10,5)	3/19 (15,8)	$p_4 = 0,937$ $p_5 = 0,527$ $p_6 = 0,466$ $p_7 = 0,409$ $p_8 = 0,741$
Атеросклероз нижних конечностей, абс. (%)	0/9 (0)	2/10 (20)	4/9 (44,4)	2/19 (10,5)	6/19 (31,6)	$p_4 = 0,156$ $p_5 = 0,023$ $p_6 = 0,252$ $p_7 = 0,041$ $p_8 = 0,057$
Хронический бронхит, абс. (%)	2/9 (22,2)	2/10 (20)	0/9 (0)	4/19 (21,1)	2/19 (10,5)	$p_4 = 0,906$ $p_5 = 0,134$ $p_6 = 0,156$ $p_7 = 0,137$ $p_8 = 0,409$
Сахарный диабет 2-го типа, абс. (%)	0/9 (0)	3/10 (30)	3/9 (33,3)	3/19 (15,8)	6/19 (31,6)	$p_4 = 0,073$ $p_5 = 0,058$ $p_6 = 0,876$ $p_7 = 0,291$ $p_8 = 0,057$
Индекс коморбидности Чарлсона (абс.), Ме [C25–C75]	9,0 [9,0–9,5]	10,0 [9,0–12,3]	12,0 [10,0–15,5]	10,0 [9,0–11,0]	12,0 [10,0–13,0]	$p_4 = 0,156$ $p_5 = 0,001$ $p_6 = 0,079$ $p_7 = 0,004$ $p_8 = 0,007$
СКФ (СКД-EPI) (мл/мин/1,73м ²), Ме [C25–C75]	47,9 [39,4–59,3]	50,4 [46,8–54,5]	46,8 [37,5–52,4]	48,0 [45,7–56,7]	49,5 [45,4–52,5]	$p_4 = 0,497$ $p_5 = 0,546$ $p_6 = 0,243$ $p_7 = 0,285$ $p_8 = 0,962$
ХБП С4 (СКФ < 30 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	0/9 (0)	0/10 (0)	1/9 (11,1)	0/19 (0)	1/19 (5,3)	$p_4 = -$ $p_5 = 0,303$ $p_6 = 0,279$ $p_7 = 0,139$ $p_8 = 0,483$
СКФ при ХБП С4 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	0	0	26,8	0	26,81	$p_4 = -$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = -$ $p_8 = -$
ХБП С3Б (СКФ = 30–44 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	3/9 (33,3)	1/10 (10)	2/9 (22,2)	4/19 (21,1)	3/19 (15,8)	$p_4 = 0,213$ $p_5 = 0,599$ $p_6 = 0,466$ $p_7 = 0,944$ $p_8 = 0,291$

ТАБЛИЦА 11 (продолжение)

TABLE 11 (continued)

СКФ при ХБП СЗБ (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	38,6 [34,4–38,6]	41,1	37,4 [36,4–37,4]	39,4 [35,4–40,9]	38,4 [36,4–38,4]	$p_4 = 0,500$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 1,000$ $p_7 = -$ $p_8 = 1,000$
ХБП СЗА (СКФ = 45–59 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	5/9 (55,6)	8/10 (80)	6/9 (66,7)	13/19 (68,4)	14/19 (73,7)	$p_4 = 0,252$ $p_5 = 0,629$ $p_6 = 0,510$ $p_7 = 0,926$ $p_8 = 0,337$
СКФ при ХБП СЗА (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	48,0 [46,8–59,3]	50,4 [47,1–53,1]	51,6 [46,5–53,2]	49,5 [47,4–55,2]	50,9 [46,9–52,8]	$p_4 = 0,833$ $p_5 = 0,792$ $p_6 = 1,000$ $p_7 = 0,533$ $p_8 = 0,754$
ХБП С2 (СКФ = 60–89 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	1/9 (11,1)	1/10 (10)	0/9 (0)	2/19 (10,5)	1/19 (5,3)	$p_4 = 0,937$ $p_5 = 0,303$ $p_6 = 0,330$ $p_7 = 0,312$ $p_8 = 0,575$
СКФ при ХБП С2 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	61,1	65,1	0	63,1 [61,1–68,1]	65,05	$p_4 = 1,000$ $p_5 = -$ $p_6 = -$ $p_7 = 0,898$ $p_8 = 1,000$
ХБП С1 (СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 ²), абс. (%)	–	–	–	–	–	–
СКФ при ХБП С1 (мл/мин/1,73 ²), Ме [C25–C75]	–	–	–	–	–	–

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_7 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, + пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_8 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании со всеми БКК (амлодипин + верапамил); ИМТ – индекс массы тела; CHA2DS2-VASc – шкала оценки риска инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий (Congestive heart failure; Hypertension; Age ≥ 75 years; Diabetes mellitus; prior Stroke or TIA or thromboembolism; Vascular disease; Age 65–74 years; Sex Category); HAS-BLED – шкала оценки риска кровотечений при мерцательной аритмии (Hypertension; Abnormal renal-liver function; Stroke; Bleeding history or predisposition; Labile international normalized ratio; Elderly (65 years); Drugs or alcohol concomitantly); ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

ТАБЛИЦА 12

**ОСОБЕННОСТИ МЕЖЛЕКАРСТВЕННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ У ПАЦИЕНТОВ-НОСИТЕЛЕЙ
ГЕНОТИПА ТТ ГЕНА ABCB1 (rs4148738)**

TABLE 12

**FEATURES OF DRUG-DRUG INTERACTIONS IN PATIENTS
CARRYING THE TT GENOTYPE OF THE ABCB1 GENE
(rs4148738)**

Параметры	Генотип ТТ (n = 28) гена ABCB1 (rs4148738)			p
	Ривароксабан без БКК	Ривароксабан и амлодипин	Ривароксабан и верапамил	
Количество пациентов, абс. (%)	9/28 (32,1)	10/28 (35,8)	9/28 (32,1)	–
$C_{min,ss}$ ривароксабана (нг/мл), Ме [C25–C75]	66,0 [36,4–103,1]	45,1 [20,1–52,8]	82,2 [49,8–120,95]	$p_4 = 0,165$ $p_5 = 0,508$ $p_6 = 0,022$
$C_{min,ss}/D$ ривароксабана (нг/мл/мг), Ме [C25–C75]	3,8 [2,3–6,9]	3,0 [1,2–3,5]	5,1 [3,3–8,1]	$p_4 = 0,221$ $p_5 = 0,402$ $p_6 = 0,022$
Протромбиновое время (с), Ме [C25–C75]	14,2 [13,6–14,5]	13,1 [12,3–14,6]	17,4 [13,6–18,5]	$p_4 = 0,252$ $p_5 = 0,046$ $p_6 = 0,027$
Данные обо всех клинически значимых небольших кровотечениях в ответ на приём ривароксабана по данным анамнеза, абс. (%)	1/9 (11,1)	3/10 (30)	7/9 (77,8)	$p_4 = 0,313$ $p_5 = 0,004$ $p_6 = 0,037$

Примечание. абс. – абсолютное число; p_4 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин); p_5 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан без БКК, и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил); p_6 – различия между группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с ДБКК (амлодипин), и группой пациентов, принимающих ривароксабан в сочетании с неДБКК (верапамил).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные показывают, что у пациентов 80 лет и старше с неклапанной ФП и носителей дикого генотипа (CC) гена *ABCB1* (rs1045642) совместное применение ривароксабана с БКК (амлодипин или верапамил), которые способны вступать в межлекарственное взаимодействие с ривароксабаном, приводило к более высоким значениям $C_{min, ss}$ ривароксабана в сравнении с пациентами, не принимающими БКК. У носителей гетерозиготного генотипа (CT) гена *ABCB1* (rs1045642) совместное применение ривароксабана с верапамилом (сильного ингибитора Р-гр и умеренного ингибитора CYP3A4) приводило к более высоким значениям $C_{min, ss}$ ривароксабана в сравнении с пациентами, не принимающими БКК, и в сравнении с пациентами, принимающими ривароксабан и амлодипин (потенциально возможные межлекарственные взаимодействия за счёт конкурентной борьбы субстратов за места связывания на клеточных мембранах). У носителей гомозиготного генотипа (TT) гена *ABCB1* (rs1045642) совместное применение ривароксабана с верапамилом в большинстве случаев ассоциировалось с НР в виде клинически значимых небольших кровотечений (до 75 %), причём их количество было статистически значимо выше в сравнении с пациентами, не принимающими БКК, и в сравнении с пациентами, принимающими ривароксабан и амлодипин.

У пациентов 80 лет и старше с неклапанной ФП и пациентов-носителей дикого генотипа (CC) гена *ABCB1* (rs1045642) совместное применение ривароксабана с верапамилом приводило к более высоким значениям $C_{min, ss}$ ривароксабана в сравнении с пациентами, не принимающими БКК в сочетании с ривароксабаном. У носителей гетерозиготного генотипа (CT) гена *ABCB1* (rs1045642) совместное применение ривароксабана с БКК не приводило к статистически значимым различиям между исследуемыми показателями. У носителей гомозиготного генотипа (TT) гена *ABCB1* (rs1045642) совместное применение ривароксабана с верапамилом приводило к статистически более высокому значению НР в виде клинически значимых небольших кровотечений в сравнении с группой пациентов, не принимающих БКК в сочетании с ривароксабаном (до 78 %).

Хотелось бы обратить внимание читателей на тот факт, что ранее в своих работах мы уже показали, как совместное применение верапамила (сильного ингибитора Р-гр и умеренного ингибитора CYP3A4) в сочетании с ривароксабаном приводило к более частому развитию НР (у 33 % пациентов) [4], а также носительство гомозиготного типа (TT) гена *ABCB1* (rs1045642 и rs1418738) было сопряжено с более частым развитием НР (29,3 % и 39,3 % соответственно) [10]. В настоящем исследовании мы показали, что совместное применение верапамила (сильного ингибитора Р-гр и умеренного ингибитора CYP3A4) в сочетании с ривароксабаном у носителей гомозиготного типа (TT) гена *ABCB1* (rs1045642 и rs1418738) приводило к НР в 75 % и 78 % случаев соответственно. В связи с этим может быть целесообразным проведение генотипирования пациентов для уточне-

ния носительства полиморфных вариантов гена *ABCB1* (rs1045642 и rs1418738) перед назначением верапамила (сильного ингибитора Р-гр и умеренного ингибитора CYP3A4) в сочетании с ривароксабаном с последующим решением вопроса о дальнейшей тактике ведения пациента. Данное исследование могло бы предотвратить развитие НР в виде клинически значимых небольших кровотечений у пациентов 80 лет и старше с неклапанной ФП.

Требуется обсуждения также тот факт, что среди пациентов-носителей генотипа TT гена *ABCB1* (rs1045642 и rs1418738) в подгруппе пациентов, принимающих ривароксабан + верапамил, более половины составляли мужчины, тогда как в подгруппах пациентов, принимающих ривароксабан + амлодипин и ривароксабан без БКК, преобладали женщины (табл. 5, 11). В предыдущей нашей работе мы показали, что при приёме ривароксабана с верапамилом было 10 случаев КЗНК, 8 из них составляла гематурия [4]. В резолюции Евразийской ассоциации терапевтов по алгоритму оценки и модификации факторов риска небольших кровотечений у пациентов с ФП, получающих терапию прямыми оральными антикоагулянтами (ПОАК), говорится о том, что наиболее частыми причинами гематурии у пациентов, принимающих ривароксабан или другие ПОАК, являются доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) и простатит [19]. Таким образом, можно предположить, что у пациентов-носителей генотипа TT гена *ABCB1* (rs1045642 и rs1418738) резко выраженные различия в частоте КЗНК в трёх выделенных подгруппах могут объясняться неоднородностью подгрупп по половому составу. Однако частота встречаемости ДГПЖ увеличивается с возрастом, достигая 88 % после 80 лет [20]. Учитывая тот факт, что все наши пациенты были старше 80 лет, можно предположить, что из 25 % (32 пациента) включённых в исследование мужчин 88 % (28 пациентов) могут иметь ДГПЖ, из которых у 39 % (11 пациентов) встречалась гематурия, тогда как в популяции мужчин старше 75 лет гематурия встречается лишь в 13 % случаев [20]. С другой стороны, если рассматривать гематурию как осложнение ДГПЖ, то причиной её возникновения является не только и не столько заболевание самой предстательной железы, сколько изменение функции мочевого пузыря и, как следствие, расширенные варикозно изменённые вены шейки мочевого пузыря, что может также развиваться и в результате других (не только ДГПЖ) причин, таких как «старение» мочевого пузыря, изменение неврологического статуса, наличие сопутствующих заболеваний, и в связи с этим встречается примерно с одинаковой частотой как у пожилых мужчин, так и у пожилых женщин [20]. Несмотря на это для подтверждения или опровержения предположения о том, что неоднородность подгрупп по половому составу повлияла на резко выраженные различия в частоте КЗНК у пациентов-носителей генотипа TT гена *ABCB1* (rs1045642 и rs1418738) в трёх выделенных подгруппах необходимо провести дополнительное исследование, которое будет включать в себя большие по количеству участников и однородные по половому составу группы.

Наши данные сопоставимы с результатами ряда зарубежных исследований. Так, К. Lorenzini и соавт. [21] сооб-

щили о случае кровотечения у пациента 79 лет на фоне приёма ривароксабана 20 мг в сутки (в течение 3 месяцев). Авторы предположили, что наличие гомозиготных генотипов ТТ для rs2032582 и rs1045642 гена *ABCB1* и снижение активности CYP3A4/5 из-за межлекарственного взаимодействия с симвастатином могли способствовать повышенной восприимчивости к ривароксабану у представленного пациента.

A. Sennesael и соавт. [22] проспективно проанализировали 10 пациентов, поступивших в отделение неотложной помощи по поводу кровотечений на фоне приёма ривароксабана. Среди трёх пациентов, у которых наблюдалось сильное кровотечение, связанное с $C_{\min,ss}$ ривароксабана > 136 нг/мл, двое были гетерозиготными, а один – гомозиготным (ТТ) по rs1045642 гена *ABCB1*. Однако чёткой связи между генотипом *ABCB1* и расчётными минимальными концентрациями не наблюдалось ($p > 0,050$). Однако все трое пациентов также получали ЛС, способные вступать в потенциальные межлекарственные взаимодействия (дилтиазем + кларитромицин, или симвастатин, или амиодарон).

В исследовании I. Gouin-Thibault и соавт. [23] было показано, что генотип *ABCB1* (rs2032582; c.2677G>A/T; p.Ala893Thr/Ser и rs1045642; c.3435C>T; p.Ile1145Ile) не является значимым детерминантом индивидуальной вариабельности фармакокинетики ривароксабана в группе здоровых добровольцев, тогда как совместное применение ривароксабана с ингибитором P-gp/CYP3A4 (кларитромицин) может повысить риск передозировки, так как увеличивает AUC ривароксабана на 94 % ($p < 0,0001$) и его $C_{\max,ss}$ на 92 % ($p < 0,0001$): отношения геометрических средних составляли 1,94 [95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 1,42–2,63] и 1,92 [95% ДИ: 1,60–2,28] для AUC и $C_{\max,ss}$ соответственно, причём этот эффект не зависел от генотипа *ABCB1*.

В свою очередь P. Pham и соавт. [24] оценивали риск кровотечения у пациентов с ФП на фоне приёма стандартных доз ПОАК в сочетании с верапамилом или дилтиаземом. Был проведён анализ 1764 пациентов, получавших ПОАК с верапамилом или дилтиаземом, по сравнению с 3105 пациентами, получавшими амлодипин, и 1793 пациентов, получавших ПОАК с верапамилом или дилтиаземом, по сравнению с 3224 пациентами, получавшими метопролол. В результате было показано, что ривароксабан и апиксабан не ассоциировались с повышенной частотой кровотечений у пациентов, получавших верапамил или дилтиазем, по сравнению с теми, кто получал амлодипин или метопролол. Среди пациентов, получавших дабигатрана этексилат, общая частота кровотечений была на 52 % выше (отношение рисков (ОР) – 1,52; 95% ДИ: 1,05–2,20) при приёме верапамила или дилтиазема по сравнению с амлодипином и на 43 % выше (ОР = 1,43; 95% ДИ: 1,02–2,20) по сравнению с метопрололом. Частота кровотечений при применении дабигатрана с верапамилом или дилтиаземом в целом была выше для других типов кровотечений (244,9 против 158,4 на 1000 человеко-лет; скорректированный коэффициент риска общих желудочно-кишечных кровотечений – 2,16 (95% ДИ: 1,30–3,60), незначительных крово-

течений – 1,56 (95% ДИ: 1,07–2,27), незначительных желудочно-кишечных кровотечений – 2,16 (95% ДИ: 1,29–3,63). Анализы чувствительности показали стабильные результаты для дабигатрана при использовании с верапамилом и дилтиаземом с величинами повышения уровня опасности от 50 % до 100 % и отсутствием статистически значимых результатов для апиксабана или ривароксабана. В отличие от нашего исследования, у P. Pham и соавт. пациенты не имели хронической болезни почек (ХБП) в анамнезе, а также 60 % пациентов были моложе 65 лет и только около 5,5 % – старше 80 лет; в нашем исследовании всего 12 % не имели ХБП в анамнезе и все пациенты были старше 80 лет, что могло повлиять на разницу в полученных результатах. Тем не менее, результаты выполненного нами исследования требуют верификации в проспективном исследовании с большим количеством участников.

Ограничения исследования

Наше исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, выборка пациентов в группах по исследуемому полиморфизму гена была небольшая. Во-вторых, исходная характеристика пациентов по ряду параметров была несопоставима. Данные ограничения могли повлиять на результат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование, в котором изучались особенности межлекарственного фармакокинетического взаимодействия ривароксабана и БКК у пациентов 80 лет и старше с неклапанной ФП в зависимости от полиморфизма гена *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738), показало статистически значимые изменения фармакокинетического профиля у определённых вариантов гена *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738) и, как следствие, возникновение НР в виде клинически значимых небольших кровотечений. В связи с этим для профилактики их возникновения у пациентов 80 лет и старше с неклапанной ФП перед назначением верапамила (сильного ингибитора P-gp и умеренного ингибитора CYP3A4) может быть рассмотрено проведение генотипирования для выявления вариантов вышеописанных полиморфизмов гена *ABCB1* (rs1045642 и rs4148738).

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-15-00251 «Персонализированное применение пероральных антикоагулянтов прямого действия на основе фармакогеномного подхода»; конкурс 2022 г. на соискание грантов по направлению «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых исследований отдельными научными группами».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Burnett A, Mahan C, Vazquez S, Oertel L, Garcia D, Ansell J. Guidance for the practical management of the direct oral anticoagulants (DOACs) in VTE treatment. *J Thromb Thrombolysis*. 2016; 41(1): 206-232. doi: 10.1007/s11239-015-1310-7
2. Vazquez S. Drug-drug interactions in an era of multiple anticoagulants: a focus on clinically relevant drug interactions. *Blood*. 2018; 132(21): 2230-2239. doi: 10.1182/blood-2018-06-848747
3. Wieland E, Shipkova M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic drug monitoring of direct acting oral anticoagulants: Where do we stand? *Therapeutic Drug Monitoring*. 2019; 41(2): 180-191. doi: 10.1097/FTD.0000000000000594
4. Sychev D, Mirzaev K, Cherniaeva M, Kulikova M, Bochkov P, Shevchenko R, et al. Drug-drug interaction of rivaroxaban and calcium channel blockers in patients aged 80 years and older with nonvalvular atrial fibrillation. *Drug Metab Pers Ther*. 2020; 35(3). doi: 10.1515/dmpt-2020-0127
5. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics*. 2003; 4: 397-410. doi: 10.1517/phgs.4.4.397.22747
6. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Johne A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 3473-3478. doi: 10.1073/pnas.97.7.3473.36
7. Kimchi-Sarfaty C, Oh J, Kim I-W, Sauna Z, Calcagno A, Ambudkar S, et al. "Silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science*. 2007; 315(5811): 525-528. doi: 10.1126/science.1135308
8. Fung K, Pan J, Ohnuma S, Lund P, Pixley J, Kimchi-Sarfaty C, et al. MDR1 synonymous polymorphisms alter transporter specificity and protein stability in a stable epithelial monolayer. *Cancer Res*. 2014; 74: 598-608. doi: 10.1158/0008-5472
9. Kanuri H, Kreutz R. Pharmacogenomics of novel direct oral anticoagulants: Newly identified genes and genetic variants. *J Pers Med*. 2019; 9(1): 7. doi: 10.3390/jpm9010007
10. Ing Lorenzini K, Daali Y, Fontana P, Desmeules J, Samer C. Rivaroxaban-induced hemorrhage associated with *ABCB1* genetic defect. *Front Pharmacol*. 2016; 7: 494. doi: 10.3389/fphar.2016.00494
11. Cullell N, Carrera C, Muino E, Torres N, Krupinski J, Fernandez-Cadenas I. Pharmacogenetic studies with oral anticoagulants. Genome-wide association studies in vitamin K antagonist and direct oral anticoagulants. *Oncotarget*. 2018; 9: 29238-29258. doi: 10.18632/oncotarget.25579
12. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, Schwab M, Nies A. Impact of genetic polymorphisms of *ABCB1* (MDR1, P-glycoprotein) on drug disposition and potential clinical implications: Update of the literature. *Clin Pharmacokinet*. 2015; 54: 709-735. doi: 10.1007/s40262-015-0267-1
13. Gouin-Thibault I, Delavenne X, Blanchard A, Siguret V, Salem JE, Narjoz C, et al. Interindividual variability in dabigatran and rivaroxaban exposure: Contribution of *ABCB1* genetic polymorphisms and interaction with clarithromycin. *J Thromb Haemost*. 2017; 15: 273-283. doi: 10.1111/jth.13577
14. Sychev D, Ostroumova O, Cherniaeva M, Shakhgildian N, Mirzaev K, Abdullaev S, et al. The influence of *ABCB1* (rs1045642 and rs4148738) gene polymorphisms on rivaroxaban pharmacokinetics in patients aged 80 years and older with nonvalvular atrial fibrillation. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2022; 29(5): 469-480. doi: 10.1007/s40292-022-00536-3
15. Kaatz S, Ahmad D, Spyropoulos A, Schulman S; Subcommittee on Control of Anticoagulation. Definition of clinically relevant non-major bleeding in studies of anticoagulants in atrial fibrillation and venous thromboembolic disease in non-surgical patients: Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2015; 13: 2119-2126. doi: 10.1111/jth.13140
16. Schulman S, Kearon C; Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in non-surgical patients. *J Thromb Haemost*. 2005; 3: 692-694. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01204.x
17. Levey A, Stevens L, Schmid C, Zhang Y, Castro A 3rd, Feldman H, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009; 150: 604-612. doi: 10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006
18. Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Гржибовский А.М. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения. *Экология человека*. 2020; 27(10): 55-64. [Narkevich AN, Vinogradov KA, Grjibovskii AM. Multiple comparisons in biomedical research: The problem and its solutions. *Human Ecology*. 2020; 27(10): 55-64. (In Russ.)]. doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-55-64
19. Арутюнов Г.П., Фомин И.В., Тарловская Е.И. Арутюнов А.Г., Аляви А.Л., Вышлов Е.В., и др. Алгоритм оценки и модификации факторов риска небольших кровотечений у пациентов с фибрилляцией предсердий, получающих терапию ПОАК: Резолюция Евразийской ассоциации терапевтов. 2019. [Arutyunov GP, Fomin IV, Tarlovskaya EI, Arutyunov AG, Alyavi AL, Vishlov EV, et al. An algorithm for assessing and modifying risk factors for minor bleeding in patients with atrial fibrillation receiving DOAC therapy: Resolution of the Eurasian Association of Therapists. 2019. (In Russ.)]. URL: <https://euat.ru/upload/recommendation/1673341858.pdf> [дата доступа: 01.06.2023].
20. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы: Клинические рекомендации. М.; 2020. [Benign prostatic hyperplasia: Clinical guidelines. Moscow; 2020. (In Russ.)].
21. Lorenzini K, Daali Y, Fontana P, Desmeules J, Samer C. Rivaroxaban-induced hemorrhage associated with *ABCB1* genetic defect. *Front Pharmacol*. 2016; 7: 494. doi: 10.3389/fphar.2016.00494
22. Sennesael A, Larock A, Douxfils J, Elens L, Stillemans G, Wiesen M, et al. Rivaroxaban plasma levels in patients admitted for bleeding events: Insights from a prospective study. *Thromb J*. 2018; 16: 28. doi: 10.1186/s12959-018-0183-3
23. Gouin-Thibault I, Delavenne X, Blanchard A, Siguret V, Salem J, Narjoz C, et al. Interindividual variability in dabigatran and rivaroxaban exposure: Contribution of *ABCB1* genetic polymorphisms and interaction with clarithromycin. *J Thromb Haemost*. 2017; 15(2): 273-283. doi: 10.1111/jth.13577
24. Pham P, Schmidt S, Lesko L, Lip G, Brown J. Association of oral anticoagulants and verapamil or diltiazem with adverse bleeding events in patients with nonvalvular atrial fibrillation and normal kidney function. *JAMA Netw Open*. 2020; 3(4): e203593. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.3593

Сведения об авторах

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии имени академика Б.Е. Вотчала, ректор, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: dimasychev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

Мирзаев Карин Бадавинович – доктор медицинских наук, проректор по научной работе и инновациям, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: karin05doc@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9307-4994>

Черняева Марина Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней и профилактической медицины, ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации; заведующая отделением гериатрии, врач-гериатр, врач-терапевт, ГБУЗ города Москвы «Госпиталь для ветеранов войн № 2 Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: doctor@cherniaeva.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3091-7904>

Шахгильдян Наталья Васильевна – врач-ординатор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: shakhgildian@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7367-6461>

Абдуллаев Шерзод Пардабегович – кандидат биологических наук, заведующий отделом предиктивных и прогностических биомаркеров, Научно-исследовательский институт молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: abdullaevsp@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9001-1499>

Денисенко Наталья Павловна – кандидат медицинских наук, заместитель директора, Научно-исследовательский институт молекулярной и персонализированной медицины, доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: natalypilipenko3990@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3278-5941>

Созаева Жаннет Алимовна – младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров, Научно-исследовательский институт молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: zhannet.sozaeva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5166-7903>

Качанова Анастасия Алексеевна – младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров, Научно-исследовательский институт молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: aakachanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3194-4410>

Шастина Вера Ростиславовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения имени Н.А. Семашко, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); главный врач, ГБУЗ города Москвы «Госпиталь для ветеранов войн № 2 Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: vershast@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2933-7876>

Горбатенкова Светлана Вартановна – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по лечебной работе, ГБУЗ города Москвы «Госпиталь для ветеранов войн № 2 Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: gorbatenkova_sv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0804-4182>

Information about the authors

Dmitry A. Sychev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor of the RAS, Member of the RAS, Honored Scientist of the Russian Federation, Head of the Academician B.E. Votchal Department of Clinical Pharmacology and General Medicine, Rector, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: dimasychev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

Karin B. Mirzaev – Dr. Sc. (Med.), Vice Rector for Science and Innovation, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: karin05doc@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9307-4994>

Marina S. Cherniaeva – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Internal Diseases and Preventive Medicine, Central State Medical Academy of the Administrative Directorate of the President of the Russian Federation; Head of the Department of Geriatrics, Geriatrician, General Physician, War Veterans Hospital No. 2 of the Department of Health Services of Moscow, e-mail: doctor@cherniaeva.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3091-7904>

Nataliia V. Shakhgildian – Resident Physician, Lomonosov Moscow State University, e-mail: shakhgildian@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7367-6461>

Sherzod P. Abdullaev – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute for Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: abdullaevsp@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9001-1499>

Natalia P. Denisenko – Cand. Sc. (Med.), Deputy Director, Research Institute for Molecular and Personalized Medicine, Associate Professor at the Academician B.E. Votchal Department of Clinical Pharmacology and General Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: natalypilipenko3990@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3278-5941>

Zhannet A. Sozaeva – Junior Research Officer at the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute for Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: zhannet.sozaeva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5166-7903>

Anastasia A. Kachanova – Junior Research Officer at the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute for Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, e-mail: aakachanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3194-4410>

Vera R. Shastina – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of N.A. Semashko Department for Public Health and Healthcare, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Chief Physician, War Veterans Hospital No. 2 of the Department of Health Services of Moscow, e-mail: vershast@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2933-7876>

Svetlana V. Gorbatenkova – Cand. Sc. (Med.), Deputy Chief Physician for Medicine, War Veterans Hospital No. 2 of the Department of Health Services of Moscow, e-mail: gorbatenkova_sv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0804-4182>

ПРОДУКЦИЯ МЕДИАТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА И СТРУКТУРА СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В СЕРДЦЕ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Чумакова С.П.¹,
Уразова О.И.¹,
Шипулин В.М.²,
Суходоло И.В.¹,
Стельмашенко А.И.¹,
Денисенко О.А.¹,
Андреев С.Л.²,
Дёмин М.С.¹,
Чурина Е.Г.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

² Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а, Россия)

³ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (634050, г. Томск, просп. Ленина, 36, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Денисенко Ольга Анатольевна,
e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. При ишемической кардиомиопатии (ИКМП) ангиогенез остаётся неизученным.

Цель исследования. Охарактеризовать сосудистую сеть сердца и дисбаланс медиаторов ангиогенеза в коронарном кровотоке в ассоциации с численностью эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) и десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК) в крови у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

Методы. Обследованы 52 больных ИБС (30 пациентов с ИКМП, 22 пациента без ИКМП) и 15 здоровых доноров. В крови из кубитальной вены определяли содержание ЭПК (CD14⁺CD34⁺VEGFR2⁺), из коронарного синуса и кубитальной вены – ДЭК (CD45⁺CD146⁺) методом проточной цитофлуориметрии. В плазме крови регистрировали концентрацию фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A, vascular endothelial growth factor A), фактора роста тромбоцитов (PDGF, platelet-derived growth factor), SDF-1 (stromal cell-derived factor 1) с помощью иммунофлуоресцентного анализа; ангиопоэтина-2, матриксной металлопротеиназы 9 (MMP-9, matrix metalloproteinase 9) – методом иммуноферментного анализа. В биоптатах миокарда определяли удельную площадь сосудов и экспрессию αSMA (smooth muscle alpha-actin) морфометрическим и иммуногистохимическим методами.

Результаты. В периферической крови у больных ИБС вне зависимости от наличия ИКМП содержание ДЭК превышало физиологический уровень, а содержание VEGF-A, PDGF, ангиопоэтина-2 и MMP-9 соответствовало норме. У больных ИБС без кардиомиопатии в крови из кубитальной вены отмечался избыток SDF-1 и ЭПК, а при ИКМП – их физиологическое значение. В коронарном кровотоке у больных ИБС без кардиомиопатии установлено повышение концентрации PDGF, чего не определялось у пациентов с ИКМП, у которых было увеличено содержание ДЭК, ангиопоэтина-2 и MMP-9. Удельная площадь сосудов у больных двух групп была сопоставимой, экспрессия αSMA при ИКМП была в 6,2 раза ниже, чем у больных ИБС без кардиомиопатии.

Заключение. Развитие ИКМП сопровождается нарушением созревания сосудов в миокарде, связанным с отсутствием компенсаторной реакции активации клеточных и гуморальных факторов ангиогенеза.

Ключевые слова: ангиогенез, факторы роста, эндотелиальные прогениторные клетки, миокард, ишемическая болезнь сердца

Для цитирования: Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Суходоло И.В., Стельмашенко А.И., Денисенко О.А., Андреев С.Л., Дёмин М.С., Чурина Е.Г. Продукция медиаторов ангиогенеза и структура сосудистой стенки в сердце при ишемической кардиомиопатии. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 81-90. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.7

Статья поступила: 19.05.2023

Статья принята: 17.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

PRODUCTION OF ANGIOGENESIS MEDIATORS AND THE STRUCTURE OF THE VASCULAR WALL IN THE HEART IN ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY

Chumakova S.P.¹,
Urazova O.I.¹,
Shipulin V.M.¹,
Sukhodolo I.V.²,
Stelmashenko A.I.¹,
Denisenko O.A.¹,
Andreev S.L.²,
Demin M.S.¹,
Churina E.G.^{1,3}

¹ Siberian State Medical University
(Moskovsky Trakt 2, Tomsk 634050,
Russian Federation)

² Cardiology Research Institute,
Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences
(Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012,
Russian Federation)

³ National Research Tomsk State University
(Lenina Ave. 36, Tomsk 634050,
Russian Federation)

Corresponding author:

Olga A. Denisenko,

e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru

ABSTRACT

Background. In the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy (ICMP), angiopoiesis remains unexplored.

The aim. To describe the vasculature of the heart and the imbalance of angiogenesis mediators in the coronary circulation in association with the number of endothelial progenitor cells (EPC) and desquamated endothelial cells (DEC) in the blood of patients with coronary heart disease (CHD), suffering and not suffering from ICMP.

Methods. Fifty-two patients with CHD (30 patients with ICMP, 22 patients without ICMP), 15 healthy donors were examined. The content of EPC (CD14⁺CD34⁺VEGFR2⁺) in the blood from the cubital vein and DEC (CD45⁺CD146⁺) in the blood from the coronary sinus and the cubital vein was determined by flow cytometry. The concentrations of VEGF-A (vascular endothelial growth factor A), PDGF (platelet-derived growth factor), and SDF-1 (stromal cell-derived factor 1) in blood plasma were recorded using immunofluorescence assay; the angiopoietin-2, MMP-9 (matrix metalloproteinase 9) were recorded using enzyme immunoassay. In myocardial biopsies the specific area of vessels and the expression of αSMA (smooth muscle α-actin) were determined by morphometric and immunohistochemical methods.

Results. In the peripheral blood of patients with CHD, regardless of the presence of ICMP, the DEC content exceeded the physiological level, and the VEGF-A, PDGF, angiopoietin-2, and MMP-9 corresponded to the norm. In CHD patients without cardiomyopathy, there was an excess of SDF-1 and EPC in the blood from the cubital vein, and in ICMP, their physiological significance was noted. In the coronary blood flow in patients with CHD without cardiomyopathy, an increase in the concentration of PDGF was found, which was not determined in patients with ICMP, who had an increased content of DEC, angiopoietin-2 and MMP-9. The specific area of the vessels in the patients of the two groups was comparable; the expression of αSMA in ICMP was 6.2 times lower than in patients with CHD without cardiomyopathy.

Conclusion. The development of ICMP is accompanied by impaired maturation of vessels in the myocardium, associated with the absence of a compensatory reaction of activation of cellular and humoral factors of angiogenesis.

Keywords: angiogenesis, growth factors, endothelial progenitor cells, myocardium, coronary heart disease

For citation: Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Sukhodolo I.V., Stelmashenko A.I., Denisenko O.A., Andreev S.L., Demin M.S., Churina E.G. Production of angiogenesis mediators and the structure of the vascular wall in the heart in ischemic cardiomyopathy. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 81-90. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.7

Received: 19.05.2023

Accepted: 17.11.2023

Published: 29.12.2023

ОБОСНОВАНИЕ

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) является тяжёлым заболеванием, не имеющим на сегодняшний день специфической фармакотерапии и характеризующимся прогрессированием болезни у части больных даже после хирургической коррекции коронарного русла и полости левого желудочка [1, 2]. Это демонстрирует недостаточную изученность патогенеза ИКМП, в котором на сегодняшний день активно обсуждается роль хронического воспаления, апоптоза кардиомиоцитов, нарушений гомеостаза Ca^{2+} и сократительной функции миокарда, синтеза различных типов коллагенов и дисфункции микрососудов [2–4]. При этом интерес учёных сосредоточен на вазомоторной форме эндотелиальной дисфункции [5, 6]. Однако ангиогенная форма эндотелиальной дисфункции при ИКМП, включающая нарушение ангиогенеза, баланса репаративных и деструктивных процессов в сосудах [7], не изучается.

Поскольку морфологическим субстратом ишемической болезни сердца (ИБС), осложнённой и не осложнённой ИКМП, служит атеросклероз венечных артерий, то обе формы хронической ИБС сопровождаются повреждением интимы сосудов. С одной стороны, макрофаги бляшки поддерживают хроническое воспаление, пролонгируют альтерацию сосудов и десквамацию эндотелия с помощью матриксных металлопротеиназ (MMP, matrix metalloproteinase) [1, 8, 9], но они же способствуют и васкуляризации атеромы, что увеличивает риск кровоизлияний в бляшку с последующей её дестабилизацией [5, 10]. С другой стороны, индукция ангиогенеза необходима для формирования коллатерального кровотока и репарации повреждённых сосудов, что имеет защитно-приспособительное значение при ИБС и ИКМП. Реализуют ангиогенез эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК), большая часть которых обладает моноцитарным иммунофенотипом и репаративным потенциалом в отношении эндотелия благодаря паракринной секреции факторов ангиогенеза [11].

В связи с этим изучение продукции в сердце таких медиаторов ангиогенеза, как фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF, vascular endothelial growth factor) A, тромбоцитарный фактор роста (PDGF, platelet-derived growth factor), фактор стромальных клеток (SDF, stromal cell-derived factor) 1, ангиопоэтин (Ang) 2 и MMP-9 [11, 12], может установить механизмы ангиогенеза и ангиопоэтической эндотелиальной дисфункции при ИБС, осложнённой и не осложнённой ИКМП. При этом сопоставление численности ЭПК моноцитарного иммунофенотипа и десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК) в крови, а также определение в миокарде удельного объёма сосудов и экспрессии альфа-гладкомышечного актина (α SMA, smooth muscle actin α), который синтезируется гладкомышечными клетками сосудов [13], позволит определить соответствие факторов ангиогенеза степени повреждения эндотелия коронарных сосудов при ИКМП относительно ИБС без кардиомиопатии.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить особенности формирования сосудистой сети в сердце и дисбаланса медиаторов ангиогенеза в коронарном кровотоке в ассоциации с численностью эндотелиальных прогениторных и десквамированных клеток в крови у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

МЕТОДЫ

С февраля 2020 по май 2022 г проведено одномоментное контролируемое (случай-контроль) одноцентровое наблюдательное исследование. В исследование вошли 52 больных ИБС со стенокардией напряжения II–IV функционального класса и недостаточностью кровообращения, преимущественно II–III функционального класса по NYHA (New York Heart Association), имевших инфаркт миокарда в анамнезе и находившихся в стационаре Научно-исследовательского института кардиологии ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» с целью выполнения операции коронарного шунтирования. Пациенты с ИБС были распределены на две группы: с ИКМП – 30 человек (27 мужчин и 3 женщины; средний возраст – 61,0 [56,0; 64,0] год), без кардиомиопатии – 22 человека (18 мужчин и 4 женщины; средний возраст – 64,0 [59,5; 67,0] года). Признаками ИКМП, согласно критериям G.M. Felker и соавт. (2002), была низкая фракция выброса левого желудочка (менее 40 %), гемодинамически значимый стеноз двух или более эпикардальных сосудов либо ствола левой нисходящей артерии [14]. Больные ИБС без кардиомиопатии имели аналогичные изменения коронарного русла, но обладали сохранной фракцией выброса левого желудочка (более 40 %). Группу контроля составили 15 практически здоровых доноров (13 мужчин и 2 женщины; средний возраст – 57,63 $\pm$ 8,12 года), не имеющих каких-либо заболеваний сердечно-сосудистой системы и жалоб соответствующего характера.

Больные ИБС, страдающие и не страдающие ИКМП, были сопоставимыми по возрасту, полу, индексу массы тела, продолжительности ИБС, функциональному классу стенокардии и недостаточности кровообращения, частоте назначения статинов. Однако они статистически значимо различались по параметрам левого желудочка: у пациентов с ИКМП относительно больных ИБС без кардиомиопатии была выше масса миокарда (233,0 [221,7; 266,2] г против 184,0 [140,5; 214,5] г; $p < 0,001$), но ниже фракция выброса (30,00 [22,00; 36,00] % против 59,50 [50,25; 67,00] %; $p < 0,001$), поскольку снижение последней менее 40 % было критерием диагностики ИКМП и распределения больных на группы. Характер коморбидности в когортах пациентов также был сопоставимым, за исключением более частой встречаемости у больных ИБС без ИКМП сахарного диабета 2-го типа (31,82 % против 6,67 %; $p = 0,046$), а у пациентов с ИКМП –

хронических нарушений мозгового кровообращения (90,0 % против 59,1 %; $p = 0,023$).

Всем больным ИБС выполнялась операция коронарного шунтирования с применением сходного анестезиологического пособия (диазепама, кетамина, фентанила, промедола, пипекурония). На дооперационном этапе больные обеих групп получали лечение по общепринятым принципам терапии ИБС (нитраты продлённого действия и по требованию – блокаторы кальциевых каналов, β 1-адреноблокаторы, статины, антиагреганты). Терапия была аналогичной в группах пациентов с ИБС, кроме более частого использования блокаторов кальциевых каналов у больных ИБС без кардиомиопатии, относительно пациентов с ИКМП (63,6 % против 0 %; $p < 0,001$). Более частое назначение антикоагулянтов у больных ИБС без кардиомиопатии, возможно, связано с большей, чем при ИКМП, интенсивностью атерогенеза и вовлечённостью в этот процесс сосудов нижних конечностей.

Критериями исключения больных из исследования считали: возраст старше 70 лет; наличие аллергического заболевания в стадии обострения, аутоиммунных болезней, анемии, опухолевого процесса, сифилиса, ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов; наличие острых инфекционных заболеваний менее чем за 3 недели до операции; назначение эритропоэтиновой или иммуносупрессивной терапии; отказ пациента от исследования.

Исследования проводились в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1975 г.), и с разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 7981 от 16.12.2019). У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Материалом исследования служили образцы крови из кубитальной вены (периферическая кровь) и крови из коронарного синуса (синусовая кровь), стабилизированные гепарином (25 МЕ/мл), а также биоптаты ушка правого предсердия. Периферическую кровь забирали в объёме 5 мл из кубитальной вены утром натощак как у здоровых доноров, так и у больных ИБС обеих групп исследования в день операции непосредственно перед индукцией в наркоз. Периферическую кровь использовали для иммунофенотипирования ЭПК и ДЭК, её плазму – для оценки концентрации изучаемых медиаторов. Кровь из коронарного синуса в объёме 5 мл получали только у пациентов с ИБС: интраоперационно, путём трансмиокардиальной пункции после осуществления хирургического доступа к сердцу, но перед подключением аппарата искусственного кровообращения и проведением основного этапа операции. В крови из коронарного синуса определяли содержание ДЭК, плазму крови из коронарного синуса использовали для исследования концентрации изучаемых медиаторов. Биоптаты миокарда ушка правого предсердия в объёме не более 10 мм³ получали интраоперационно на этапе его канюляции для подключения аппарата искусственного кровообращения, но до начала экстракорпоральной перфу-

зии. Биоптаты миокарда использовали для определения удельной площади сосудов морфометрическим методом и экспрессии α -SMA иммуногистохимическим методом.

Абсолютное количество ДЭК и относительное содержание ЭПК в крови определяли методом проточной цитофлуориметрии в венозной крови, полученной из кубитальной вены у здоровых доноров и у больных ИБС обеих групп (периферическая кровь). У пациентов содержание ДЭК оценивали также в крови из коронарного синуса. Цельную кровь лизировали путём добавления лизирующего раствора «FACS Lysingsolution» (BD Biosciences, США), далее клетки отмывали трижды 20-кратным объёмом буфера Cell-WASH-solution BD (Becton Dickinson, США). Для определения ЭПК с иммунофенотипом CD14⁺CD34⁺VEGFR2⁺ и ДЭК с иммунофенотипом CD45⁺CD146⁺ использовали моноклональные антитела Mouse Anti-Human CD14-FITC, CD34-PE, VEGFR2(KDR; CD309)-Alexa Fluor 647, CD45-FITC и CD146-Alexa Fluor 647, согласно инструкциям производителя (BD Biosciences, США). Измерения интенсивности флуоресценции проводили на проточном цитометре «Accuri C6» (BD Biosciences, США), анализ полученных данных осуществляли при помощи программного приложения BD Cell Quest for Mac OS[®] X (BD Biosciences, США). Долю ДЭК среди всех анализируемых клеток крови соотносили с общим количеством лейкоцитов, экспрессирующих CD45⁺ (CD45 – общий лейкоцитарный антиген), выражая в $\times 10^5$ /л. Общее количество лейкоцитов в крови оценивали методом проточной цитофлуориметрии с помощью гематологического анализатора XS-1000i (Sysmex Corporation, Япония).

Плазму периферической крови у больных ИБС обеих групп исследования и здоровых доноров, а также плазму крови из коронарного синуса у больных ИБС обеих групп алиquotировали и хранили при температуре -80°C не более 12 месяцев. Концентрацию VEGF-A, PDGF, SDF-1 определяли с помощью коммерческой тест-системы для мультиплексного анализа «Magnetic Luminescence Assay Kit for VEGFA, VEGFB, PDGF, SDF1, SCF, FGF1, GM-CSF, MCP1» (Cloud-Clone Corp., США) и автоматизированного анализатора Bio-Plex Protein Assay System (Bio-Rad, США). Концентрацию Ang-2 и протеиназы MMP-9 в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов «RayBio Human ANGPT2 ELISA Kit» (RayBiotech, США) и «Human MMP9 ELISA» (ThermoFisher Scientific, США), согласно инструкциям производителей.

Полученные образцы миокарда фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине, парафинизировали и изготавливали гистологические срезы толщиной 4–5 мкм при помощи автоматического ротационного микротомы HM 355 S (Thermo Scientific, США). Срезы окрашивались гематоксилином и эозином [15], заключались в монтирующую среду «BioMount» (BioOptica, Италия). Иммуногистохимическое окрашивание выполняли на парафиновых срезах толщиной 4 мкм, для которых проводили депарафинизацию, демаскировку антигенов, блокировку неспецифического связывания 3%-м бычьим сывороточным альбумином в растворе фосфатно-

солевого буфера (PBS, phosphate-buffered saline). Далее срезы инкубировали с первичными антителами к α SMA (Spring BioScience, США) в течение 60 мин во влажной камере с последующей 3-кратной отмывкой в PBS, затем инкубировали со вторичными HRP-мечеными антителами в течение 45 мин с последующей 3-кратной отмывкой в PBS. На последнем этапе добавляли DAB-хромоген субстрат (система визуализации HRP-DAB (пероксидаза хрена – диаминобензидин (horseradish peroxidase – diaminobenzidine)); DAKO, США), окрашивали гематоксилином. Все срезы заключались в монтирующую среду «BioMount» (BioOptica, Италия). Препараты изучали в проходящем свете на микроскопе «Axioskop 40» (Carl Zeiss, Германия), оцифровка изображений проводилась при помощи фотокамеры «Canon G 10» (Canon, Япония). Подсчёт тканевых маркеров производили при увеличении $\times 400$ в 10 случайно выбранных полях зрения, что соответствует 1 мм² ткани [16]. С помощью программы обработки графических изображений «AxioVision» (Carl Zeiss, ImageJ) оценивали удельную площадь сосудов и экспрессию α SMA как % от площади изученной ткани.

Статистический анализ данных был выполнен с помощью программы «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., США).

При статистическом описании результатов для количественных признаков вычисляли медиану, 25-й и 75-й перцентили; для качественных – выборочную долю. С целью сравнительного анализа выборочных данных применяли критерии Манна – Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок), используя поправку Бенджамини – Хохберга на множественное сравнение. Для сравнения частот встречаемости признака в группах применяли критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса на непрерывность. Результаты статистического анализа считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание ДЭК в периферической крови у больных ИБС вне зависимости от наличия ИКМП превышало показатель у здоровых доноров и не различалось между группами пациентов как в крови из кубитальной вены (табл. 1), так и в крови из коронарного синуса (табл. 2). При этом численность ЭПК в периферической крови у больных ИБС без кардиомиопатии была повышенной (табл. 1). У пациентов с ИКМП, напротив, данный пара-

ТАБЛИЦА 1

СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ И ДЕСКВАМИРОВАННЫХ КЛЕТОК, А ТАКЖЕ МЕДИАТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В КРОВИ ИЗ КУБИТАЛЬНОЙ ВЕНЫ У БОЛЬНЫХ ИБС, СТРАДАЮЩИХ И НЕ СТРАДАЮЩИХ ИКМП, МЕ [Q1; Q3]

TABLE 1

THE CONTENT OF ENDOTHELIAL PROGENITOR AND DESQUAMATED CELLS AND ANGIOGENESIS MEDIATORS IN THE CUBITAL VEIN BLOOD IN CORONARY HEART DISEASE PATIENTS WITH AND WITHOUT ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY, ME [Q1; Q3]

Параметры	Группа обследуемых лиц		
	ИБС без ИКМП	ИБС с ИКМП	Здоровые доноры
Содержание ЭПК VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ CD14 ⁺ , %	0,74 [0,46; 1,23] $p_k < 0,001$	0,31 [0,15; 0,64] $p_k = 0,260$ $p = 0,038$	0,19 [0,13; 0,32]
Количество ДЭК CD45 ⁺ CD146 ⁺ , $\times 10^5$ /л	7,25 [6,80; 7,47] $p_k = 0,038$	7,26 [5,43; 17,94] $p_k = 0,037$ $p = 0,597$	5,12 [3,73; 5,84]
VEGF-A, пг/мл	4,50 [3,00; 8,00] $p_k = 0,314$	6,00 [3,00; 9,50] $p_k = 0,216$ $p = 0,502$	3,80 [1,00; 6,50]
SDF-1, пг/мл	60,00 [50,00; 80,00] $p_k = 0,042$	49,00 [37,00; 56,00] $p_k = 0,174$ $p = 0,115$	30,00 [5,00; 45,00]
PDGF, пг/мл	3,10 [2,10; 7,05] $p_k = 1,000$	4,85 [1,20; 9,10] $p_k = 1,000$ $p = 0,870$	2,68 [1,65; 7,10]
Angiopoetin-2, пг/мл	445,0 [137,5; 552,5] $p_k = 1,000$	540,0 [403,0; 670,0] $p_k = 0,612$ $p = 0,884$	388,0 [317,0; 460,0]
MMP-9, пг/мл	11,95 [7,00; 13,40] $p_k = 0,460$	13,65 [6,50; 19,60] $p_k = 0,848$ $p = 0,588$	13,20 [9,60; 19,00]

Примечание. p_k – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток у здоровых доноров; p – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток у больных ИБС без кардиомиопатии; полужирным выделены статистически значимые различия.

ТАБЛИЦА 2

СОДЕРЖАНИЕ ДЕСКВАМИРОВАННЫХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК И МЕДИАТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В КРОВИ ИЗ КОРОНАРНОГО СИНУСА В АССОЦИИ С ХАРАКТЕРИСТИКОЙ УДЕЛЬНОЙ ПЛОЩАДИ СОСУДОВ И ЭКСПРЕССИИ α SMA В МИОКАРДЕ У БОЛЬНЫХ ИБС, СТРАДАЮЩИХ И НЕ СТРАДАЮЩИХ ИКМП, МЕ [Q1; Q3]

TABLE 2

THE CONTENT OF DESQUAMATED ENDOTHELIAL CELLS AND ANGIOGENESIS MEDIATORS IN THE CORONARY SINUS BLOOD IN ASSOCIATION WITH THE CHARACTERISTICS OF THE SPECIFIC VESSEL AREA AND α SMA EXPRESSION IN THE MYOCARDIUM OF CORONARY HEART DISEASE PATIENTS WITH AND WITHOUT ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY, ME [Q1; Q3]

Параметры	Группа обследуемых лиц	
	ИБС без ИКМП	ИБС с ИКМП
Количество ДЭК CD45 ⁺ CD146 ⁺ , $\times 10^5$ /л	10,17 [6,80; 18,83] $p_1 = 0,128$	17,98 [10,27; 22,97] $p_1 = 0,036$ $p = 0,156$
VEGF-A, пг/мл	7,80 [3,25; 9,75] $p_1 = 0,041$	6,89 [3,25; 15,60] $p_1 = 0,007$ $p = 0,918$
SDF-1, пг/мл	40,30 [26,00; 62,00] $p_1 = 0,086$	46,80 [32,50; 64,00] $p_1 = 0,286$ $p = 0,623$
PDGF, пг/мл	7,60 [3,70; 9,94] $p_1 = 0,036$	7,86 [2,92; 8,77] $p_1 = 0,674$ $p = 0,736$
Ангиопоэтин-2, пг/мл	767,0 [494,0; 988,0] $p_1 = 0,128$	1111,5 [845,0; 1235,0] $p_1 < 0,001$ $p = 0,002$
MMP-9, пг/мл	5,92 [5,07; 17,42] $p_1 = 0,972$	16,64 [6,63; 29,12] $p_1 = 0,649$ $p = 0,038$
Удельная площадь сосудов, %	5,70 [5,60; 6,70]	6,60 [4,60; 8,90] $p = 0,815$
Экспрессия α SMA, %	8,10 [7,60; 11,30]	1,30 [0,60; 2,80] $p = 0,007$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток в периферической крови; p – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов/клеток у больных ИБС без кардиомиопатии; полужирным выделены статистически значимые различия.

метр общего кровотока варьировал в пределах физиологических значений (табл. 1), при том что в синусовой крови численность ДЭК была в 2,5 раза больше, чем в периферической, чего не отмечалось у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 1, 2).

Содержание факторов роста VEGF-A и PDGF в периферической крови у больных ИБС соответствовало значениям у здоровых доноров вне зависимости от наличия ИКМП и не отличалось между группами пациентов (табл. 1), однако анализ коронарного кровотока выявил существенные различия (табл. 2). Так, у больных ИБС без кардиомиопатии в синусовой крови уровень PDGF был выше, чем в периферической крови (табл. 1, 2). При этом содержание VEGF-A в крови из коронарного синуса преобладало над его уровнем в крови из кубитальной вены у больных ИБС обеих групп без отличий между когортами пациентов (табл. 1, 2). Концентрации SDF-1 в периферической крови превышала норму только у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 1), однако

вне зависимости от наличия ИКМП уровень данного медиатора соответствовал таковому в синусовой крови, и различия между группами пациентов не выявлялись в обоих образцах крови (табл. 1, 2).

Содержание Ang-2 и MMP-9 в периферической крови у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, регистрировалось на уровне параметров здоровых доноров и не проявляло различий между группами пациентов (табл. 1). Между тем концентрация обоих медиаторов в крови из коронарного синуса у пациентов с ИКМП была выше, чем у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 2). При этом концентрация Ang-2 в синусовой крови преобладала над таковой в периферической только у пациентов с ИКМП, а содержание MMP-9 соответствовало его содержанию в периферической крови вне зависимости от наличия ИКМП (табл. 1, 2).

Изучение гистологических препаратов миокарда показало, что удельная площадь сосудов у больных ИБС обеих групп исследования определялась на сопо-

ставимом уровне, однако экспрессия α SMA у пациентов с ИКМП была в 6,2 раза ниже, чем у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные демонстрируют существенные различия в медиаторном профиле крови из коронарного синуса у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, которое не соответствует характеру дисбаланса факторов ангиогенеза в периферической крови (табл. 1, 2), что указывает на вовлечение различных механизмов регуляции ангиогенеза в поражённом сердце и на системном уровне. Так, у пациентов с ИКМП содержание ДЭК в крови из коронарного синуса было выше, чем в периферической (табл. 1, 2), а уровень ЭПК в крови из кубитальной вены сохранялся в норме (табл. 2). У больных ИБС без кардиомиопатии, напротив, численность ДЭК в образцах крови была сопоставимой (табл. 1, 2) при высоком содержании ЭПК в системном кровотоке (табл. 2). Это свидетельствует об усиленном привлечении ЭПК с репаративным потенциалом из костного мозга в кровь у больных ИБС без кардиомиопатии, что является компенсаторной реакцией при атерогенезе и, очевидно, обеспечивает репаративный ангиогенез, адекватный деструкции эндотелия в сердце. У больных ИКМП данная компенсаторная реакция, по всей видимости, не реализуется: физиологический уровень ЭПК в крови недостаточен для репарации коронарных сосудов в условиях атеросклероза, поэтому ангиогенез не эффективен, и преобладает деструкция эндотелия, что доказывает наличие ангиопоэтической эндотелиальной дисфункции при ИКМП. Важно отметить, что по результатам измерения содержания ДЭК в крови из кубитальной вены усиленной деструкции эндотелия коронарных сосудов при ИКМП выявлено не было (табл. 1).

Центральным регулятором ангиогенеза является HIF-1 (hypoxia-inducible factor 1), поскольку он усиливает транскрипцию генов нескольких проангиогенных белков (SDF-1, VEGF, PDGFB, Ang-1, Ang-2) и их рецепторов [17], благодаря чему препятствует ишемическому повреждению миокарда [18]. Недостаточная репарация коронарных сосудов при ИКМП может быть обусловлена нарушением баланса медиаторов ангиогенеза, обеспечивающих мобилизацию ЭПК из костного мозга, их хоуминг и пролиферацию/дифференциацию/секреторную активность в коронарных сосудах. Среди исследованных медиаторов ангиогенеза в периферической крови у больных ИБС без кардиомиопатии, демонстрирующих избыток ЭПК, повышенной оказалась только концентрация SDF-1, а у пациентов с ИКМП оба параметра (содержание ЭПК и SDF-1) соответствовали норме (табл. 1). Накопление SDF-1 в плазме стимулирует мобилизацию из костного мозга CXCR4⁺-клеток, включая гемопоэтические стволовые клетки и ЭПК, которые экспрессируют CXCR4 как рецептор к SDF-1. Взаимодействие SDF-1 и CXCR4 также стимулирует привлечение и удержание стволовых клеток в ишемизированных областях [12, 19].

Содержание другого активатора ангиогенеза VEGF-A в крови из коронарного синуса превышало таковое в периферической крови у больных ИБС обеих групп (табл. 1, 2), отражая, очевидно, индукцию ангиогенеза в условиях ишемии. VEGF-A связывается с VEGFR1 и VEGFR2, стимулируя пролиферацию и дифференциацию ЭПК в эндотелиальные клетки, образование тубулярных структур и повышение проницаемости сосудистой стенки, ингибирует апоптоз кардиомиоцитов [12, 20–22]. Учитывая, что при гипоксии повышается экспрессия VEGFR1 [21], который является рецептором-ловушкой для VEGF-A и может ингибировать ангиогенез [22], активировать секрецию MMP-9 из миоцитов сосудов [23], то у пациентов с ИКМП ввиду распространённой ишемии миокарда взаимодействие VEGF-A с VEGFR1 может быть усиленным, объясняя отсутствие роста его концентрации в крови. При этом, помимо семейства проангиогенных VEGF-A_{xxxh}, существует и семейство изоформ VEGF-A_{xxxh}b, ингибирующих ангиогенез [23]. Синтез последних возрастает под действием трансформирующего фактора роста (TGF, transforming growth factor) β [23], который активно секретируется в миокарде больных ИКМП [24]. Кроме того, VEGF-A обладает проатерогенными свойствами (аккумулирует триацилглицеролы, ингибирует липопротеиновую липазу), в отличие от VEGF-B, которому свойственны гиполипидемические эффекты [22].

При этом увеличение концентрации PDGF в синусовой крови относительно периферической крови у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 1, 2) свидетельствует о стабилизации вновь образованных с участием VEGF-A сосудов в сердце, которой у пациентов с ИКМП, вероятно, не происходит. Известно, что PDGF способствует не только дифференцировке, мобилизации ЭПК из костного мозга и их миграции [25], но и созреванию сосудов, поскольку, в отличие от VEGF, привлекает перicytes [26], гладкомышечные клетки сосудов и стимулирует эндотелиально-мезенхимальный переход [27]. Он реализуется в сосудистой стенке и представляет собой процесс утраты эндотелиального фенотипа ЭПК и трансдифференцировки их в гладкомышечные клетки, но при дилатационной кардиомиопатии он ещё и сопровождается переходом ЭПК в миофибробласты [28]. Добавление PDGF в культуру гладкомышечных клеток *in vitro* увеличивает их выживаемость посредством активации сигнального пути с участием Notch3, а стимуляция Notch1-сигналинга поддерживает их контрактильный фенотип [13]. Это объясняет более высокую экспрессию α SMA в миокарде у больных ИБС без кардиомиопатии по сравнению с пациентами, страдающими ИКМП (табл. 2). Белок α SMA синтезируется гладкомышечными клетками сосудов, которые являются самыми многочисленными в сосудистой стенке, обеспечивая поддержание тонуса сосудов [13, 28]. Учитывая, что удельная площадь сосудов у больных ИБС без ИКМП и с ИКМП была сопоставимой, а экспрессия α SMA была ниже у пациентов с ИКМП (табл. 2), можно заключить, что при ИКМП объём сосудистого русла не изменён, но, очевидно, нарушается структура сосудистой стенки. То есть при ИКМП вновь образованные сосуды являются незрелыми, а имеющиеся, ве-

роятно, теряют тонус, что усугубляет ишемию и вызывает сократительную дисфункцию миокарда и прогрессирование сердечной недостаточности.

Ang-2 является негативным регулятором ангиогенеза, поскольку блокирует связывание проангиогенного Ang-1 с их общим рецептором Tie-2, дестабилизирует ранние сосуды, увеличивает их проницаемость [29]. Однако Ang-2 в условиях избытка VEGF-A может быть агонистом Tie-2 и активировать ангиогенез, а в отсутствие избытка VEGF-A аккумуляция Ang-2 ассоциирована с регрессией сосудов [23]. Поэтому увеличение концентрации Ang-2 в синусовой крови у пациентов с ИКМП относительно больных ИБС без кардиомиопатии при сопоставимом между ними уровне VEGF-A в коронарном кровотоке (табл. 2) можно рассматривать как признак нарушения ангиогенеза при ИКМП. Ang-2 и MMP-9 относят к маркерам сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза и эндотелиальной дисфункции [6]. MMP-9 разрушает компоненты экстрацеллюлярного матрикса, включая фибронектин [24, 30], входящий в состав базолатеральной мембраны сосудов [31]. Это может способствовать как ангиогенезу, так и повреждению сосудов [6, 30]. Учитывая, что у пациентов с ИКМП содержание MMP-9 и ДЭК в синусовой крови оказалось выше, чем в периферической, а у больных ИБС без кардиомиопатии было одинаковым (табл. 1, 2), то гиперсекреция MMP-9 в миокарде, вероятно, свидетельствует о его ангиодеструктивном эффекте.

Результаты исследования могут быть ограничены клиническим статусом больных, поскольку полученные данные справедливы для больных ИБС с гемодинамически значимым многососудистым поражением магистральных коронарных артерий. Поэтому у пациентов в начальной стадии формирования ИКМП установленные закономерности могут ещё не обнаруживаться, что требует дальнейших исследований. Результаты получены для лиц европеоидного происхождения, проживающих преимущественно в Сибирском федеральном округе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые на сегодняшний день исследования механизмов ИКМП рассматривают в качестве её патогенетических факторов дисбаланс различных типов коллагена, апоптоз кардиомиоцитов, нарушение гомеостаза Ca^{2+} и сократительной функции миокарда, вазомоторную дисфункцию микрососудов. При этом изучения механизмов ангиогенеза у больных ИКМП ранее не проводилось. Настоящее исследование показало, что при ИБС, осложнённой и не осложнённой ИКМП, реализуются два различных варианта её патогенеза: с нарушением ангиогенеза и без такового. Развитие ИБС без кардиомиопатии сопровождается компенсаторным усилением мобилизации ЭПК из костного мозга в ответ на атерогенез под действием избытка SDF-1 в крови. ЭПК активно привлекаются в сердце с помощью VEGF-A и PDGF. В миокарде образуются зрелые, содержащие достаточ-

ное количество гладкомышечных клеток сосуда (экспрессируют α SMA), что происходит благодаря секреции PDGF, поэтому активация ангиогенеза ограничивается прогрессированием ишемии, и десквамация эндотелия сохраняется умеренной. Формирование ИКМП ассоциировано с отсутствием повышенной мобилизации ЭПК, которые привлекаются в миокард под действием только VEGF-A, где без участия PDGF образуются незрелые сосуды, легко подвергающиеся деструкции с участием Ang-2 и MMP-9. Такой ангиогенез, очевидно, неадекватен степени повреждения сосудов и формирует порочный круг ишемии миокарда при ИКМП. Полученные знания о механизмах дисрегуляции ангиогенеза при ИКМП определяют мишени для её ангиогенной терапии, разработка которой позволит замедлить прогрессирование этого тяжёлого заболевания.

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 / REFERENCES

1. Del Buono MG, Moroni F, Montone RA, Azzalini L, Sanna T, Abbate A. Ischemic cardiomyopathy and heart failure after acute myocardial infarction. *Curr Cardiol Rep.* 2022; 24(10): 1505-1515. doi: 10.1007/s11886-022-01766-6
2. Шипулин В.М., Пряхин А.С., Андреев С.Л., Шипулин В.В., Чумакова С.П., Рябова Т.Р., и др. Современные клинико-фундаментальные аспекты в диагностике и лечении пациентов с ишемической кардиомиопатией (обзор). *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021; 36(1): 20-29. [Shipulin VM, Pryakhin AS, Andreev SL, Shipulin VV, Chumakova SP, Ryabova TR, et al. Modern clinical and fundamental aspects in the diagnosis and treatment of patients with ischemic cardiomyopathy (review). *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2021; 36(1): 20-29. (In Russ.)]. doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-1-20-29
3. Gyöngyösi M, Winkler J, Ramos I, Do QT, Firat H, McDonald K, et al. Myocardial fibrosis: Biomedical research from bench to bedside. *Eur J Heart Fail.* 2017; 19(2): 177-191. doi: 10.1002/ejhf.696
4. 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
5. Poston RN. Atherosclerosis: Integration of its pathogenesis as a self-perpetuating propagating inflammation: A review. *Cardiovasc Endocrinol Metab.* 2019; 8(2): 51-61. doi: 10.1097/XCE.0000000000000172
6. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev Cardiovasc Med.* 2022; 23(2): 73. doi: 10.31083/j.rcm2302073

7. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96(4): 659-665. [Melnikova YS, Makarova TP. Endothelial dysfunction as the key link of chronic diseases pathogenesis. *Kazan Medical Journal*. 2015; 96(4): 659-665. (In Russ.)]. doi: 10.17750/KMJ2015-659
8. Eligini S, Cosentino N, Fiorelli S, Fabbicocchi F, Niccoli G, Refaat H. Biological profile of monocyte-derived macrophages in coronary heart disease patients: implications for plaque morphology. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 8680. doi: 10.1038/s41598-019-44847-3
9. Xu H, Jiang J, Chen W, Li W, Chen Z. Vascular macrophages in atherosclerosis. *J Immunol Res*. 2019: 4354786. doi: 10.1155/2019/4354786
10. Moroni F, Ammirati E, Norata GD, Magnoni M, Camici PG. The role of monocytes and macrophages in human atherosclerosis, plaque neoangiogenesis, and atherothrombosis. *Mediators Inflamm*. 2019; 2019: e7434376. doi: 10.1155/2019/7434376
11. Chopra H, Hung MK, Kwong DL, Zhang CF, Pow EHN. Insights into endothelial progenitor cells: Origin, classification, potentials, and prospects. *Stem Cells Int*. 2018; 2018: 9847015. doi: 10.1155/2018/9847015
12. 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. [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
13. Cao G, Xuan X, Hu J, Zhang R, Jin H, Dong H. How vascular smooth muscle cell phenotype switching contributes to vascular disease. *Cell Commun Signal*. 2022; 20: 180. doi: 10.1186/s12964-022-00993-2
14. Felker GM, Shaw GM, O'Connor CM. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 39(2): 208-210. doi: 10.1016/s0735-1097(01)01738-7
15. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. *Микроскопическая техника*. М.: Медицина; 1996. [Sarkisov DS, Perov YuL. *Microscopy technique*. Moscow: Meditsina; 1996. (In Russ.)].
16. Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия*. М.: Медицина, 1990. [Avtandilov GG. *Medical morphometry*. Moscow: Meditsina; 1990. (In Russ.)].
17. Zimna A, Kurpisz M. Hypoxia-inducible factor-1 in physiological and pathophysiological angiogenesis: Applications and therapies. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 549412. doi: 10.1155/2015/549412
18. Sun J, Shen H, Shao L, Teng X, Chen Y, Liu X, et al. HIF-1 α overexpression in mesenchymal stem cell-derived exosomes mediates cardioprotection in myocardial infarction by enhanced angiogenesis. *Stem Cell Res Ther*. 2020; 11: 373. doi: 10.1186/s13287-020-01881-7
19. Wang X, Jiang H, Guo L, Wang S, Cheng W, Wan L, et al. SDF-1 secreted by mesenchymal stem cells promotes the migration of endothelial progenitor cells via CXCR4/PI3K/AKT pathway. *J Mol Histol*. 2021; 52: 1155-1164. doi: 10.1007/s10735-021-10008-y
20. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: Beyond discovery and development. *Cell*. 2019; 176(6): 1248-1264. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.021
21. Laakkonen JP, Lähdevuo J, Jauhainen S, Heikura T, Ylä-Herttuala S. Beyond endothelial cells: Vascular endothelial growth factors in heart, vascular anomalies and placenta. *Vasc Pharmacol*. 2019; 112: 91-101. doi: 10.1016/j.vph.2018.10.005
22. Zhou Y, Zhu X, Cui H, Shi J, Yuan G, Shi S, et al. The role of the VEGF family in coronary heart disease. *Front Cardiovasc Med*. 2021; 24(8): 738325. doi: 10.3389/fcvm.2021.738325
23. Bowler E, Oltean S. Alternative splicing in angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(9): 2067. doi: 10.3390/ijms20092067
24. Chumakova S, Urazova O, Shipulin V, Vins M, Pryakhin A, Sukhodolo I, et al. Galectin 3 and non-classical monocytes of blood as myocardial remodeling factors at ischemic cardiomyopathy. *IJC Heart Vasc*. 2021; 33: 100766. doi: 10.1016/j.ijcha.2021.100766
25. Sil S, Periyasamy P, Thangaraj A, Chivero ET, Buch S. PDGF/PDGR axis in the neural systems. *Mol Aspects Med*. 2018; 62: 63-74. doi: 10.1016/j.mam.2018.01.006
26. Marushima A, Nieminen M, Kremenetskaia I, Gianni-Barrera R, Woitzik J, von Degenfeld G, et al. Balanced single-vector co-delivery of VEGF/PDGF-BB improves functional collateralization in chronic cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2020; 40(2): 404-419. doi: 10.1177/0271678X18818298
27. Zhou J, Shao L, Yu J, Huang J, Fengcorresponding Q. PDGF-BB promotes vascular smooth muscle cell migration by enhancing Pim-1 expression via inhibiting miR-214. *Ann Transl Med*. 2021; 9(23): 1728. doi: 10.21037/atm-21-5638
28. Xie Y, Liao J, Yu Y, Guo Q, Yang Y, Ge J, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition in human idiopathic dilated cardiomyopathy. *Mol Med Rep*. 2018; 17(1): 961-969. doi: 10.3892/mmr.2017.8013
29. Ha JM, Jin SY, Lee HS, Kum HJ, Vafaenik F, Ha HK, et al. Akt1-dependent expression of angiopoietin 1 and 2 in vascular smooth muscle cells leads to vascular stabilization. *Exp Mol Med*. 2022; 54(8): 1133-1145. doi: 10.1038/s12276-022-00819-8
30. Zhang X, Chen CT, Bhargava M, Torzilli PA. A comparative study of fibronectin cleavage by MMP-1, -3, -13, and -14. *Cartilage*. 2012; 3(3): 267-277. doi: 10.1177/1947603511435273
31. Hamidi H, Ivaska J. Vascular morphogenesis: An integrin and fibronectin highway. *Curr Biol*. 2017; 27(4): R158-R161. doi: 10.1016/j.cub.2016.12.036

Сведения об авторах

Чумакова Светлана Петровна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патофизиологии, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, 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, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: urazova72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Шипулин Владимир Митрофанович – доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», e-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Суходоло Ирина Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: suhodolo.iv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9848-2068>

Степашенко Ангелина Игоревна – ассистент кафедры морфологии и общей патологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: staranie@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8284-6864>

Денисенко Ольга Анатольевна – соискатель кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4524-8491>

Андреев Сергей Леонидович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения № 1, Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», e-mail: anselen@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4049-8715>

Демин Максим Сергеевич – аспирант кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: maksimd25111996@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-0951-3158>

Чурина Елена Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор кафедры органической химии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», e-mail: Lena1236@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8509-9921>

Information about the authors

Svetlana P. Chumakova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Pathophysiology, Research Officer at the Central Research Laboratory, 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 the RAS, Head of the Department of Pathophysiology, Researcher at the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University, e-mail: urazova72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Vladimir M. Shipulin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Research Officer, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Irina V. Sukhodolo – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, e-mail: suhodolo.iv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9848-2068>

Angelina I. Stelmashenko – Teaching Assistant at the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, e-mail: staranie@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8284-6864>

Olga A. Denisenko – External Doctorate Student at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, e-mail: olga-muraveinik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4524-8491>

Sergey L. Andreev – Cand. Sc. (Med.), Research Officer, Cardiovascular Surgeon at the Cardiosurgical Department No. 1, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: anselen@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4049-8715>

Maksim S. Demin – Postgraduate at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, e-mail: maksimd25111996@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-0951-3158>

Elena G. Churina – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University; Professor at the Department of Organic Chemistry, National Research Tomsk State University, e-mail: Lena1236@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8509-9921>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ *RICKETTSIA HELVETICA*

Рар В.А.¹,
Иголкина Я.П.¹,
Якименко В.В.²,
Тикунов А.Ю.¹,
Никитин А.Я.³,
Епихина Т.И.¹,
Тикунова Н.В.¹

¹ ФГБУН Институт химической биологии
и фундаментальной медицины
СО РАН (630090, г. Новосибирск,
просп. Лаврентьева, 8, Россия)

² ФБУН «Омский
научно-исследовательский институт
природно-очаговых инфекций» (644080,
г. Омск, просп. Мира, 7, Россия)

³ ФКУЗ Иркутский
научно-исследовательский
противочумный институт Сибири
и Дальнего Востока Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
(664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Рар Вера Александровна,
e-mail: rarv@niboch.nsc.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Генетическая вариабельность *Rickettsia helvetica* недостаточно изучена.

Цель исследования. Изучить встречаемость и генетическую вариабельность *R. helvetica* в *Ixodes* spp., собранных в Сибири и на Дальнем Востоке.

Методы. На наличие риккетсий проанализированы клещи, снятые с грызунов в Омской области ($n = 280$) и собранные на флаг на островах Путятина и Русский в Приморском крае ($n = 482$). Для всех образцов риккетсий секвенированы фрагменты гена *gltA*, а для ряда образцов *R. helvetica* дополнительно секвенированы фрагменты 16S rRNA, *ompA*, *ompB*, *sca4*, *htrA* и *groEL* генов и 23S–5S межгенного спейсера.

Результаты. Всего было выявлено четыре вида риккетсий. Из них *R. helvetica* обнаружена в 72,2 % *Ixodes apronophorus* и 18,8 % *Ixodes trianguliceps* из Омской области и в единичных *Ixodes persulcatus* из Омской области и с острова Путятина. Это первое выявление риккетсий в *I. apronophorus*. На основании проведённого филогенетического анализа последовательности *R. helvetica* из данной работы и из базы данных GenBank отнесены к четырём генетическим линиям. Линия I включает европейские изоляты из *Ixodes ricinus*, изоляты из *I. persulcatus* из Западной Сибири и некоторые последовательности из *I. apronophorus*. Все последовательности *R. helvetica* из *I. trianguliceps* из Омской области и из *I. persulcatus* из Республики Коми, а также последовательности из *I. apronophorus* отнесены к линии II. Большинство последовательностей из *I. apronophorus* образуют линию III, а все последовательности *R. helvetica* из *I. persulcatus* с Дальнего Востока – линию IV.

Заключение. Впервые показана генетическая гетерогенность популяции *R. helvetica*. Известные изоляты *R. helvetica* надёжно отнесены к четырём генетическим линиям, однако ассоциация различных линий с определённым видом клеща или с определённой территорией наблюдается не во всех случаях.

Ключевые слова: *Ixodes apronophorus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes trianguliceps*, *Rickettsia helvetica*, область симпатрии, генетические линии, филогенетический анализ

Статья поступила: 31.08.2023

Статья принята: 24.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Рар В.А., Иголкина Я.П., Якименко В.В., Тикунов А.Ю., Никитин А.Я., Епихина Т.И., Тикунова Н.В. Генетическая гетерогенность популяции *Rickettsia helvetica*. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 91-104. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.8

GENETIC HETEROGENEITY OF *RICKETTSIA HELVETICA* POPULATION

Rar V.A.¹,
Igolkina Ya.P.¹,
Yakimenko V.V.²,
Tikunov A.Yu.¹,
Nikitin A.Ya.³,
Epikhina T.I.¹,
Tikunova N.V.¹

¹ Institute of Chemical Biology
and Fundamental Medicine, Siberian
Branch of the Russian Academy of Sciences
(Lavrentyeva Ave. 8, Novosibirsk 630090,
Russian Federation)

² Omsk Research Institute of Natural Focal
Infections (Mira Ave. 7, Omsk 644080,
Russian Federation)

³ Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor
(Trilissera str. 78, Irkutsk 664047,
Russian Federation)

Corresponding author:
Vera A. Rar,
e-mail: rarv@niboch.nsc.ru

ABSTRACT

Background. To date, the genetic variability of *Rickettsia helvetica* has not been sufficiently studied.

The aim. To study the prevalence and genetic variability of *R. helvetica* in *Ixodes* spp. collected in Western Siberia and the Russian Far East.

Materials and methods. *Ixodes* spp. collected from rodents in the Omsk province, Western Siberia ($n = 280$) and collected by flagging on Putyatin and Russky Islands in Primorsky Krai, Russian Far East ($n = 482$) were analyzed for the presence of *Rickettsia* spp. All positive samples were genotyped for the *gltA* gene fragment. For a number of *R. helvetica* samples, fragments of the 16S rRNA, *ompA*, *ompB*, *sca4*, *htrA*, and *groEL* genes and 23S–5S intergenic spacer were additionally sequenced.

Results. Four *Rickettsia* species (*R. helvetica*, “*Candidatus Rickettsia tarasevichiae*”, “*Candidatus Rickettsia uralica*”, and “*Candidatus Rickettsia mendelii*”) were found. Of them, *R. helvetica* was identified in 72.2 % of *Ixodes apronophorus* and 18.8 % of *Ixodes trianguliceps* from the Omsk province and in single *Ixodes persulcatus* from the Omsk province and Putyatin Island. This is the first finding of *Rickettsia* spp. in *I. apronophorus*. All known *R. helvetica* sequences from this study and the GenBank database belonged to four well supported monophyletic groups forming genetic lineages I–IV. Lineage I included European isolates from *Ixodes ricinus*, Western Siberian isolates from *I. persulcatus*, and some sequences from *I. apronophorus*. All *R. helvetica* sequences from *I. trianguliceps* from the Omsk province and *I. persulcatus* from the Komi Republic and one sequence from *I. apronophorus* were assigned to lineage II. Most sequences from *I. apronophorus* formed lineage III; all known *R. helvetica* sequences from *I. persulcatus* from the Far East formed genetic lineage IV.

Conclusion. The genetic heterogeneity of *R. helvetica* population was first demonstrated. Known isolates of *R. helvetica* are reliably assigned to four genetic lineages, but not in all cases the association of different lineages with a specific tick species or specific territory was observed.

Key words: *Ixodes apronophorus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes trianguliceps*, *Rickettsia helvetica*, sympatric areas, genetic lineages, phylogenetic analysis

Received: 31.08.2023
Accepted: 24.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Rar V.A., Igolkina Ya.P., Yakimenko V.V., Tikunov A.Yu., Nikitin A.Ya., Epikhina T.I., Tikunova N.V. Genetic heterogeneity of *Rickettsia helvetica* population. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 91-104. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.8

ВВЕДЕНИЕ

Rickettsia helvetica Beati et al. 1993 [Rickettsiaceae; Rickettsiales], принадлежащая к группе клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), является одним из возбудителей риккетсиозов на территории Евразии. Для риккетсиоза, вызванного *R. helvetica*, характерен широкий спектр клинических проявлений: лихорадка чаще протекает без сыпи, описаны случаи перимиеокардита, менингита и саркоидоза [1–5]. Эту инфекцию выявляют в основном в европейских странах. На территории России описан лишь один случай риккетсиоза, вызванного *R. helvetica*, у пациента с признаками острого лихорадочного заболевания из Пермского края [6].

Специфичными переносчиками *R. helvetica* являются клещи рода *Ixodes*. *Rickettsia helvetica* широко распространена в клещах *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) в различных странах Европы [7, 8]. В России *R. helvetica* выявляется на территории разных регионов; при этом в большинстве областей встречаемость этого вида была достаточно низкой и не превышала 5–8 %. Так, *R. helvetica* была обнаружена в 4,6 % таёжного клеща (*Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930)) в Республике Коми [9], 1,9 % *I. persulcatus* в Омской области [10], 5,1 % *Ixodes* spp. в Алтайском крае [11], а также в 8,1 % *Ixodes pavlovskyi* (Pomerantzev, 1946) и в 6,9 % межвидовых гибридов *I. persulcatus*/*I. pavlovskyi* в Республике Алтай [12]. На материковой части Дальнего Востока встречаемость *R. helvetica* в таёжном клеще также была невысока и в отдельных районах Хабаровского края составляла 3,8–4,3 %, а на юге полуострова Камчатки – 2,4 % [13, 14]. Исключение составляет остров Сахалин, на котором встречаемость *R. helvetica* в *I. persulcatus* превышала 60 % [14].

Помимо атакующих людей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, в различных районах Западной Сибири обитают норные клещи *Ixodes trianguliceps* (Birula, 1895) и *Ixodes apronophorus* (Schulze, 1924), все стадии развития которых прокармливаются на мелких млекопитающих. Оба вида имеют обширный, но мозаичный ареал. Клещ *I. apronophorus* является влаголюбивым видом, обитающим на заболоченных территориях; одним из его основных хозяев является европейская водяная полёвка (*Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758)) [15–18].

Исследованию *I. persulcatus* на наличие различных видов риккетсий посвящено много работ; наиболее часто в клещах *I. persulcatus* выявляется «*Candidatus Rickettsia tarasevichiae*» Shpynov et al. 2003 (до 90 % заражённых клещей), и в редких случаях – *R. helvetica*, *Rickettsia heilongjiangensis* Fournier et al. 2006, *Rickettsia raoultii* Mediannikov et al. 2008 и *Rickettsia sibirica* Zdrodovskii 1948 [10, 12, 14, 19]. Клещ *I. trianguliceps* изучен существенно меньше; в наших предыдущих исследованиях в клещах *I. trianguliceps* был обнаружен новый кандидатный вид «*Candidatus Rickettsia uralica*» Igolkina et al. 2015, а также *R. helvetica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*» [19]. Данные об инфицированности клещей *I. apronophorus* риккетсиями к началу данной работы отсутствовали.

В южной тайге и подтайге Западной Сибири встречаются области симпатрии трёх видов клещей рода *Ixodes*:

I. persulcatus, *I. trianguliceps* и *I. apronophorus*. В этих областях симпатрии преобладают стадии *I. persulcatus* и все стадии развития *I. trianguliceps* и *I. apronophorus* могут прокармливаться на одних и тех же мелких млекопитающих, что может приводить к передаче каких-либо видов/генотипов риккетсий от одного вида клеща к другому. В предварительных исследованиях нами были обнаружены участки в областях симпатрии *I. apronophorus*/*I. persulcatus*/*I. trianguliceps* на территории Омской области с высокой численностью всех трёх видов клещей [20]. Также большой интерес для изучения представляют острова на Дальнем Востоке, поскольку на одном из этих островов (о. Сахалин) наблюдался неожиданно высокий уровень инфицированности таёжного клеща *R. helvetica* [14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить встречаемость и генетическую вариабельность *R. helvetica* в различных видах клещей рода *Ixodes* на удалённых друг от друга участках Омской области и Дальнего Востока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор клещей

Сбор материала проводился на территории Большешуековского района (участок Ом-Во, 56° 46' с. ш., 72° 03' в. д.) и Знаменского района (участок Ом-Зн, 57° 23' с. ш., 73° 40' в. д.) Омской области, а также на острове Путятина (участок Put 42° 50' с. ш., 132° 25' в. д.) и острове Русский (участок Rus 43° 00' с. ш., 131° 50' в. д.), находящихся в заливе Петра Великого Японского моря на территории Приморского края (рис. 1). В исследование были включены клещи *Ixodes* spp., снятые с грызунов в Омской области, и клещи, собранные на флаг в Приморском крае.

Грызуны были отловлены в Омской области на участке Ом-Во в июне 2016 г. и на участке Ом-Зн с июня по сентябрь 2014–2015 гг. Животные были исследованы на наличие присосавшихся клещей (личинки, нимфы и взрослых особей), которых удаляли пинцетом. Вид и стадию развития клещей предварительно определяли с помощью стереомикроскопа MC-800 (Micros, Австрия), согласно морфологическим ключам [21]. Часть напивавшихся и почти напивавшихся личинок и нимф хранились при температуре 10–15 °С в течение 1–2 недель, а затем транспортировались в лабораторию для проведения метаморфоза. Остальные клещи были помещены в герметичные пластиковые пробирки, которые до выделения ДНК хранились в жидком азоте.

Голодные клещи были собраны с растительности на флаг на острове Путятина в 2021 г. и на о. Русский в 2019 и 2021 гг. Вид и стадию развития клещей предварительно определяли на основании морфологических критериев; в дальнейшую работу были включены только клещи рода *Ixodes*.



РИС. 1.
Места сбора клещей

FIG. 1.
Sites of tick collection

Проведение метаморфоза клещей в лабораторных условиях

Для успешного прохождения метаморфоза частично напивавшиеся личинки и нимфы были докормлены на белых лабораторных мышах. Каждый напивавшийся клещ был помещён в индивидуальную стеклянную пробирку и содержался в темноте при 100%-й относительной влажности при температуре 24–26 °C до завершения линьки. Прошедшие метаморфоз клещи через 4 недели индивидуально замораживались и до выделения из них ДНК хранились при температуре –70 °C.

Выделение ДНК

Замороженных клещей гомогенизировали с помощью прибора MagNA Lyser Instrument с использованием MagNa Lyser Green Beads (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Суммарная ДНК была выделена с помощью набора «Проба НК» (ДНК-Технология, Москва, Россия), согласно протоколу производителя.

Определение вида клещей молекулярно-генетическими методами

Установление видовой принадлежности клещей *I. persulcatus*, *I. trianguliceps*, *I. apronophorus* проводили с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием видоспецифичных праймеров по фрагменту межгенного спейсера ITS2, как описано ранее [20]. Дифференциацию *I. persulcatus*, *I. pavlovskyi* и межвидовых гибридов проводили на основании определения митохондриального (cox1) и ядерного (ITS2) локусов, как описано ранее [12].

Выявление и генотипирование *Rickettsia helvetica*

ДНК риккетсий выявляли с использованием двух-раундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена *gltA* при проведении первого раунда и праймеров, специфичных для «*Candidatus R. tarasevichiae*» и для риккетсий группы КПЛ при проведении второго раунда, как описано ранее [14]. Полученные фрагменты гена *gltA* были секвенированы для всех положительных образцов риккетсий из группы КПЛ. Для ряда положительных образцов, содержащих ДНК *R. helvetica*, с целью последующего секвенирования были дополнительно наработаны фрагменты генов 16S rRNA, *ompA*, *ompB*, *sca4*, and *htrA*, а также фрагмент *groESL* оперона и межгенный спейсер 23S-5S rRNA (23S-5S IGS) в присутствии праймеров, указанных в таблице 1. Дополнительно эти же фрагменты семи генетических локусов были амплифицированы для образцов *R. helvetica*, выявленных ранее на острове Сахалин (участок Skh) и в Хабаровском крае (участок Khab) [14]. Определённые нуклеотидные последовательности были депонированы в базу данных GenBank под номерами доступа OQ092468–OQ092487, OQ102487–OQ102493, OQ271213–OQ271221, OQ275007–OQ275011, OQ675828–OQ675832, OQ861252, OQ866612–OQ866624.

Секвенирование и филогенетический анализ

Продукты ПЦР очищали с использованием колонок GFX (Amersham Biosciences, США). Реакцию секвенирования методом Сенгера выполняли с использованием BigDye Terminator v. 3.1 Cycling Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией производителя. Продукты секвенирования очищали с исполь-

ТАБЛИЦА 1
ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ
R. HELVETICA

TABLE 1
PRIMERS USED FOR *R. HELVETICA* AMPLIFICATION

Локус	Организм	Раунд	Праймер	Последовательность 5'-3'	T (°C)	Ссылка	
Ген 16S rRNA	Rickettsia spp.	I	16S1	gacgggtgagtaacacgtggg	56	[14]	
			16S2	gtcttttagggatttgctccac			
		II	16S3	gatggatgagcccgctcag	60		
			16S4	gcatctctgcgatccgcgac			
Ген ompA Фрагмент I	Rickettsia spp.	Rr190.70p		atggcgaatatttctccaaaa	55	[22]	
		190-701		gttcggttaatggcagcatct			
Ген ompA	Rickettsia spp.	I	Afnw_1	ggcacaataactttaacattacc	52	#	
			190-6808	cacgaactttcacactacc		[22]	
		II	Afnw_3	aagcctactcctaaagagaatg	53	#	
			Afnw_4	cgacagtctctagtgccg			
	Rickettsia spp.	I	A1	taacattacaagctggaggaagcc	58	#	
			A2	ttcagagcctgaccaccgg			
		II	A5	caagtgcgtgatgttacta	56		
			A6	tagttacatttctgcacctac			
	R. helvetica	I	Afn1_helv	gtaatactagcatcaccgaaatcc	55	#	
			190-6808	cacgaactttcacactacc		[22]	
		II	190-5125	gcgggttactttagccaagg	54	#	
			Afnw_4	cgacagtctctagtgccg			
Ген ompB	Rickettsia spp.	I	M59 F	ccgcagggttggaactgc	55	[23]	
			120-1497m*	cctatatcgccggaattgtagc			
		II	BR1	gttactaatggattattcaagt	53	#	
			BR2	gcataaactgtccagcgat			
	Rickettsia spp.	I	B2f_5	taaacttgctgacggtacag	56	#	
			B2f_2	cgattatgccgttatcgcttccaag			
		II	B2f_3	gtagcctaacaatgctcaaac	52		
			120-2399	cttgttgtttaatgttacggt			
	R. helvetica	I	B2f_3	gtagcctaacaatgctcaaac	52	[23]	
			B2f_2	cgattatgccgttatcgcttccaag			
		II	B2f_1helv	cagtacaattcgctcacaacac	55	#	
			120-2399	cttgttgtttaatgttacggt			
	Rickettsia spp.	I	B1	atatgcaggtatcggtact	56	#	
			B2	ccatataccgtaagctacat			
		II	B3	gcaggtatcggtactataaac	56		
			B4	aatttacgaaacgattactccgg			
		Rickettsia spp.	I	120-3462	ccacaggaactacaaccatt	52	[23]
				120-4879m*	tagaagtttacacggacttttagag		
			II	B3f_3f	gctggacctgaagctggagc	55	#
				120-4879m*	tagaagtttacacggacttttagag		[23]

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

Ген <i>sca4</i>	<i>Rickettsia</i> spp.	I	D1f	atgagtaaagacggtaacct	52	[24]
			D1876rm*	tagtttgtccgccgtaatc		
		II	sc1f_3	gatgtaggtgatgaactctg	52	#
			D1390r	cttgcttttcagcaatatcac		
		I	sc4-1	atgtctctgaattaagcaatgc	52	#
			Rj2837r	cctgatactacccttacatc		
		II	sc4-5	ccggcacaacaacaattgatg	50	#
			sc4-6	cctttaccagctcatctactt		
		I	sc4-3	aattattaggctctgtattaaga	52	#
			D3069r	tcagcgttgtggagggaag		
		II	sc4-5	ccggcacaacaacaattgatg	52	#
			sc4-7	ctctcttttaaataggtgttgatt		
Ген <i>htrA</i>	<i>Rickettsia</i> spp.		17k-5	gctttacaaaattctaaaaaccatata	55	[26]
			17k-3	tgtctatcaattcacaacttgcc		
23S-5S IGS	<i>Rickettsia</i> spp.		RCK/23-5-F	gataggtcrgrtgtggaagca	55	[27]
			RCK/23-5-R	tcgggaygggatcgtgtgtttc		
groESL Оперон	<i>Rickettsia</i> spp.	I	Ric-ESL-F1	ggtaaatgggcaggyaccgaa	60	[28]
			Ric-ESL-R1	gaagcaacrgaagcagcatctt		
		II	Ric-ESL-F2	atcgttatgaaagaaagcgayg	58	
			Ric-ESL-R2	agwgcagtacgcactactttagc		

Примечание. T (°C) – температура отжига; m* – модифицированный праймер; # – данная работа.

зованием колонок CentriSep (Princeton Separations, США) и анализировали с помощью ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Анализ последовательности проводили с помощью BlastN [29]. Филогенетический анализ проводили с помощью пакета филогенетических программ MEGA 7.0 [30] с использованием метода максимального правдоподобия (ML, maximum likelihood) [31].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установление видовой принадлежности собранных клещей

Видовая принадлежность всех собранных в Омской области и в Приморском крае иксодовых клещей была установлена с использованием молекулярно-генетических методов. Клещи трёх видов (*I. apronophorus*, *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*) были обнаружены на двух участках Омской области, однако доля клещей разных видов на этих участках существенно различалась. На участке Ом-Во среди 145 клещей, снятых с 29 грызунов, и 20 клещей, снятых с грызунов и прошедших метаморфоз в лабораторных условиях, было выявлено 67 (40,6 %) *I. apronophorus*, 73 (44,2 %) *I. persulcatus* и 25 (15,1 %) *I. trianguliceps*, а на участке Ом-Zn среди 115 клещей, снятых с грызунов и прошедших метамор-

фоз в лабораторных условиях, было обнаружено 5 (4,4 %) *I. apronophorus*, 87 (75,6 %) *I. persulcatus* и 23 (20,0 %) *I. trianguliceps* (табл. 2).

На Дальнем Востоке на острове Путятин среди снятых с растительности на флаг голодных имаго были идентифицированы 56 *I. persulcatus*, 4 *I. pavlovskyi* и один межвидовой гибрид *I. persulcatus/I. pavlovskyi*, а на острове Русский – 190 *I. persulcatus*, 199 *I. pavlovskyi* и 32 межвидовых гибрида (табл. 2).

Выявление *Rickettsia* spp. в клещах *Ixodes* spp. в Омской области

Среди клещей с участка Ом-Во, снятых с грызунов, но не прошедших метаморфоз, ДНК *R. helvetica* была обнаружена в 45 (72,5 %) *I. apronophorus* всех стадий развития (включая 1 случай микст-инфекции *R. helvetica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*») и в 9 (37,5 %) *I. trianguliceps*, но не была выявлена в *I. persulcatus*. При этом все инфицированные *I. trianguliceps* были личинками (табл. 2). Кроме того, в 48 (81,4 %) *I. persulcatus* и 1 (1,6 %) личинке *I. apronophorus* была обнаружена ДНК «*Candidatus R. tarasevichiae*», а в 7 (29,2 %) *I. trianguliceps* – ДНК «*Candidatus R. uralica*». В одной личинке (1,6 %) *I. persulcatus* была выявлена микст-инфекция «*Candidatus R. tarasevichiae*» с *Rickettsia raoultii*.

ТАБЛИЦА 2
ВЫЯВЛЕНИЕ *R. HELVETICA* В КЛЕЩАХ *IXODES* SPP.

TABLE 2
DETECTION OF *R. HELVETICA* IN *IXODES* SPP. TICKS

Участки/ анализируемые клещи	Вид клеща	Стадия	Число клещей	Клещи, содержащие ДНК <i>R. helvetica</i> , абс. (%)
Om-Bo/ снятые с грызунов	<i>I. apronophorus</i>	Личинки	47	33
		Нимфы	5	4
		Имаго	10	8
		Все стадии	62	45 (72,5)
	<i>I. persulcatus</i>	Личинки	55	0
		Нимфы	4	0
		Все стадии	59	0
	<i>I. trianguliceps</i>	Личинки	17	9
		Нимфы	4	0
		Имаго	3	0
		Все стадии	24	9 (37,5)
Om-Bo/ перелинявшие	<i>I. apronophorus</i>	Нимфы	2	1
		Имаго	3	2
		Все стадии	5	3 (60)
	<i>I. persulcatus</i>	Нимфы	3	0
		Имаго	11	0
		Все стадии	14	0
	<i>I. trianguliceps</i>	Нимфы	1	0
		Все стадии	1	0
Om-Zn/ перелинявшие	<i>I. apronophorus</i>	Нимфы	4	3
		Имаго	1	1
		Все стадии	5	4 (80)
	<i>I. persulcatus</i>	Нимфы	23	0
		Имаго	64	1
		Все стадии	87	1 (1,1)
	<i>I. trianguliceps</i>	Нимфы	10	0
		Имаго	13	0
		Все стадии	23	0
Put/ собранные на флаг	<i>I. persulcatus</i>	Имаго	56	1 (1,8)
	<i>I. pavlovskyi</i>	Имаго	4	0
	гибриды	Имаго	1	0
Rus/ собранные на флаг	<i>I. persulcatus</i>	Имаго	190	0
	<i>I. pavlovskyi</i>	Имаго	199	0
	гибриды	Имаго	32	0

Примечание. Полу жирным выделены объединенные данные по всем исследованным стадиям для каждого вида клеща.

Среди перелинявших клещей 3 из 5 *I. apronophorus* с участка Ом-Во и 4 из 5 *I. apronophorus* с участка Ом-Zn содержали ДНК *R. helvetica*. Кроме того, *R. helvetica* была обнаружена в одном перелинявшем *I. persulcatus* в виде микст-инфекции *R. helvetica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*» (табл. 2). ДНК «*Candidatus R. tarasevichiae*» была выявлена в 80 (79,2 %) *I. persulcatus* и 2 (8,3 %) *I. trianguliceps* а ДНК «*Candidatus R. uralica*» – в 3 (12,5 %) *I. trianguliceps*. В 1 (1 %) нимфе *I. persulcatus* была выявлена микст-инфекция «*Candidatus R. tarasevichiae*» с *Rickettsia* sp.

Объединяя данные по всем исследованным клещам из Омской области, *R. helvetica* была выявлена в 75,0 %

I. apronophorus, 18,8 % *I. trianguliceps* и 1,9 % *I. persulcatus*, что свидетельствует о тесной экологической связи между *R. helvetica* и *I. apronophorus*.

Выявление *Rickettsia* spp. в клещах *Ixodes* spp. в Приморском крае

ДНК *R. helvetica* была обнаружена лишь в 1 из 56 *I. persulcatus* с острова Путятина, но не была выявлена ни в других видах клещей с того же участка, ни в одном из 421 клеща рода *Ixodes* с острова Русский (табл. 2). ДНК «*Candidatus R. tarasevichiae*» была обнаружена в 42 (75,0 %) *I. persulcatus*, в 1 из 4 *I. pavlovskyi* и в един-

Изоляты	Вид клеща	Регион	Линия	gltA					ompB					sca4		16S
				175525	175576	175847	176092	176156	381079	381549	381958	382176	382239	812583	812147	523727
C9P9	<i>I. ricinus</i>	Европа	I	G	C	T	C	C	G	C	G	G	G	G	C	T
Oм-74_lapr_m	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	I	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
Oм-20_lper_m	<i>I. persulcatus</i>	Сибирь	I	.	.	.	T	.	nd	nd	nd	nd	nd	.	.	nd
Oм-75_ltr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	II	A	.	.	.	T	A	.	A	T	.	.	.	.
Oм-145_lapr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	III	.	T	.	.	.	.	T	A	T	A	.	T	.
Oм-79_lapr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	III	.	T	.	.	.	.	T	A	T	A	.	T	G
Oм-103_lapr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	III	.	T	A	nd	nd	.	T	nd	nd	nd	.	T	nd
Skh-7_lper	<i>I. persulcatus</i>	Дальний Восток	IV	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	A	.	.
Put-117_lper	<i>I. persulcatus</i>	Дальний Восток	IV	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	A	.	.

a

Изоляты	Линия	gltA			ompA			ompB										sca4					htrA	16S		IGS						
		175525	175576	176156	209675	208648	208557	380060	380249	380592	380622	381079	381549	381958	382176	382239	382562	382824	382895	383024	813613	813472	813341	812583	812147	811867	195041	523727	523907	1187522	1187463	
C9P9	I	G	C	C	C	G	T	T	A	C	T	G	C	G	G	G	G	T	C	G	A	A	C	G	C	G	T	T	A	T	G	
Novosibirsk08-5	I	.	.	.	nd	nd	nd	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Komi	II	.	.	T	nd	nd	nd	.	G	.	C	A	.	A	T	.	A	.	.	.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Om-74_lapr_m	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Om-75_ltr	II	A	.	T	T	.	.	.	G	T	C	A	.	A	T	.	A	.	.	.	C	G	.	.	.	A	.	.	.	C	.	
Om-145_lapr	III	.	T	.	.	.	.	G	.	.	C	.	T	A	T	A	.	C	T	.	.	.	.	T	.	G	.	G	.	.	.	
Om-79_lapr	III	.	T	.	.	.	.	G	.	.	C	.	T	A	T	A	.	C	T	.	.	.	.	T	.	G	G	G	.	.	.	
Skh-7_lper	IV	.	.	.	.	A	C	.	.	.	C	.	.	A	T	.	.	C	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	C	A	
Put-117_lper	IV	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	A	T	.	.	C	.	A	.	.	T	A	.	.	.	.	.	C	A	

б

РИС. 2.

a – конденсированное выравнивание на основании последовательностей генов *gltA* (840 п. н.), *ompB* (1255 п. н.), *sca4* (783 п. н.) и 16S rRNA (684 п. н.) сиквенса-вариантов *R. helvetica*. **б** – конденсированное выравнивание на основании последовательностей генов *gltA* (1037 п. н.), *ompA* (1417 п. н.), *ompB* (3100 п. н.), *sca4* (2398 п. н.), *htrA* (499 п. н.), 16S rRNA (1070 п. н.) генов и межгенного спейсера 23S-5S rRNA (23S-5S IGS) (489 п. н.) генетических линий *R. helvetica*. Полиморфные сайты приведены в соответствии с последовательностью *R. helvetica*, штамм C9P9 (AICO01000000). Несинонимичные замены отмечены зелёным цветом

FIG. 2.

a – condensed alignment of *gltA* (840 bps), *ompB* (1255 bps), *sca4* (783 bps) gene sequences, and 16S rRNA (684 bps) sequence variants of *R. Helvetica*. **б** – condensed alignment of *gltA* (1037 bps), *ompA* (1417 bps), *ompB* (3100 bps), *sca4* (2398 bps), *htrA* (499 bps), 16S rRNA (1070 bps) gene sequences and 23S-5S IGS region (489 bps) of *R. helvetica* genetic lineages. Variable nucleotide positions are given according to the sequence of *R. helvetica*, C9P9 (AICO01000000) strain. Non-synonymous polymorphic sites are highlighted in green

ственном межвидовом гибриде на острове Путятин и в 73,7 % *I. persulcatus*, 5,3 % *I. pavelovskyi* и 31,3 % межвидовых гибридов на острове Русский. В 2 *I. pavelovskyi* на острове Русский была выявлена ДНК «*Candidatus Rickettsia mendelii*» Hajdukova et al. 2016.

Генотипирование *R. helvetica*

Для всех изолятов *R. helvetica* были определены последовательности фрагмента гена *gltA* (840 пар нуклеотидов (п. н.)), и на основе анализа этих последовательностей было выявлено 6 вариантов последовательностей. Для ряда образцов с разными вариантами гена *gltA* были дополнительно отсекарованы фрагменты генов *ompB* (1255 п. н.), *sca4* (783 п. н.) и 16S rRNA (684 п. н.). Сравнительный анализ полученных последовательностей позволил выявить 7 сиквент-вариантов *R. helvetica*, отличающихся между собой 2–8 нуклеотидными заменами; при этом все обнаруженные сиквент-варианты отличались от последовательности прототипного штамма C9P9 (AICO01000001) (рис. 2а).

Филогенетический анализ, основанный на сравнении объединённых последовательностей *gltA* – *ompB* – *sca4* общей длиной 2259 п. н., показал, что полученные последовательности относятся к четырём генетическим линиям (рис. 3). Образцы, относящиеся к линии I (европейская линия), образовывали общий кластер вместе с прототипным штаммом *R. helvetica* C9P9, изолированным из клеща *I. ricinus* из Швейцарии. Последовательности линии I были выявлены только на участке Ом-Зн в трёх *I. apronophorus* и в одном *I. persulcatus* (табл. 3); эти последовательности отличались от последовательностей *R. helvetica* C9P9 единичными заменами по генам *gltA* или *ompB* (рис. 2а). Линия II (*I. trianguliceps* линия) включала все образцы *R. helvetica* из клещей *I. trianguliceps* и один образец из перелинявшего *I. apronophorus* с участка Ом-Во. Определённые в данной работе последовательности линии II были идентичны ранее секвенированным последовательностям

из двух нимф *I. trianguliceps*, снятых с грызунов из другого района Омской области. Линия III (*I. apronophorus* линия) была наиболее многочисленной и включала последовательности из 48 *I. apronophorus*, преимущественно с участка Ом-Во. Образцы из этой линии были генетически гетерогенны – один образец отличался единичной заменой по гену *gltA* от остальных; кроме того, 5 образцов из клещей, снятых с одного грызуна, имели одинаковую замену в гене 16S rRNA. Линия IV (дальневосточная линия) включала все определённые последовательности *R. helvetica* из *I. persulcatus* с Дальнего Востока: островов Путятин, Сахалин и Хабаровского края (табл. 3).

Поскольку большинство изолятов *R. helvetica* из базы данных GenBank были охарактеризованы только по гену *ompB*, мы использовали этот локус для сравнения полученных нами последовательностей *R. helvetica* с опубликованными ранее. Филогенетический анализ, основанный на сравнении последовательностей гена *ompB* длиной 2684 п. н., показал наличие всё тех же четырёх генетических линий. На основании проведённого анализа европейская линия (линия I) дополнительно содержала ряд образцов *R. helvetica* из *I. ricinus* из Германии и один образец из *I. persulcatus* из Новосибирской области, а *I. trianguliceps* линия (линия II) дополнительно включала 32 образца *R. helvetica* из *I. persulcatus* из Республики Коми (рис. 4). Анализ последовательностей гена *sca4* показал, что дальневосточная линия также включает образцы *R. helvetica* из *I. persulcatus* из Японии [25].

Для более детального генотипирования последовательности генов 16S рРНК (1070 п. н.), *gltA* (1037 п. н.), *ompA* (1417 п. н.), *ompB* (3100 п. н.), *sca4* (2398 п. н.), *htrA* (499 п. н.), *groEL* (1528 п. н.), а также 23S-5S IGS (489 п. н.) были определены для восьми образцов *R. helvetica*, принадлежащих к разным генетическим линиям. Все последовательности гена *groEL* были идентичны. Остальные генетические локусы имели полиморфные сайты;

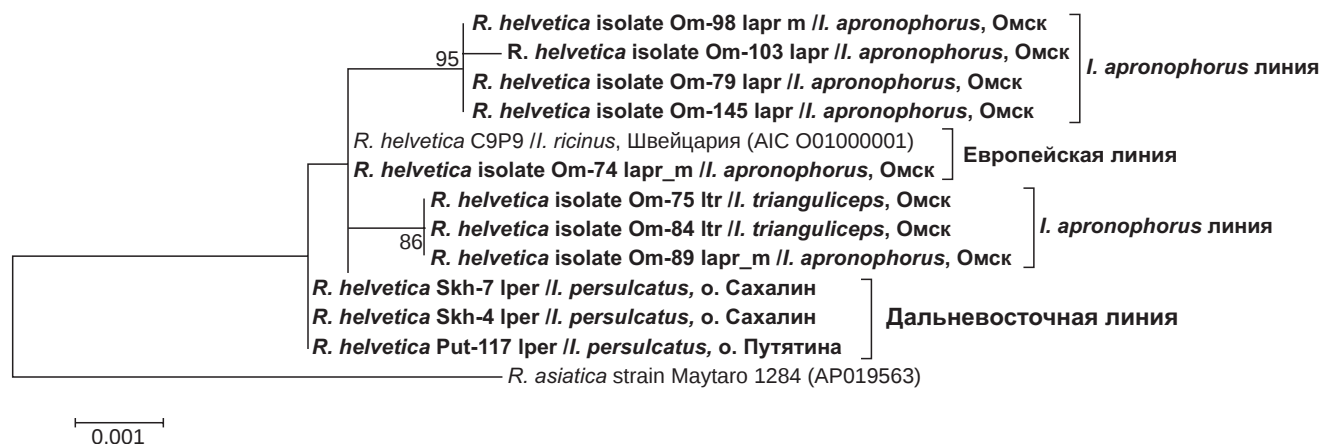


РИС. 3.
Дендрограмма, построенная методом ML на основе объединённых последовательностей фрагментов генов *gltA* – *ompB* – *sca4* (2259 п. н.). Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе

FIG. 3.
Phylogenetic tree constructed using the ML method based on concatenated sequences of three genes *gltA* – *ompB* – *sca4* (2259 bps). The sequences of *R. helvetica* determined in this study are given in bold

ТАБЛИЦА 3
РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ РАЗНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ЛИНИЙ *R. HELVETICA* В *IXODES* SPP.

Участок	Вид клеща	Анализируемые клещи	Число генотипированных образцов <i>R. helvetica</i>	Число образцов <i>R. helvetica</i> , относящихся к линии			
				I	II	III	IV
Om-Bo	<i>I. apronophorus</i>	Не перелинявшие	45	0	0	45	0
		Перелинявшие	3	0	1	2	0
		Всего	48	0	1	47	0
Om-Zn	<i>I. trianguliceps</i>	Не перелинявшие	9	0	9	0	0
	<i>I. apronophorus</i>	Перелинявшие	4	3	0	1	0
	<i>I. persulcatus</i>	Перелинявшие	1	1	0	0	0
Put	<i>I. persulcatus</i>	Собранные на флаг	1	0	0	0	1
Khab	<i>I. persulcatus</i>	Собранные на флаг	1	0	0	0	1
Skh	<i>I. persulcatus</i>	Собранные на флаг	4	0	0	0	4

TABLE 3
DISTRIBUTION OF DIFFERENT GENETIC LINEAGES
OF *R. HELVETICA* IN *IXODES* SPP.

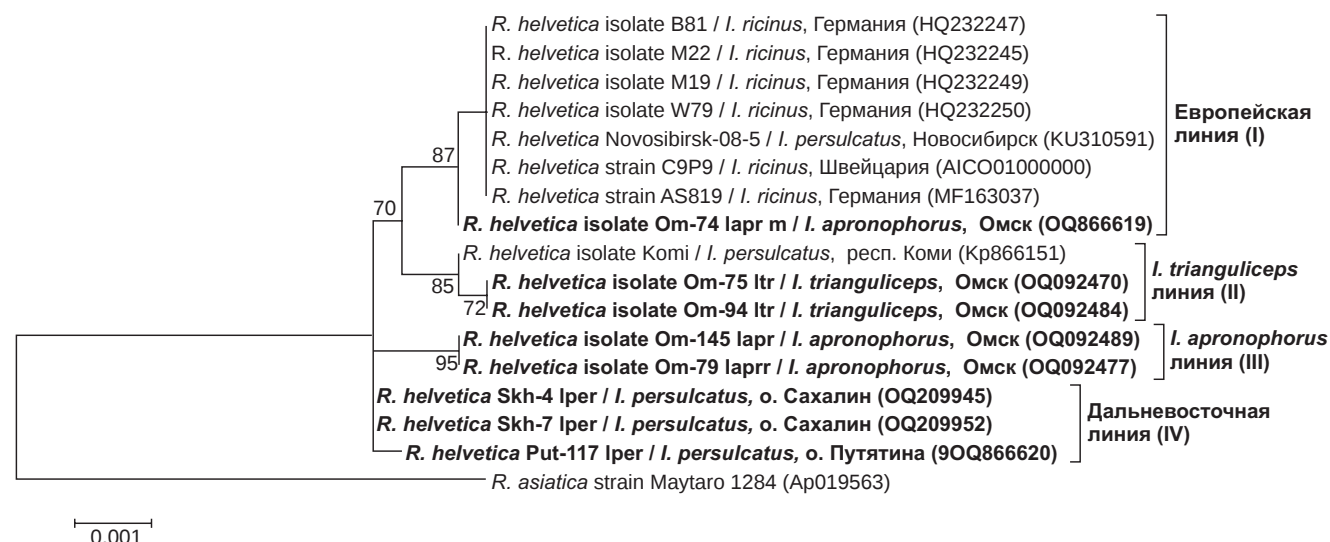


РИС. 4. Дендрограмма, построенная методом ML на основе последовательностей фрагмента гена *ompB* (2684 п. н.) *R. helvetica*. Последовательности *R. asiatica* были использованы как аутгруппа. Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе.

FIG. 4. Phylogenetic tree constructed using the ML method based on sequences of the *ompB* gene fragment (2684 bps) of *R. helvetica*. The sequences of *R. asiatica* were used as outgroup. The sequences of *R. helvetica* determined in this study are given in bold

из них ген *ompB* был наиболее вариабельным. Среди кодирующих последовательностей нуклеотидные замены в 15 из 25 полиморфных сайтов были несинонимичными (рис. 26). Филогенетический анализ, основанный на сравнении объединённых последовательностей 16S – *gltA* – *ompA* – *ompB* – *sca4* – *htrA* – IGS (9840 п. н.), также показал с высоким уровнем поддержки наличие четырёх кластеров, которые соответствовали генетическим линиям, идентифицированным на основании анализа более коротких последовательностей (рис. 5). Следует отметить, что внутри каждой генетической линии образцы *R. helvetica* различались между собой 1–2 нуклеотидными заменами. При этом в случае генетических линий I и II образцы из Омской области отличались от образцов из других регионов, а в случае генетической линии IV образец с острова Путятин отличался двумя заменами от образцов с Сахалина.

клеточными заменами. При этом в случае генетических линий I и II образцы из Омской области отличались от образцов из других регионов, а в случае генетической линии IV образец с острова Путятин отличался двумя заменами от образцов с Сахалина.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разные виды риккетсий, как правило, ассоциированы с определёнными видами клещей. *Rickettsia helvetica* тесно связана с клещами рода *Ixodes* и является

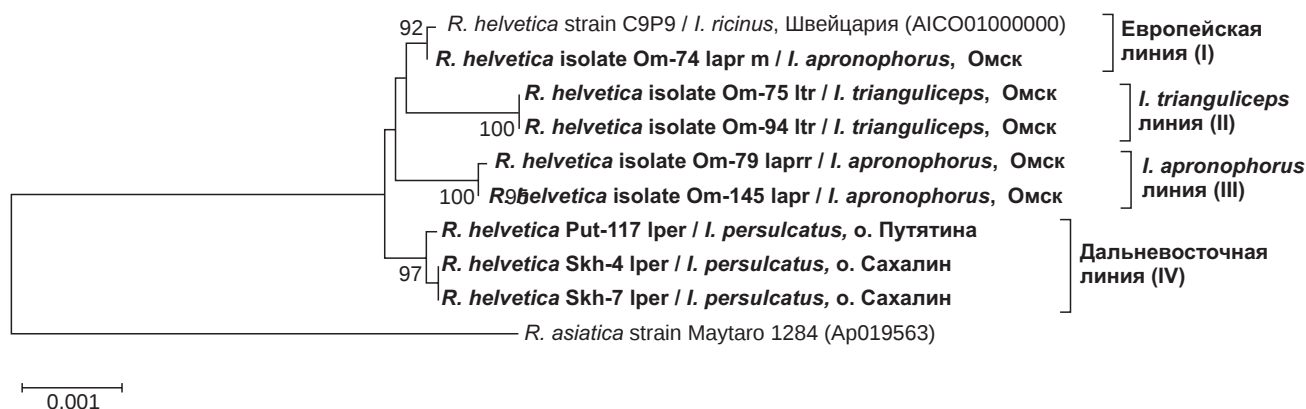


РИС. 5.

Дендрограмма, построенная методом ML на основе объединённых последовательностей фрагментов семи локусов (*gltA* – *ompA* – *ompB* – *sca4* – *htrA* – 16S rRNA – IGS) (9840 п. н.). Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе

FIG. 5.

Phylogenetic tree constructed using the ML method based on concatenated sequences of seven loci fragments (*gltA* – *ompA* – *ompB* – *sca4* – *htrA* – 16S rRNA – IGS) (9840 bps). The sequences of *R. helvetica* determined in this study are given in bold

ся доминирующим видом риккетсий в *I. ricinus* в Европе и в *I. persulcatus* в некоторых областях России (остров Сахалин и Республика Коми) [7, 9, 14].

Изучение инфицированности клещей инфекционными агентами в областях симпатрии представляет особый интерес, поскольку позволяет сравнить ассоциацию патоген – клещ для разных видов клещей на одной территории. В данную работу были включены клещи, собранные на двух участках в областях симпатрии *I. apronophorus*/*I. persulcatus*/*I. trianguliceps* на территории Омской области; на участке Ом-Во численность всех трёх видов клещей была высокой, а на участке Ом-Зн *I. persulcatus* доминировал, а численность *I. apronophorus* была низкой. В данной работе впервые риккетсии были выявлены в *I. apronophorus*. *Rickettsia helvetica* были обнаружены в 60–80 % клещей различных стадий развития с обоих участков, что свидетельствует о тесной ассоциации *R. helvetica* с *I. apronophorus* (табл. 2).

На территории Омской области *R. helvetica* была также обнаружена в единичных *I. persulcatus* и в 38 % снятых с грызунов *I. trianguliceps* с участка Ом-Во. Следует отметить, что *R. helvetica* была обнаружена только в личинках *I. trianguliceps*, но не в нимфах и имаго (табл. 2). Поскольку все личинки, инфицированные *R. helvetica*, были сняты только с двух полёвок, наблюдаемое несоответствие можно объяснить недостаточным количеством исследуемых *I. trianguliceps* и неравномерным распределением инфицированных и неинфицированных личинок, являющихся потомством от разных самок. Таким неравномерным распределением личинок можно объяснить и тот факт, что все образцы *R. helvetica* с уникальной заменой в гене 16S rRNA были идентифицированы только в личинках (но не во взрослых особях) *I. apronophorus*, собранных с одной и той же полёвки.

Помимо областей симпатрии в Омской области, в исследование были включены клещи, собранные на двух островах в Приморском крае. Поскольку ранее на острове Сахалин был отмечен неожиданно высокий уровень

инфицирования таёжного клеща *R. helvetica*, можно было ожидать, что на других островах также будет наблюдаться нетипичное распределение *Rickettsia* spp. в разных видах клещей. Тем не менее, на исследуемых островах Путятина и Русский, как и на материковой части Дальнего Востока и в Западной Сибири [10, 12–14, 19], в клещах *I. persulcatus* существенно доминировал «*Candidatus R. tarasevichiae*», а *R. helvetica* была выявлена лишь в одном *I. persulcatus* на острове Путятина (табл. 2).

Rickettsia helvetica является высоко вариабельным видом. Анализ секвенированных в данной работе и доступных в базе данных GenBank последовательностей данного вида позволил отнести изоляты *R. helvetica* к четырём генетическим линиям, однако ассоциация различных линий с определённым видом клеща или с определённой территорией наблюдалась не во всех случаях. Так, генетическая линия I объединяла все генотипированные образцы от *I. ricinus* из Европы, ряд образцов от *I. apronophorus* из Омской области и образцы от *I. persulcatus* из Омской и Новосибирской областей. Генетическая линия *I. trianguliceps* (линия II) была обнаружена в двух разных видах *Ixodes* spp. в удалённых друг от друга регионах: в *I. trianguliceps* в Омской области и *I. persulcatus* в Республике Коми. В то же время генетическая линия *I. apronophorus* (линия III) выявлена только в *I. apronophorus* в Омской области; а дальневосточная генетическая линия (линия IV) обнаружена только в *I. persulcatus* на Дальнем Востоке. Таким образом, в образцах из Омской области было идентифицировано три генетических линии *R. helvetica*, а в образцах с Дальнего Востока – только одна линия.

Наблюдаемая высокая генетическая гетерогенность популяции *R. helvetica* может быть связана с широким кругом их переносчиков: *I. ricinus*, *I. pavlovskyi*, *I. persulcatus*, *I. apronophorus*, *I. trianguliceps*, *Ixodes hexagonus* (Leach 1815), *Ixodes arboricola* (Schulze & Schlottke, 1929), *Ixodes ovatus* (Neumann, 1899) и *Ixodes monospinosus* (Saito, 1968) [7, 9, 12, 14, 32]. Следует от-

метить, что в *I. trianguliceps* был обнаружен только один вариант последовательности, относящийся к генетической линии II, тогда как в *I. apronophorus* были идентифицированы пять вариантов последовательностей, относящиеся к трём генетическим линиям (табл. 3). В клещах *I. persulcatus* также были секвенированы последовательности, относящиеся к трём линиям: к линии I – в клещах из Западной Сибири, к линии II – в клещах из Республики Коми; к линии IV – в клещах из Дальнего Востока. Такое несоответствие может быть связано со значительно более высокой генетической вариативностью клещей *I. apronophorus* и *I. persulcatus* по сравнению с *I. trianguliceps* [20].

В настоящее время нет достоверных данных, подтверждающих наличие трансмиссивной передачи риккетсий при совместном кормлении клещей. Хотя такая передача может происходить в искусственных условиях (в случае *Rickettsia rickettsia* (Wolbach 1919) Brumpt 1922)), её влияние на передачу возбудителя в природе представляется незначительным [33]. Наше исследование снятых с грызунов личинок показало отсутствие эффективной трансмиссивной передачи *R. helvetica* между разными видами *Ixodes* spp. в процессе одновременного питания на мелких млекопитающих. Действительно, все снятые с грызунов личинки *I. persulcatus* не были инфицированы *R. helvetica*, личинки *I. apronophorus* содержали ДНК *R. helvetica* только из линии III, а личинки *I. trianguliceps* – только из линии II (табл. 2, 3). Примечательно, что ассоциация между видами клещей и вариантами *R. helvetica* сохранялась, даже когда личинки разных видов прокармливались на одном и том же грызуне.

Следует отметить, что данные по генетической вариативности *R. helvetica* ограничены небольшим количеством исследованных регионов и включают преимущественно образцы из Германии, Республики Коми, Омской и Новосибирской областей и Дальнего Востока. Необходимо дальнейшее генотипирование образцов *R. helvetica* из других регионов и разных видов клещей для оценки распространённости различных генетических линий этого вида. Не исключено, что разные генетические линии *R. helvetica* могут различаться по своим патогенным свойствам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, впервые показан высокий уровень инфицированности клещей *I. apronophorus* патогенным для людей видом *R. helvetica*. Для образцов *R. helvetica* из Омской области была отмечена высокая генетическая вариативность. Впервые показано, что изоляты *R. helvetica* можно надёжно отнести к четырём генетическим линиям, однако строгой ассоциации различных линий *R. helvetica* с определённым видом клеща или с определённой территорией не наблюдалось.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Государственного задания ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (№ 121031300043-8).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Fournier PE, Grunnenberger F, Jaulhac B, Gastinger G, Raoult D. Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans, eastern France. *Emerg Infect Dis*. 2000; 6(4): 389-392. doi: 10.3201/eid0604.000412
2. Fournier PE, Allombert C, Supputamongkol Y, Caruso G, Brouqui P, Raoult D. Aneuptic fever associated with antibodies to *Rickettsia helvetica* in Europe and Thailand. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(2): 816-818. doi: 10.1128/JCM.42.2.816-818.2004
3. Nilsson K, Lindquist O, Pålsson C. Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. *Lancet*. 1999; 354(9185): 1169-1173. doi: 10.1016/S0140-6736(99)04093-3
4. Nilsson K, Pålsson C, Lukinius A, Eriksson L, Nilsson L, Lindquist O. Presence of *Rickettsia helvetica* in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis. *J Infect Dis*. 2002; 185(8): 1128-1138. doi: 10.1086/339962
5. Nilsson K, Elfving K, Pålsson C. *Rickettsia helvetica* in patient with meningitis, Sweden, 2006. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16(3): 490-492. doi: 10.3201/eid1603.090184
6. Неведова В.В., Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В., Горелова Н.Б., Воробьева Н.Н. Микроорганизмы порядка *Rickettsiales* у таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Sch.) в Предуралья. *Вестник ПММ*. 2008; 7: 47-50. [Nefedova VV, Korenberg EI, Kovalevskii YV, Vorobyeva NN. Microorganisms of the order *Rickettsiales* in taiga tick (*Ixodes persulcatus* Sch.) from the Pre-Ural region. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2008; 7: 47-50. (In Russ.)].
7. Silaghi C, Gilles J, Höhle M, Pradel I, Just FT, Fingerle V, et al. Prevalence of spotted fever group rickettsiae in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in southern Germany. *J. Med. Entomol*. 2008; 45: 948-955. doi: 10.1603/0022-2585(2008)45[948:posfgr]2.0.co;2
8. Stanko M, Derdaková M, Špitálská E, Kazimírová M. Ticks and their epidemiological role in Slovakia: From the past till present. *Biologia (Bratisl)*. 2022; 77(6): 1575-1610. doi: 10.1007/s11756-021-00845-3
9. Kartashov MY, Glushkova LI, Mikryukova TP, Korabelnikov IV, Egorova YI, Tupota NL, et al. Detection of *Rickettsia helvetica* and *Candidatus R. tarasevichiae* DNA in *Ixodes persulcatus* ticks collected in Northeastern European Russia (Komi Republic). *Ticks Tick Borne Dis*. 2017; 8: 588-592. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.04.001
10. Shpynov SN, Fournier PE, Rudakov NV, Samoilenko IE, Reshetnikova TA, Yastrebov VK, et al. Molecular identification of a collection of spotted Fever group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia. *Am J Trop Med Hyg*. 2006; 74(3): 440-443.
11. Rakov AV, Chekanova TA, Petremgvdilshvili K, Timonin AV, Valdokhina AV, Shirokostup SV, et al. High prevalence of *Rickettsia raoultii* found in Dermacentor ticks collected in Barnaul, Altai Krai, Western Siberia. *Pathogens*. 2023; 12(7): 914. doi: 10.3390/pathogens12070914

12. Rar V, Livanova N, Sabitova Y, Igolkina Y, Tkachev S, Tikunov A, et al. *Ixodes persulcatus/pavlovskiyi* natural hybrids in Siberia: Occurrence in sympatric areas and infection by a wide range of tick-transmitted agents. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(6): 101254. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.05.020
13. Пуховская Н.М., Рар В.А., Иванов Л.И., Высочина П.Н., Иголкина Я.П., Фоменко Н.В., и др. Выявление методом ПЦР возбудителей природно-очаговых инфекций, переносимых клещами, на полуострове Камчатка. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 2010; 4: 36-39. [Pukhovskaia NM, Rar VA, Ivanov LI, Vysochina NP, Igolkina IaP, Fomenko NV, et al. PCR detection of the causative agents of infections transmitted by ticks on the Kamchatka Peninsula. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni.* 2010; 4: 36-39. (In Russ.)].
14. Igolkina Y, Bondarenko E, Rar V, Epikhina T, Vysochina N, Pukhovskaya N, et al. Genetic variability of *Rickettsia* spp. in *Ixodes persulcatus* ticks from continental and island areas of the Russian Far East. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7: 1284-1289. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.06.005
15. Малькова М.Г., Богданов И.И. Паразитофауна водяной полевки (*Arvicola terrestris*) и ее гнезд на юге Западной Сибири. *Паразитология.* 2004; 38: 33-45. [Malkova MG, Bogdanov II Parasite fauna of the water vole *Arvicola terrestris* and its nests in south of Western Siberia. *Parazitologiya.* 2004; 38: 33-45. (In Russ.)].
16. Karimov AV, Korralo-Vinarskaya NP, Kuzmenko YF, Vinarski MV. *Ixodes apronophorus* Schulze (Acari: Ixodida: Ixodidae): Distribution, abundance, and diversity of its mammal hosts in West Siberia (Results of a 54-year long surveillance). *Diversity.* 2022; 14: 702. doi: 10.3390/d14090702
17. Якименко В.В., Малькова М.Г., Шпынов С.Н. *Иксодовые клещи Западной Сибири: фауна, экология, основные методы исследования.* Омск; 2013. [Yakimenko VV, Malkova MG, Shpynov SN. *Ixodid ticks of the Western Siberia: Fauna, ecology, basic research methods.* Omsk; 2013. (In Russ.)].
18. Nowak-Chmura M, Siuda K. Ticks of Poland. Review of contemporary issues and latest research. *Ann Parasitol.* 2012; 58(3): 125-55.
19. Igolkina YP, Rar VA, Yakimenko VV, Malkova MG, Tancev AK, Tikunov AY, et al. Genetic variability of *Rickettsia* spp. in *Ixodes persulcatus/Ixodes trianguliceps* sympatric areas from Western Siberia, Russia: Identification of a new *Candidatus Rickettsia* species. *Infect Genet Evol.* 2015; 34: 88-93. doi: 10.1016/j.meegid.2015.07.015
20. Rar V, Yakimenko V, Tikunov A, Vinarskaya N, Tancev A, Babkin I, et al. Genetic and morphological characterization of *Ixodes apronophorus* from Western Siberia, Russia. *Ticks and Tick-Borne Diseases.* 2020; 11(1): 101284. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.101284
21. Филиппова Н.А. *Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae.* Ленинград: Наука; 1977. [Filippova NA. *Ixodid ticks of the subfamily Ixodinae.* Leningrad: Nauka; 1977. (In Russ.)].
22. Fournier PE, Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA. *Int J Syst Bacteriol.* 1998; 48 (3): 839-849. doi: 10.1099/00207713-48-3-839
23. Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). *Int J Syst Evol Microbiol.* 2000; 50: 1449-1455. doi: 10.1099/00207713-50-4-1449
24. Sekeyova Z, Roux V, Raoult D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51(4): 1353-1360. doi: 10.1099/00207713-51-4-1353
25. Matsumoto K, Inokuma H. Identification of spotted fever group *Rickettsia* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of the *sca4* gene. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6): 747-749. doi: 10.1089/vbz.2008.0098
26. Labruna MB, McBride JW, Bouyer DH, Camargo LM, Camargo EP, Walker DH. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. *J Med Entomol.* 2004; 41(3): 533-537. doi: 10.1603/0022-2585-41.3.533
27. Jado I, Escudero R, Gil H, Jiménez-Alonso MI, Sousa R, García-Pérez AL, et al. Molecular method for identification of *Rickettsia* species in clinical and environmental samples. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(12): 4572-4576. doi: 10.1128/JCM.01227-06
28. Shao JW, Zhang XL, Li WJ, Huang HL, Yan J. Distribution and molecular characterization of rickettsiae in ticks in Harbin area of Northeastern China. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020; 14(6): e0008342. doi: 10.1371/journal.pntd.0008342
29. National Library of Medicine. *Basic Local Alignment Search Tool.* URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST> [date of access: 05.09.2023].
30. *Molecular Evolutionary Genetics Analysis.* URL: <http://www.megasoftware.net/manual.html> [date of access: 05.09.2023].
31. Kumar Lab – Laboratory of Sudhir Kumar. URL: <http://www.kumarlab.net/publications> [date of access: 05.09.2023].
32. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(4): 657-702. doi: 10.1128/CMR.00032-13
33. Moraes-Filho J, Costa FB, Gerardi M, Soares HS, Labruna MB. *Rickettsia rickettsii* co-feeding transmission among *Amblyomma aureolatum* ticks. *Emerg Infect Dis.* 2018; 24(11): 2041-2048. doi: 10.3201/eid2411.180451

Сведения об авторах

Рар Вера Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5930-5306>

Иголкина Яна Петровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: igolkina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5604-1846>

Якименко Валерий Викторович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией арбовирусных инфекций отдела природно-очаговых вирусных инфекций, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», e-mail: yakimenko_vv@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0001-9088-3668>

Тикунев Артем Юрьевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией противомикробных препаратов, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: arttik@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5613-5447>;

Никитин Алексей Яковлевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: nikitin_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>

Епихина Тамара Ивановна – ведущий инженер лаборатории молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: tiepikhina@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-7077-1809>

Тикунова Нина Викторовна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: tikunova@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-8278>

Information about the authors

Vera A. Rar – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5930-5306>

Yana P. Igolkina – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: igolkina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5604-1846>

Valeriy V. Yakimenko – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Arbovirus Infections of the Department of Natural Focal Viral Infections, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, e-mail: yakimenko_vv@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0001-9088-3668>

Artem Yu. Tikunov – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Antimicrobials, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: arttik@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5613-5447>

Aleksey Yu. Nikitin – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Zoological and Parasitological Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: nikitin_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>

Tamara I. Epikhina – Lead Engineer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tiepikhina@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-7077-1809>

Nina V. Tikunova – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tikunova@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-8278>

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ СТРУКТУР CRISPR/CAS-СИСТЕМ В ГЕНОМАХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Степаненко Л.А.¹,
Сухов Б.Г.²,
Конькова Т.В.²,
Бединская В.В.¹,
Клушина Н.В.²,
Злобин В.И.¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»

Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

² ФГБУН Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН (630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Степаненко Лилия Александровна,
e-mail: steplia@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Klebsiella pneumoniae* относится к группе бактерий-оппортунистов, обладающих способностью формировать множественную антибиотикорезистентность и передавать её разным видам бактерий путём горизонтального переноса генов. Данные исследования посвящены изучению структурного и функционального разнообразия CRISPR/Cas-систем, защищающих бактерии от инородной ДНК. Их анализ на примере антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* продемонстрирует их устойчивость к определённым бактериофагам, что позволит разработать подходы в лечении сложных инфекционных заболеваний, вызванных данными микроорганизмами, путём создания таргетной фаговой терапии.

Цель исследований. Выполнить биоинформатический анализ выявленных структурных компонентов CRISPR/Cas-систем для скрининга отбора бактериофагов через спейсеры CRISPR-кассет на примере антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы. В статье проанализированы 29 полногеномных последовательностей *Klebsiella pneumoniae*, в геноме которых были определены структуры CRISPR/Cas-систем и гены антибиотикорезистентности (по данным NCBI). Для решения поставленной цели с помощью программных методов моделирования произведён поиск Cas-генов и CRISPR-кассет, дана их структурная и функциональная характеристики.

Результаты. При помощи биоинформационных алгоритмов поиска в геноме антибиотикорезистентных штаммов были определены функционально активные CRISPR/Cas-системы с наличием одной или двух CRISPR-кассет и относящиеся к Type I Subtype 1E. Определены группы резистентных штаммов, обладающие идентичным спейсерным составом CRISPR-кассет. Проведён филогенетический анализ, подтверждающий их единое происхождение. Путём анализа спейсерных последовательностей CRISPR-кассет определён спектр разнообразия фагов бактерий рода *Klebsiella*, *Salmonella*, относящихся к одному семейству *Enterobacteriaceae*. Таким образом, была получена информация о бактериофагах, на которые нацелено действие CRISPR-систем штаммов *Klebsiella pneumoniae*, обладающих антибиотикорезистентностью.

Заключение. Анализ функциональных и структурных особенностей CRISPR/Cas-систем антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* позволил получить информацию об их эволюционной истории и о бактериофагах, против которых направлено их действие, то есть об их фагоустойчивости. Используемый в данном исследовании подход в дальнейшем может послужить основой для создания персонализированной фаготерапии.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, антибиотикорезистентность, CRISPR/Cas-система, спейсер, протоспейсер, бактериофаг, биоинформатика

Для цитирования: Степаненко Л.А., Сухов Б.Г., Конькова Т.В., Бединская В.В., Клушина Н.В., Злобин В.И. Идентификация и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геномах антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 105-116. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.9

Статья поступила: 27.08.2023

Статья принята: 06.12.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF CRISPR/CAS SYSTEMS STRUCTURES IN THE GENOMES OF ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Stepanenko L.A.¹,
Sukhov B.G.²,
Kon'kova T.V.²,
Bedinskaya V.V.¹,
Klushina N.V.²,
Zlobin V.I.¹

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

² Voevodsky Institute of Chemical
Kinetics and Combustion, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Institutskaya str. 3, Novosibirsk 630090,
Russian Federation)

Corresponding author:
Lilia A. Stepanenko,
e-mail: steplia@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Klebsiella pneumoniae* belongs to a group of opportunistic bacteria that can form multiple resistance to antibiotics and transmit it to various types of bacteria through horizontal gene transfer. These studies examine the structural and functional diversity of CRISPR/Cas systems that protect bacteria from foreign DNA. Their analysis using the example of antibiotic-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* will demonstrate their resistance to certain bacteriophages, which will make it possible to develop approaches to the treatment of complex infectious diseases caused by these microorganisms by creating targeted phage therapy.

The aim. To perform a bioinformatics analysis of the identified structural components of CRISPR/Cas systems for screening bacteriophages through CRISPR cassette spacers using the example of antibiotic-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*.

Materials and methods. The article analyzed 29 full-genome sequences of *Klebsiella pneumoniae*, in the genome of which the structures of CRISPR/Cas systems and antibiotic resistance genes were determined (according to NCBI). To achieve this goal, using software modeling methods, a search was made for Cas genes and CRISPR cassettes, and their structural and functional characteristics were given.

Results. Using bioinformatic search algorithms in the genome of antibiotic-resistant strains, functionally active CRISPR/Cas systems with the presence of one or two CRISPR cassettes and belonging to Type I Subtype IE were identified. Groups of resistant strains with identical spacer composition of CRISPR cassettes have been identified. A phylogenetic analysis was carried out confirming their common origin. By analyzing the spacer sequences of CRISPR cassettes, the spectrum of diversity of phages of bacteria of the genus *Klebsiella*, *Salmonella*, belonging to the same family Enterobacteriaceae, was determined. Thus, information was obtained about the bacteriophages that are targeted by the action of CRISPR systems of *Klebsiella pneumoniae* strains that have antibiotic resistance.

Conclusions. Analysis of the functional and structural features of the CRISPR/Cas systems of antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* strains made it possible to obtain information about their evolutionary history and about the bacteriophages against which their action is directed, that is, about their phage resistance. The approach used in this study may further serve as the basis for the creation of personalized phage therapy.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, spacer, antibiotic resistance, CRISPR/Cas-system, bacteriophage, protospacer, bioinformatics

For citation: Stepanenko L.A., Sukhov B.G., Kon'kova T.V., Bedinskaya V.V., Klushina N.V., Zlobin V.I. Identification and analysis of CRISPR/Cas systems structures in the genomes of antibiotic-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 105-116. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.9

Received: 27.08.2023
Accepted: 06.12.2023
Published: 29.12.2023

ВВЕДЕНИЕ

Антибиотики являются одним из величайших достижений человечества. С их появлением стали излечимы ранее фатальные заболевания. Однако формирование устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам на сегодняшний день является одной из серьёзнейших проблем системы здравоохранения [1]. Во всём мире регистрируется рост показателей распространённости антибиотикорезистентных штаммов [2–6]. Инфекционные заболевания, вызванные данными возбудителями, характеризуются более длительным течением, присоединением многочисленных осложнений, увеличением уровня инвалидности и смертности [7–9]. В связи с этим значительно возрастают экономические затраты, связанные с увеличением продолжительности и стоимости лечения больных в стационаре [10, 11]. В феврале 2017 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала список бактериальных патогенов, требующих новых подходов в лечении в связи с их высокой вирулентностью и антибиотикорезистентностью. К данной группе относится *Klebsiella pneumoniae*. Она является грамотрицательным оппортунистическим патогеном, вызывающим различные инфекционные заболевания, включая инфекции мочевыводящих путей, бактериемию, пневмонию и абсцессы [12, 13]. Распространение по всему миру клонов *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (ESBL, extended-spectrum beta-lactamases) и карбапенемазы (KPC), стало серьёзной угрозой для медицинских учреждений, так как они являются основной причиной развития опасных для жизни нозокомиальных инфекций [14]. Широкое распространение штаммов, обладающих множественной антибиотикорезистентностью, диктует необходимость поиска альтернативных методов борьбы с ними. ВОЗ в целях борьбы с антибиотикорезистентностью инициировала многочисленные кампании. Запущен в работу эпидемиологический надзор за устойчивостью микроорганизмов к антимикробным препаратам [1]. Создаются новые подходы в лечении инфекционных заболеваний, которые снижают или полностью заменяют применение антибиотиков [15]. На этом фоне в лечебной практике вновь появляется интерес к применению бактериофагов для лечения заболеваний бактериального происхождения. Одним из реальных инструментов эффективной борьбы становится недавно открытая у бактерий система CRISPR/Cas, защищающая бактерии от чужеродных мобильных генетических элементов. Бактерии способны приобретать и интегрировать генетические элементы в собственный геном [16]. Таким образом, они сохраняют генетическую запись предыдущих атак чужеродных нуклеиновых кислот в массивах CRISPR. Эти массивы состоят из коротких и консервативных повторяющихся последовательностей, называемых повторами, которые стратегически расположены между уникальными последовательностями, называемыми спейсерами. Они встраиваются специализированными белками Cas в массив CRISPR во время инфекций путём вторжения нуклеиновых кислот [17–20]. Адаптивный иммунитет прокариотов против чужеродных генетических элементов достигается за счёт образования

эффекторных комплексов из РНК-ориентированных эндонуклеаз, которые способны обнаруживать и разрезать чужеродную ДНК, предварительно включённую в массив CRISPR, при вторичном заражении [17, 21]. Таким образом, изучение особенностей строения и работы CRISPR/Cas систем штаммов *Klebsiella pneumoniae*, обладающих антибиотикорезистентностью, позволит разработать подходы создания таргетной фаговой терапии при лечении сложных инфекционных заболеваний.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выполнить биоинформатический анализ выявленных структурных компонентов CRISPR/Cas-систем для скрининга бактериофагов через спейсеры CRISPR-кассет на примере антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии Научно-исследовательского института биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. Системный дизайн проведённых исследований представлен на рисунке 1.

При проведении данных исследований рандомно были определены 50 полногеномных последовательностей *Klebsiella pneumoniae*, в геноме которых биоинформатическим методом были выявлены CRISPR/Cas-системы. Объектом исследования послужили 29 из 50 полногеномных последовательностей *Klebsiella pneumoniae*, загруженные из базы данных GenBank, в геноме которых определялись гены антибиотикорезистентности (по данным NCBI (National Center for Biotechnology Information)). Для решения поставленной цели с помощью разработанного биоинформационного программного алгоритма произведён поиск Cas генов и CRISPR-кассет, даны их структурная и функциональная характеристики.

Для поиска CRISPR/Cas-систем и генов Cas использовались программные методы моделирования: Macromolecular System Finder (MacSyF, ver. 1.0.2) с вспомогательными пакетами makeblastDB (ver. 3.0) и HMMER (ver. 2.2.28). Детекция и анализ CRISPR-кассет в геномах проводились с использованием онлайн-сервисов доступных программ: CRISPRCasFinder [22] и CRISPROne [23]. Для поиска фагов расшифрованные спейсерные последовательности в формате FASTA были загружены в онлайн-приложение CRISPRTarget. В работе были использованы только те штаммы, в геноме которых определялись CRISPR/Cas-системы по результатам всех используемых программ ряде программ.

Построение филогенетических деревьев и их выравнивание проводились с помощью программы MEGA X по методу ближайших соседей (NJ, neighbor joining) с анализом статистической значимости топологии бутстрэп-методом (число реплик – 500) и с использованием модели генетических дистанций Maximum

Composite Likelihood. Для «укоренения» дерева к выборке исследуемых организмов добавлен штамм дру-

гого вида *Escherichia coli* (NC 000913.3), который составил аутгруппу.

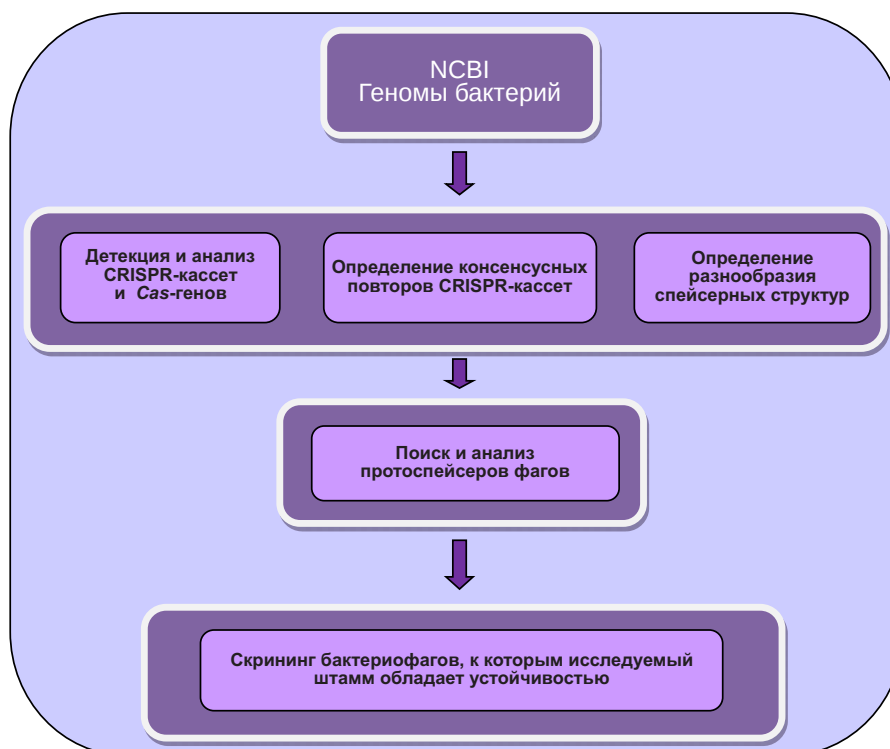


РИС. 1.

Схема системного дизайна исследований

FIG. 1.

Systematic research design flowchart



РИС. 2.

Схема расположения CRISPR-кассет и Cas-генов системы Type I Subtype IE в геноме штаммов *Klebsiella pneumoniae* (данные из GenBank: NZ_CP011624.1, NZ_CP006798.1)

FIG. 2.

Scheme of the location of CRISPR cassettes and Cas genes of the Type I Subtype IE system in the genome of *Klebsiella pneumoniae* strains (data from GenBank: NZ_CP011624.1, NZ_CP006798.1)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Объектом исследования послужили 29 из 50 штаммов с наличием CRISPR/Cas-системы в геноме и обладающие генами устойчивости к антибактериальным препаратам (по данным NCBI). Из 29 исследуемых штаммов 55,2 % ($n = 16$) обладали карбапенемазной активностью, по 3,4 % ($n = 1$) были устойчивы к рифампицину и триметоприм-сульфаметоксазолу и 11 (37,9 %) штаммов обладали множественной антибиотикорезистентностью.

При помощи нескольких биоинформационных программ поиска в CRISPR/Cas-системах исследуемых штаммов идентифицировано наличие одной или двух CRISPR-кассет. Во всех случаях рядом с кассетами определён полный набор Cas-генов, характерный для систем Type I Subtype IE (*cas2*, *cas1*, *cas5*, *cas7*, *cas6*, *cse2gr11*, *cas8*, *cas3*), что свидетельствует о функциональной активности CRISPR/Cas-систем исследуемых бактерий (рис. 2).

Во всех исследуемых CRISPR-кассетах количество выявленных спейсеров составило 1629. Из них 498 спейсеров не повторялись, 276 спейсеров имели повторы в двух и более CRISPR-локусах. Внутри кассет спейсерных повторов не регистрировалось. Количество спейсеров в кассетах составляло от 4 до 64. При этом в штаммах, содержащих одну кассету, суммарное количество спейсеров было больше по сравнению со штаммами, содержащими две кассеты.

Проведённый анализ позволил определить два вида консенсусных последовательностей повторов CRISPR-кассет. Это может свидетельствовать о наличии определённого типа CRISPR-системы (в нашем случае это Type I Subtype IE) и о достаточно стабильной её работе, так как именно данные повторы распознаются белками эндонуклеазы Cas, действие которых направлено на разрезание и разрушение мишени (рис. 3).

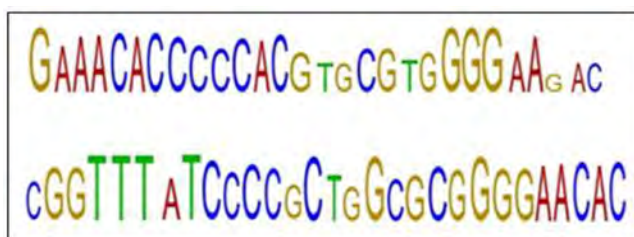


РИС. 3.

Нуклеотидная последовательность консенсусных повторов CRISPR-кассет антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*

FIG. 3.

Nucleotide sequence of consensus repeats of CRISPR cassettes of antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains

Скрининг спейсерных последовательностей CRISPR-кассет исследуемых штаммов показал их полное соответствие протоспейсерам фагов бактерий семейства *Enterobacteriaceae* рода *Klebsiella* (табл. 1). Необходимо отметить, что к большинству спейсеров не было выяв-

лено полного соответствия протоспейсеров фагов из известных баз данных.

При анализе установлено, что в CRISPR-кассетах исследуемых штаммов (NZ_CP013322.1) отмечалось соответствие участка одного спейсера (6) протоспейсерам нескольких фагов бактерий одного семейства, а также соответствие нескольких спейсеров (52, 55) одного штамма (NZ_CP017934.1) протоспейсерам одного и того же фага. Это может свидетельствовать о том, что в процессе эволюции бактерии приспособились приобретать только те спейсеры из ДНК фага, которые эффективно распознаются их эффекторным комплексом, что повышает защитное действие систем CRISPR/Cas.

Таким образом, был определён полный спектр бактериофагов, детектируемых через спейсерные последовательности CRISPR-кассет антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* с доступом к их полному геному в GenBank. Учитывая принцип работы CRISPR/Cas-систем бактерий, можно предполагать, что при встрече с данными фагами они будут уничтожены Cas-нуклеазами при условии соответствия участка его генома последовательности спейсера в CRISPR-кассете бактерий. Данный подход в дальнейшем может быть использован как основа создания персонализированной фаготерапии.

Далее при анализе антибиотикорезистентных штаммов были определены группы бактерий, обладающие идентичным спейсерным составом CRISPR-кассет. Первую группу составили два штамма, обладающие различным сочетанием генов карбапенемаз (NDM-1, OXA-48, OXA-181), которые были связаны с другими детерминантами устойчивости, включая β -лактамазы расширенного спектра и метилазу ArmA, кодирующую устойчивость к аминогликозидам. Поэтому они были определены как панрезистентные, так как обладали множественной антибиотикоустойчивостью. Среди антибиотикорезистентных бактерий выявлены пять штаммов. Необходимо отметить, что данные штаммы, имея сходный спейсерный состав, были выделены в разных регионах мира (Южная Корея, Китай (Шанхай)) и в разное время (2013, 2014 гг.) (табл. 2).

Вторую группу составили три штамма, обладающие множественной антибиотикоустойчивостью, выделенные в одном стационаре (Греция), но в разное время (2011, 2013 гг.). Они были определены как внутригоспитальные штаммы. В их геноме определялось по одной CRISPR-кассете. Причем два штамма имели одинаковый спейсерный состав кассет, представленный 24 спейсерами (табл. 3).

Третью группу составили восемь штаммов, продуцирующих карбапенемазу и выделенных от больных, находившихся на лечении в стационаре Нижней Саксонии (Германия), где была зарегистрирована нозокомиальная вспышка, вызванная *Klebsiella pneumoniae*. Установлено, что данные штаммы имели в геноме по одной CRISPR-кассете, состоящие из 35 спейсеров, полностью идентичных друг другу. Также в данную группу вошли еще три штамма, имеющие аналогичный спейсерный состав кассет, но выделенные в разных регионах мира (Арабские Эмираты, США, Сингапур) и в разное время (2015, 2016, 2014 гг.).

Сходство спейсерного состава кассет в геномах штаммов представленных групп может свидетельство-

ТАБЛИЦА 1

РАЗНООБРАЗИЕ СПЕЙСЕРОВ И СООТВЕТСТВУЮЩИХ
ИМ ПРОТОСПЕЙСЕРОВ ФАГОВ В ГЕНОМАХ
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE

TABLE 1

DIVERSITY OF SPACERS AND CORRESPONDING PHAGE
PROTOSPACERS IN THE GENOMES OF ANTIBIOTIC-
RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS

Штамм	Кассета/спейсер	Бактериофаг	Номер доступа в GenBank
NZ_CP008929.1	1/6	<i>Klebsiella</i> phage ST13-OXA48phi12.4	MK422450
NZ_CP009208.1	1/2	<i>Klebsiella</i> phage ST512-KPC3phi13.1	MK448235
NZ_CP009208.1	1/2	<i>Klebsiella</i> phage ST11-VIM1phi8.1	MK448233
NZ_CP009208.1	2/4	<i>Klebsiella</i> phage ST147-VIM1phi7.2	MK448232
NZ_CP009208.1	2/4	<i>Klebsiella</i> phage 1 LV-2017	KY271401
NZ_CP012426.1	1/3	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP012743.1	1/12	<i>Klebsiella</i> phage ST11-OXA245phi3.2	MK416010
NZ_CP012744.1	1/12	<i>Klebsiella</i> phage ST11-OXA245phi3.2	MK416010
NZ_CP012745.1	1/3	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP012745.1	1/22	<i>Klebsiella</i> phage YMC1601N133_KPN_BP	MF476925
NZ_CP012745.1	1/25	<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395
NZ_CP013322.1	1/6	<i>Klebsiella</i> phage ST512-KPC3phi13.1	MK448235
NZ_CP013322.1	1/6	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP013322.1	1/6	<i>Klebsiella</i> phage ST11-VIM1phi8.1	MK448233
NZ_CP013322.1	1/6	<i>Klebsiella</i> phage 2 LV-2017	KY271396
NZ_CP013322.1	1/6	<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395
NZ_CP015382.1	1/3	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP015500.1	1/3	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP015500.1	1/22	<i>Klebsiella</i> phage YMC1601N133_KPN_BP	MF476925
NZ_CP015500.1	1/25	<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395
NZ_FO834906.1	1/10	<i>Klebsiella</i> phage ST11-VIM1phi8.2	MK448234
NZ_CP022127.1	2/6	<i>Klebsiella</i> phage ST13-OXA48phi12.4	MK422450
NZ_CP017934.1	1/53	<i>Klebsiella</i> phage ST405-OXA48phi1.2	MK416007
	1/55	<i>Klebsiella</i> phage 1 LV-2017	KY271401
	1/22	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.3	MK416017
	1/36	<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395
	1/52	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.3	MK416017
	1/52	<i>Klebsiella</i> phage ST147-VIM1phi7.2	MK448232
	1/52	<i>Klebsiella</i> phage 1 LV-2017	KY271401
	1/18	<i>Klebsiella</i> phage ST16-OXA48phi5.1	MK416013
NZ_CP018140.1 NZ_CP018686.1 NZ_CP018695.1 NZ_CP018701.1 NZ_CP018707.1 NZ_CP018713.1 NZ_CP018719 NZ_CP017985.1	1/18	<i>Klebsiella</i> phage 5 LV-2017	KY271399
	1/3	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP018140.1 NZ_CP018686.1 NZ_CP018695.1 NZ_CP018701.1 NZ_CP018707.1 NZ_CP018713.1 NZ_CP018719 NZ_CP017985.1	1/14	<i>Klebsiella</i> phage YMC1601N133_KPN_BP	MF476925

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

NZ_CP018140.1 NZ_CP018686.1 NZ_CP018695.1 NZ_CP018701.1 NZ_CP018707.1 NZ_CP018713.1 NZ_CP018719 NZ_CP017985.1	1/17	<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395
NZ_CP018458.1	2/6	<i>Klebsiella</i> phage ST13-OXA48phi12.4	MK422450
NZ_CP019047.1	2/11	<i>Klebsiella</i> phage 2 LV-2017	KY271396
NZ_CP019047.1	2/5	<i>Klebsiella</i> phage ST11-OXA245phi3.2	MK416010
NZ_CP019047.1	2/13	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231
NZ_CP019047.1	2/12	<i>Klebsiella</i> phage ST16-OXA48phi5.2	MK448230

ТАБЛИЦА 2

**СПЕЙСЕРНЫЙ СОСТАВ CRISPR-КАССЕТ
ПЕРВОЙ ГРУППЫ ПАН-РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ
*KLEBSIELLA PNEUMONIAE***

TABLE 2

**SPACER COMPOSITION OF CRISPR CASSETTES
OF THE FIRST GROUP OF PAN-RESISTANT
KLEBSIELLA PNEUMONIAE STRAINS**

№ штамма в GenBank	NZ_CP014004.1	NZ_CP012753.1
Место и год выделения штамма	Китай, Цзянси 2014	Южная Корея 2013
Кассета 1	TGCCTCCAATGCAATCACCAGCCTGCTAACCGG	TGCCTCCAATGCAATCACCAGCCTGCTAACCGG
	CGTGTGCAAGCGCACCTCGTAGCCGAGCCAGTC	CGTGTGCAAGCGCACCTCGTAGCCGAGCCAGTC
	CGTCATCAGCGCCTTGTTCCAGCGGCGACCACC	CGTCATCAGCGCCTTGTTCCAGCGGCGACCACC
	TCCAGTCGTCGTAGTCTCGGTAATGTCCTCGA	TCCAGTCGTCGTAGTCTCGGTAATGTCCTCGA
	TATCGTGCAGAGTCACAACCTGACGGGATTATC	TATCGTGCAGAGTCACAACCTGACGGGATTATC
	TCGTGCATGGTGAGGATTCTACAGTCGCACCAT	TCGTGCATGGTGAGGATTCTACAGTCGCACCAT
	TACCTCCCGGCGTCCGCGCCAGGGCGATCACGTG	TACCTCCCGGCGTCCGCGCCAGGGCGATCACGTG
	CCTGCAGCTGGCCGTCGAGCTGACGGATGCCGG	CCTGCAGCTGGCCGTCGAGCTGACGGATGCCGG
	TTCATCACGTGTGAGCGGATTTGGCTCTATCCT	TTCATCACGTGTGAGCGGATTTGGCTCTATCCT
	TATCATCCCTATCGCGCAGCACTTCGACGGCGA	TATCATCCCTATCGCGCAGCACTTCGACGGCGA
	TACCGCCGCGATACTGGCAGTTTTCAGCTGAAT	TACCGCCGCGATACTGGCAGTTTTCAGCTGAAT
	TCCCGCTGGGTAAGCAATATATAACATTTGACG	
	TTTAACATTCTGAAAGTGCAATTTTGGAGGCTC	
	TTAAGGAGGGGCGCCATGGAGCCCGTATTGATT	
Кассета 2	CAGCGGCGGCGGTAACGCCGCCAGGAGCAACCT	CAGCGGCGGCGGTAACGCCGCCAGGAGCAACCT
	CACCGATCTGCGCCAGCTGGGTGAGACGATGAC	CACCGATCTGCGCCAGCTGGGTGAGACGATGAC
	TACACTCAAGAAAACAAAATCTCAGGTTGATAC	TACACTCAAGAAAACAAAATCTCAGGTTGATAC
	TGGAAGGCGCGATTGGAGATAGAGCAGCATGA	TGGAAGGCGCGATTGGAGATAGAGCAGCATGA
	CTCGCACAGCATCGCCCGGATCCGCTTCCACGC	CTCGCACAGCATCGCCCGGATCCGCTTCCACGC
	CACCCGCGTTTTTCGAAAGGGATGGCGGCTATGT	CACCCGCGTTTTTCGAAAGGGATGGCGGCTATGT
	CGACGGGGCAGGTTTACGTCTACCCGGGCAGGG	CGACGGGGCAGGTTTACGTCTACCCGGGCAGGG
	CATACCAGTCTCCGCCGCGGTCTACTCAATAT	CATACCAGTCTCCGCCGCGGTCTACTCAATAT
	TCCGCCGTTTAAATCGCGGTGATGATATCCGGCA	TCCGCCGTTTAAATCGCGGTGATGATATCCGGCA
	GGAATCCACGACGCGCCGTACCAGCGCGGGCATTCTGTTCT	TGGAATCCACGACGCGCCGTACCAGCGCGGGCATTCTGTTCT

Примечание. Цветом выделены идентичные спейсеры/

ТАБЛИЦА 3
СПЕЙСЕРНЫЙ СОСТАВ CRISPR-КАССЕТ ВТОРОЙ ГРУППЫ РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
TABLE 3
SPACER COMPOSITION OF CRISPR CASSETTES OF THE SECOND GROUP OF RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS

№ штамма в GenBank	NZ_CP012743.1	Греция 2011	NZ_CP012744.1	Греция 2013	NZ_CP012745.1
Место и год выделения штамма	Греция 2013				
Кассета 1	CATTTCATAGTATCGACATTTTAATTAACA	CATTTCATAGTATCGACATTTTAATTAACA	CATTTCATAGTATCGACATTTTAATTAACA	GAGCAGGCACCGCCGCAACGACGACGAAGAGCGC	
	AGTTCACGACAGGCAAAAGCTTTACGGTATGC	AGTTCACGACAGGCAAAAGCTTTACGGTATGC	AGTTCACGACAGGCAAAAGCTTTACGGTATGC	AAATCAGCAGCACCACGATTCCTGGGAAATTT	
	TCTGCTGGTTACAGGAGAAAAAATGATTGGT	TCTGCTGGTTACAGGAGAAAAAATGATTGGT	TCTGCTGGTTACAGGAGAAAAAATGATTGGT	ACAGGCTTACCGGTATTAGACGGTTGCTGAA	
	TTATTTCATAAACTAAGTTTGTTCATGCAGT	TTATTTCATAAACTAAGTTTGTTCATGCAGT	TTATTTCATAAACTAAGTTTGTTCATGCAGT	GAAACCCATCAGATGACCTCCCCCATGTTGGC	
	TTTTTTTGACGAAGACGGCAACGAGTTAGAAG	TTTTTTTGACGAAGACGGCAACGAGTTAGAAG	TTTTTTTGACGAAGACGGCAACGAGTTAGAAG	TTGCCTGGTCTGTTGGTGATGATCCGTGGTA	
	GTCTCTGCCAGTTTACCTGCTCAGCGGATAA	GTCTCTGCCAGTTTACCTGCTCAGCGGATAA	GTCTCTGCCAGTTTACCTGCTCAGCGGATAA	TACAGAACGACTGAGGGCGGTGATTGCATA	
	CTGACAGCTGGCGCTAACCCGCTGTTATCGC	CTGACAGCTGGCGCTAACCCGCTGTTATCGC	CTGACAGCTGGCGCTAACCCGCTGTTATCGC	GATCTTAACCTATTGCCAATGGCGCAATTCA	
	CGTGAGCATCTGGGCATCTTCAGTGATAGCGT	CGTGAGCATCTGGGCATCTTCAGTGATAGCGT	CGTGAGCATCTGGGCATCTTCAGTGATAGCGT	GGCGATGCGCGCTCTGCTGGCTATCGGTAAAA	
	TATTTTTGAGATGATGGATTGTTGCACACCAG	TATTTTTGAGATGATGGATTGTTGCACACCAG	TATTTTTGAGATGATGGATTGTTGCACACCAG	AATGCAGCAACCGGCAATATATCGCCGGTAA	
	CGCTTCGCGCTTCTCTGAATTTATCGGCCCA	CGCTTCGCGCTTCTCTGAATTTATCGGCCCA	CGCTTCGCGCTTCTCTGAATTTATCGGCCCA	GGGTGCGCGACGCTGGGACGAGTCGAGCCC	
	ATCCCGACCCGCTCTCCAGAGCGAATACGAT	ATCCCGACCCGCTCTCCAGAGCGAATACGAT	ATCCCGACCCGCTCTCCAGAGCGAATACGAT	CCGCAATAACAAAAATAAATGAGGGTTAAAGT	
	TGCTTTATGGCAATAAGAGAGGATATAACCA	TGCTTTATGGCAATAAGAGAGGATATAACCA	TGCTTTATGGCAATAAGAGAGGATATAACCA	GTAAATGGGAATAGTAGAAGAGCGTCATTGG	
	GCGTCGCGCTCCCAATAGCCAGGCTGTATT	GCGTCGCGCTCCCAATAGCCAGGCTGTATT	GCGTCGCGCTCCCAATAGCCAGGCTGTATT	CCCCCGGCACATGCTTAAACGCGCTATCACG	
	TAAATCCAGCTGGTTTGACGTAGTGGCACTG	TAAATCCAGCTGGTTTGACGTAGTGGCACTG	TAAATCCAGCTGGTTTGACGTAGTGGCACTG	GGCATCTGTTGTGTAATGTTGAGTTTCTTCA	
	CAATGAAGGCTTATAAGGGTGAAAGAGAGCAGG	CAATGAAGGCTTATAAGGGTGAAAGAGAGCAGG	CAATGAAGGCTTATAAGGGTGAAAGAGAGCAGG	CAGGTTAAACATGTAAAAAATGACCGTCGCCG	
	CAGTCGGTAACGGCTGGCGGTGACCTCAAAGC	CAGTCGGTAACGGCTGGCGGTGACCTCAAAGC	CAGTCGGTAACGGCTGGCGGTGACCTCAAAGC	CACATTGCCGGTCTGAAAAAGTATTGAAAT	
	GTGCCATTTTATTGTGCTTAAATAAATATC	GTGCCATTTTATTGTGCTTAAATAAATATC	GTGCCATTTTATTGTGCTTAAATAAATATC	TCCGCACAGTCAAACGCTCCAGACACCAACCC	
	CCTATTGTTCAGTCGTACACAGCTGAATCAG	CCTATTGTTCAGTCGTGAACAGCTGAATCAG	CCTATTGTTCAGTCGTGAACAGCTGAATCAG	CCGGAACACCAACAGTAACAGTACTGTAGGC	
	GGCGCGGCGGAATAACCACTTTATGAGCAGGT	GGCGCGGCGGAATAACCACTTTATGAGCAGGT	GGCGCGGCGGAATAACCACTTTATGAGCAGGT	TGACCTGTTGATTTTGTTCAGGTAATACGT	
	GCGACCATGCGTAGTCTTCAATGACGTAATC	GCGACCATGCGTAGTCTTCAATGACGTAATC	GCGACCATGCGTAGTCTTCAATGACGTAATC	TTAACCTGCTGTTCTGGTTTCCGCCAGGAT	
	CCCCGTCGTCATTGCGGCATCTGCGCACAGA	CCCCGTCGTCATTGCGGCATCTGCGCACAGA	CCCCGTCGTCATTGCGGCATCTGCGCACAGA	GAACTGAATTCGAAGGTGGGTGTCATCTTCC	
	TAAACAGGGCCATTTCCCGGGTTGCCAGACGA	TAAACAGGGCCATTTCCCGGGTTGCCAGACGA	TAAACAGGGCCATTTCCCGGGTTGCCAGACGA	GGACCCGAGCGACCCGGTCAACCTCCGACCT	
	TCACCTCGTAGCCGATACCACTTTTCGCGCAG	TCACCTCGTAGCCGATACCACTTTTCGCGCAG	TCACCTCGTAGCCGATACCACTTTTCGCGCAG	CCGTCGAACGGCGGTATATCCATCTTGAGTC	
	GGGTTCACTTGGGTGAACCTGAACCTAAT	GGGTTCACTTGGGTGAACCTGAACCTAAT	GGGTTCACTTGGGTGAACCTGAACCTAAT	ACCGATCCCACAATTGCGGCGGTGAGATTGA	

вать об их едином происхождении. Можно предположить, что в результате широкой циркуляции штаммы генетически изменялись, но при этом сохраняли структуру CRISPR-кассет, а в условиях стационара (внутригоспитальные вспышки) обменивались генетической информацией, приобретая новые свойства, но при этом также сохраняли структуру CRISPR-кассеты. Для подтверждения данного момента был проведён филогенетический анализ исследуемых штаммов на основе нуклеотидной последовательности 16S rRNA (рис. 4).

Филогенетический анализ показал, что в исследуемых группах штаммы со сходным спейсерным со-

ставом CRISPR-кассет являются близкородственными, так как располагаются на ветках, имеющих одного предка (один узел). При этом штамм (NZ_CP012745.1), входящий в группу 2 и обладающий индивидуальным спейсерным составом CRISPR-кассет, не имеет единого предка с остальными представителями данной группы.

Таким образом, обнаружение схожих спейсеров в CRISPR-кассетах различных штаммов может указывать на филогенетические связи между штаммами. Данный приём может быть использован при проведении эпидемиологического анализа вспышек заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными штаммами *Klebsiella pneumoniae*.

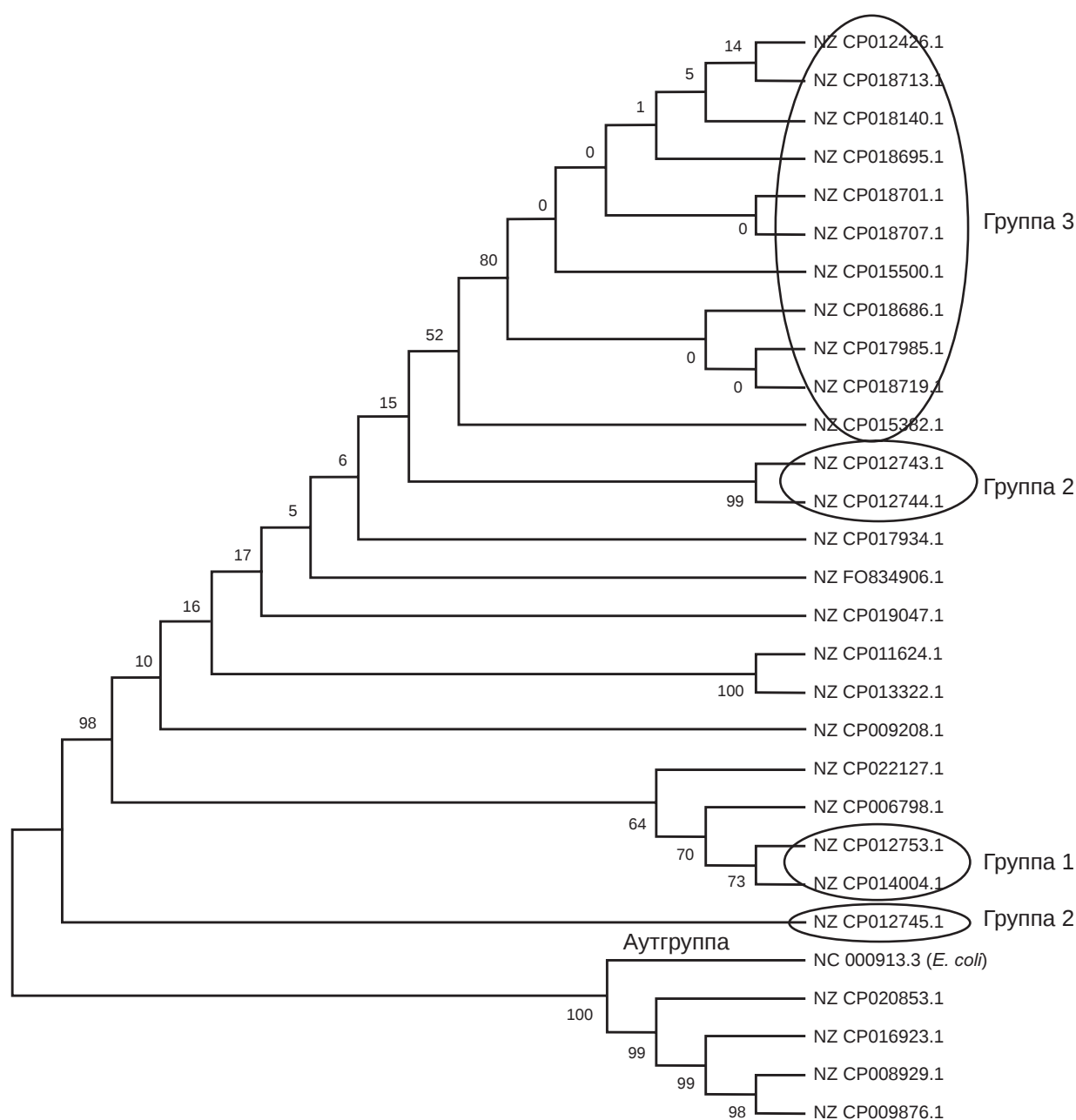


РИС. 4.
Филогенетическое дерево на основе маркера 16S rRNA антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* (использована модель генетических дистанций Maximum Composite Likelihood)

FIG. 4.
Phylogenetic tree based on the 16S rRNA marker of antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains (Maximum Composite Likelihood model of genetic distances was used)

Скрининг бактериофагов по спейсерным последовательностям CRISPR-кассет штаммов из вышеперечисленных групп представлен в таблице 1, за исключением двух пан-резистентных штаммов из первой группы (NZ_CP014004.1 и NZ_CP012753.1), так как не было выявлено полного соответствия спейсеров в составе их кассет протоспейсерам из известных баз данных. Однако проведенный анализ спейсерных последовательностей позволил установить наибольшее их соответствие протоспейсерам фагов бактерий рода *Klebsiella*, *Salmonella*, относящихся к одному семейству Enterobacteriaceae (табл. 4).

Важно отметить, что в CRISPR-кассетах исследуемых штаммов отмечалось соответствие одного из спейсеров протоспейсерам нескольких фагов бактерий, относящихся к одному семейству. Это может указывать на консервативность приобретаемых новых спейсеров из участков ДНК фагов. Таким образом, бактерия «одним спейсером» защищается от нескольких фагов. Наличие данного механизма повышает эффективность защитного действия систем CRISPR/Cas.

Изучение выявленных бактериофагов показало, что все *Klebsiella* phage являются профагами бактерий *Klebsiella pneumoniae*, относящихся к изолятам, принадлежащим к клональной группе ST 307 (по данным NCBI), продуцирующих карбапенемазу (табл. 5). Показано, что геном ST 307 кодирует генетические особенности, которые могут обеспечить преимущество в адаптации к больничной среде и человеку-хозяину. Все изоляты ST 307 являются капсу-

лированными и, следовательно, обладают более высокой устойчивостью к уничтожению, опосредованному комплексом. Всё это обеспечивает распространение и преобладание штаммов с данной генетической последовательностью по всему миру [24]. Как известно, профаги остаются латентными в геноме в течение нескольких клеточных делений, но под воздействием внешних факторов переходят в вирулентные формы и лизируют бактериальную клетку. Таким образом, исследуемые нами антибиотикорезистентные штаммы имеют генетическую память о данных бактериофагах в виде спейсеров их CRISPR-кассет.

Данный анализ исследуемых штаммов показал достаточно широкий спейсерный состав их CRISPR-кассет, разнообразие бактериофагов, выявленных через спейсерные последовательности, что позволяет предположить, что они обладают не только антибиотикорезистентностью, но и устойчивостью ко многим бактериофагам. Следовательно, персонифицированный подход к комплексному подбору антибиотиков и бактериофагов в перспективе поможет решить вопрос о лечении заболеваний, вызванных данными штаммами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований позволили получить информацию о строении CRISPR/Cas-систем в геномах антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella*

ТАБЛИЦА 4
РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИОФАГОВ,
СООТВЕТСТВУЮЩИХ ИДЕНТИЧНЫМ
СПЕЙСерам В ПЕРВОЙ ГРУППЕ ШТАММОВ
***KLEBSIELLA PNEUMONIAE* С МНОЖЕСТВЕННОЙ**
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Номер доступа штамма GenBank	Нуклеотидная последовательность спейсера	Бактериофаг	Номер доступа бактериофага GenBank	Количество нуклеотидных замен
NZ_CP014004.1 NZ_CP012753.1	TTCATCACGTGTGAGCGGATTGGCTCTATCCT	<i>Klebsiella</i> phage 6 LV-2017	KY271400	2
NZ_CP014004.1 NZ_CP012753.1	TGCCTCCAATGCAATCACCGGCTGCTAACCGG	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231	1
NZ_CP014004.1 NZ_CP012753.1	CGTCATCAGCGCCTTGTTCCAGCGGCGACCACC	<i>Salmonella</i> phage FSL SP-062	KC139634	2
		<i>Klebsiella</i> phage ST512-KPC3phi13.1	MK448235	1
		<i>Klebsiella</i> phage ST11-VIM1phi8.1	MK448233	1
NZ_CP014004.1 NZ_CP012753.1	TCCAGTCGTCGTAGTCCTCGGTAATGTCCTCGA	<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231	1
		<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395	1
		<i>Klebsiella</i> phage 2 LV-2017	KY271396	2

ТАБЛИЦА 5

ПЕРЕЧЕНЬ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ
БАКТЕРИОФАГОВ В ПЕРВОЙ ГРУППЕ ШТАММОВ
KLEBSIELLA PNEUMONIAE С МНОЖЕСТВЕННОЙ
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Бактериофаг	Номер доступа бактериофага (GenBank)	Источник выделения бактериофага	Место выделения бактериофага
<i>Klebsiella</i> phage 6 LV-2017	KY271400	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST307	Италия, Рим
<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST101-KPC2	Испания, Ла-Корунья
<i>Salmonella</i> phage FSL SP-062	KC139634	Молочная ферма	Нью-Йорк, США
<i>Klebsiella</i> phage ST512-KPC3phi13.1	MK448235	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST512-KPC3	Испания, Ла-Корунья
<i>Klebsiella</i> phage ST11-VIM1phi8.1	MK448233	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST11-VIM1	Испания, Ла-Корунья
<i>Klebsiella</i> phage ST101-KPC2phi6.1	MK448231	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST101-KPC2	Испания, Ла-Корунья
<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271395	<i>Klebsiella pneumoniae</i> KH43 – клон <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST307	Италия, Рим
<i>Klebsiella</i> phage 2b LV-2017	KY271396	<i>Klebsiella pneumoniae</i> H151440672 – клон <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST307	Италия, Рим

TABLE 5

LIST OF IDENTIFIED BACTERIOPHAGES
IN THE FIRST GROUP OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
STRAINS WITH MULTIPLE ANTIBIOTIC RESISTANCE

pneumoniae и об их функциональных особенностях. Выявленное разнообразие спейсерных последовательностей свидетельствует об эволюционной истории и адаптационных возможностях данных штаммов. При этом обнаружение схожих спейсеров в CRISPR-кассетах различных штаммов может указывать на филогенетические связи между штаммами. Изучение структуры взаимодействия фагов и бактерий, основанное на спейсерных и протоспейсерных последовательностях, позволяет определить резистентность и чувствительность штаммов к специфицированным бактериофагам. Таким образом, была определена предполагаемая устойчивость антибиотикорезистентных штаммов к конкретным фагам. Применение механизмов изучения CRISPR/Cas-систем в геномах бактерий с помощью биоинформационного анализа в перспективе даст возможность получать более полные сведения о свойствах возбудителя, об их эволюции и выполнять подбор высокоспецифичных бактериофагов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-25-00449 (<https://rscf.ru/project/22-25-00449>).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. World Health Organization. *Global action plan on antimicrobial resistance*. Geneva: WHO; 2015.
2. Webale MK, Wanjala C, Guyah B, Shaviya N, Munyekenye GO, Nyanga PL, et al. Epidemiological patterns and antimicrobial

resistance of bacterial diarrhea among children in Nairobi City, Kenya. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2020; 13(3): 238-246.

3. Yangzom T, Tsering DC, Kar S, Kapil J. Antimicrobial susceptibility trends among pathogens isolated from blood: A 6-year retrospective study from a tertiary care hospital in East Sikkim, India. *J Lab Physicians*. 2020; 12(01): 3-9. doi: 10.1055/s-0040-1712814

4. Zalewska A, Wilson J, Kennedy S, Lockhart M, MacLeod M, Malcolm W. Epidemiological analysis of antimicrobial resistance in *Staphylococcus epidermidis* in Scotland, 2014–2018. *Microbial Drug Resistance*. 2021; 27(4): 485-491. doi: 10.1089/mdr.2019.0502

5. Mouiche MMM, Moffo F, Akoachere J-FTK, Okah-Nnane NH, Mapiefou NP, Ndze VN, et al. Antimicrobial resistance from a one health perspective in Cameroon: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2019; 19(1): 1135. doi: 10.1186/s12889-019-7450-5

6. Melese A, Genet C, Andualem T. Prevalence of Vancomycin resistant enterococci (VRE) in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2020; 20(1): 124. doi: 10.1186/s12879-020-4833-2

7. Cassini A, Plachouras D, Monnet D. Attributable deaths caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in France – Authors' reply. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19(2): 129-130. doi: 10.1016/s1473-3099(19)30004-0

8. Phodha T, Riewpaiboon A, Malathum K, Coyte P. Annual relative increased in inpatient mortality from antimicrobial resistant nosocomial infections in Thailand. *Epidemiol Infect*. 2019; 147: 133. doi: 10.1017/s0950268818003436

9. Pessoa e Costa T, Duarte B, João AL, Coelho M, Formiga A, Pinto M, et al. Multidrug-resistant bacteria in diabetic foot infections: Experience from a Portuguese tertiary centre. *Int Wound J*. 2020; 17: 1835-1839. doi: 10.1111/iwj.13473

10. World Health Organization. *Report on surveillance of antibiotic consumption: 2016–2018 early implementation*. Geneva: WHO; 2018.

11. Shrestha P, Cooper B, Coast J, Oppong R, Do Thi Thuy N, Phodha T, et al. Enumerating the economic cost of antimicrobial resistance per antibiotic consumed to inform the evaluation of in-

interventions affecting their use. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018; 7(1): 98. doi: 10.1186/s13756-018-0384-3

12. Brauberg CA, Palacios M, Miller VL. Klebsiella: A long way to go towards understanding this enigmatic jetsetter. *F1000Prime Reports*. 2014; 6: 64. doi: 10.12703/P6-64

13. Хаертынов Х.С., Анохин В.А., Николаева И.В., Семенова Д.Р., Любин С.А., и др. Клебсиеллезный неонатальный сепсис. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2016; 11(1): 82-86. [Khaertynov KhS, Anokhin VA, Nikolaeva IV, Semenova DR, Lyubin SA, et al. Klebsiella neonatal sepsis. *Medical Bulletin of the North Caucasus*. 2016; 11(1): 82-86. (In Russ.)]. doi: 10.21508/1027-4065-2019-64-5-176-182

14. Wyres KL, Holt KE. Klebsiella pneumonia population genomics and antimicrobial-resistant clones. *Trends Microbiol*. 2016; 24: 944-956. doi: 10.1016/j.tim.2016.09.007

15. Makabenta J, Nabawy A, Li C, Schmidt-Malan S, Patel R, Rotello V. Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections. *Nature Reviews Microbiology*. 2021; 19: 23-26. doi: 10.1038/s41579-020-0420-1

16. Mojica FJM, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J Mol Evol*. 2005; 60: 174-182. doi: 10.1007/s00239-004-0046-3

17. Nuñez JK, Kranzusch PJ, Noeske J, Wright AV, Davies CW, Doudna JA. Cas1-Cas2 complex formation mediates spacer acquisition during CRISPR-Cas adaptive immunity. *Nat Struct Mol Biol*. 2014; 21: 528-534. doi: 10.1038/nsmb.2820

18. Nuñez JK, Harrington LB, Kranzusch PJ, Engelman AN, Doudna JA. Foreign DNA capture during CRISPR-Cas adap-

tive immunity. *Nature*. 2015; 527: 535-538. doi: 10.1038/nature15760

19. Jackson SA, McKenzie RE, Fagerlund RD, Kieper SN, Fineran PC, Brouns SJJ. CRISPR-Cas: Adapting to change. *Science*. 2017; 356: eaal5056. doi: 10.1126/science.aal5056

20. Mojica FJM, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Almendros C. Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system. *Microbiology*. 2009; 155: 733-740. doi: 10.1099/mic.0.023960-0

21. Степаненко Л.А., Джиоев Ю.П., Злобин В.И., Борисенко А.Ю., Саловарова В.П., Арефьева Н.А., и др. Разработка подходов скрининга высокоспецифичных бактериофагов на основе биоинформационного анализа структур CRISPR-Cas систем *Corynebacterium diphtheriae*. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2021; 11(2): 216-227. [Stepanenko LA, Dzhioev YuP, Zlobin VI, Borisenko AY, Salovarova VP, Arefieva NA, et al. Development of screening approaches of highly specific bacteriophages based on bioinformatic analysis of CRISPR-Cas structures of *Corynebacterium diphtheriae* systems. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021; 11(2): 216-227. (In Russ.)]. doi: 10.21285/2227-2925-2021-11-2-216-227

22. CRISPRCasFinder. URL: <https://crisprcas.i2bc.paris-saclay.fr/CrisprCasFinder/Index> [date of access: 22.08.2023].

23. CRISPRone. URL: <https://omics.informatics.indiana.edu/CRISPRone/> [date of access: 22.08.2023].

24. Villa L, Feudi C, Fortini D, Brisse S, Passet V, Bonura C, et al. Diversity, virulence, and antimicrobial resistance of the KPC producing *Klebsiella pneumoniae* ST307 clone. *Microbial Genomics*. 2017; 3. doi: 10.1099/mgen.0.000110

Сведения об авторах

Степаненко Лилия Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии, Научно-исследовательский институт биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: steplia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Сухов Борис Геннадьевич – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории наночастиц, ФГБУН Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, e-mail: boris_sukhov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9751-6454>

Конькова Татьяна Владимировна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории наночастиц, ФГБУН Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, e-mail: konbuivol_2@yahoo.com, <https://orcid.org/0009-0002-0706-8692>

Бединская Виктория Владимировна – аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: vika-2801@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-9536-4795>

Клушина Надежда Владимировна – аспирант, ведущий инженер лаборатории наночастиц, ФГБУН Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, e-mail: klusinanadezda677@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-7776-2931>

Злобин Владимир Игоревич – доктор медицинских наук, академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: vizlobin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

Information about the authors

Lilia A. Stepanenko – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University, e-mail: steplia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Boris G. Sukhov – Cand. Sc. (Chem.), Leading Research Officer at the Laboratory of Nanoparticles, Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: boris_sukhov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9751-6454>

Tatyana V. Kon'kova – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Nanoparticles, Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: konbuivol_2@yahoo.com, <https://orcid.org/0009-0002-0706-8692>

Victoria V. Bedinskaya – Postgraduate at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University, e-mail: vika-2801@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-9536-4795>

Nadezhda V. Klushina – Postgraduate, Leading Engineer at the Laboratory of Nanoparticles, Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: klusinanadezda677@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-7776-2931>

Vladimir I. Zlobin – Dr. Sc. (Med.), Member of the RAS, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University, e-mail: vizlobin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

КОРОНАВИРУСЫ, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ СРЕДИ ГРЫЗУНОВ И НАСЕКОМОЯДНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ АЛТАЙ

Яшина Л.Н.¹,
Абрамов С.А.²,
Сметанникова Н.А.¹,
Малышев Б.С.¹,
Кривопапов А.В.²,
Дупал Т.А.²

¹ ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (630559, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия)

² ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН (630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 11, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Яшина Людмила Николаевна,
e-mail: yashina@vector.nsc.ru

РЕЗЮМЕ

Коронавирусы (семейство *Coronaviridae*, роды *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*) относятся к числу опасных вирусных патогенов, вызвавших три вспышки тяжёлых респираторных заболеваний SARS, MERS, COVID-19. В России данные о коронавирусах, циркулирующих в природных резервуарах, ограничены, так как исследования начались только во время пандемии COVID-19.

Цель работы. Исследование многообразия коронавирусов среди грызунов и насекомоядных в Республике Алтай.

Материалы и методы. Грызуны (67 особей) и насекомоядные (52 особи) были отловлены в 2022 г. Образцы проанализированы методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции и последующим секвенированием.

Результаты и обсуждение. Положительными на коронавирусы оказались 4 образца от грызунов (*Myodes rutilus*, *M. glareolus*, *Apodemus peninsulae*, *A. agrarius*) и 2 образца от насекомоядного (*Crocodyra sibirica*), в которых обнаружены 3 различных коронавируса. Ассоциированные с грызунами коронавирусы отнесены к роду *Betacoronavirus*, подроду *Embecovirus* и демонстрировали филогенетическое группирование в соответствии с видом природного носителя. Нуклеотидные последовательности сибирских изолятов коронавирусов от грызунов были идентичными для носителей близкородственных видов (*M. rutilus* и *M. glareolus*, *A. agrarius* и *A. peninsulae*) и близки (> 94 % гомологии) к ранее опубликованным последовательностям в каждой из групп носителей, обнаруженных на территории Новосибирской области, Европы и Китая. К роду *Betacoronavirus* отнесён и коронавирус, выявленный от насекомоядного, возможно, относящийся к новому подроду семейства *Coronaviridae*.

Заключение. Обнаружены 5 видов природных носителей 3 различных коронавирусов на территории Республики Алтай. Выявлен высокий уровень идентичности геномов коронавирусов от грызунов, свидетельствующий об относительно низкой скорости их эволюции.

Ключевые слова: коронавирус, таксономия, грызуны, насекомоядные, Сибирь

Статья поступила: 11.09.2023

Статья принята: 29.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Яшина Л.Н., Абрамов С.А., Сметанникова Н.А., Малышев Б.С., Кривопапов А.В., Дупал Т.А. Коронавирусы, циркулирующие среди грызунов и насекомоядных в Республике Алтай. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 117-123. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.10

CORONAVIRUSES IN RODENTS AND INSECTIVORES IN ALTAI REPUBLIC

Yashina L.N.¹,
Abramov S.A.²,
Smetannikova N.A.¹,
Malyshev B.S.¹,
Krivopalov A.V.²,
Dupal T.A.²

¹ State Research Center of Virology
and Biotechnology "Vector"
(Koltsovo 630559, Novosibirsk Region,
Russian Federation)

² Institute of Systematics and Ecology
of Animals, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Frunze str. 11, Novosibirsk 630091,
Russian Federation)

Corresponding author:
Liudmila N. Yashina,
e-mail: yashina@vector.nsc.ru

ABSTRACT

Coronaviruses (family Coronaviridae, genera Alphacoronavirus, Betacoronavirus) are dangerous viral pathogens that have caused three outbreaks of severe respiratory diseases, SARS, MERS, COVID-19. In Russia, data on coronaviruses in natural reservoirs are limited, as investigations began only during the COVID-19 pandemic. **The aim.** To study the diversity of coronaviruses among rodents and insectivores in the Republic of Altai.

Materials and methods. Rodents ($n = 67$) and shrews ($n = 52$) were captured in 2022. Samples were analyzed by reverse transcription-polymerase chain reaction followed by sequencing.

Results and conclusions. Four samples from rodents (*Myodes rutilus*, *M. glareolus*, *Apodemus peninsulae*, *A. agrarius*) and two samples from an insectivore (*Crocidura sibirica*) were positive for coronaviruses, among which three different coronaviruses were detected. Rodent-borne coronaviruses are classified in the genus *Betacoronavirus*, subgenera *Embecovirus*, and have shown host associated clustering. The nucleotide sequences of Siberian coronaviruses from rodents were identical for closely related species (*M. rutilus* and *M. glareolus*, *A. agrarius* and *A. peninsulae*) and close ($> 94\%$ homology) to previously published sequences in each of the groups of carriers found in the territory Novosibirsk region, Europe and China. The coronavirus identified from the insectivore, possibly belonging to a new subgenera of the family Coronaviridae, has also been assigned to the genus *Betacoronavirus*.

Conclusion. Five species of natural carriers of three different coronaviruses were detected in the Altai Republic. A high level of identity of coronaviruses genomes from rodents has been revealed, indicating a relatively low rate of their evolution.

Key words: coronavirus, taxonomy, rodents, shrews, Siberia

Received: 11.09.2023
Accepted: 29.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Yashina L.N., Abramov S.A., Smetannikova N.A., Malyshev B.S., Krivopalov A.V., Dupal T.A. Coronaviruses in rodents and insectivores in Altai Republic. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 117-123. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.10

ВВЕДЕНИЕ

Коронавирусы (семейство *Coronaviridae*, роды *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*) относятся к числу опасных вирусных патогенов, вызвавших за последние два десятилетия три вспышки тяжёлых респираторных заболеваний SARS, MERS, COVID-19 [1–3]. После вспышки атипичной пневмонии SARS в 2002–2003 гг. эпидемиологические и этиологические исследования подтвердили, что SARS-CoV попала в организм человека через циветт [4]. Последующие полевые и экспериментальные исследования показали, что циветта была лишь промежуточным хозяином SARS-CoV, а летучие мыши – его естественным хозяином [5]. MERS-CoV, впервые появившийся на Ближнем Востоке в 2012 г., также происходит от летучих мышей и заражает людей через верблюдов [6]. После того, как COVID-19 был впервые обнаружен в Ухане, на основе исследования геномов не только сразу был идентифицирован его этиологический агент, новый коронавирус, позже названный SARS-CoV-2, но также была обнаружена высокая гомология вируса с известным коронавирусом от летучих мышей, выявленным в 2018 г. [3, 7, 8]. Кроме того, недавние исследования показали, что коронавирусы человека, такие как OC43, 229E, HKU1 и NL63, также происходят от летучих мышей или грызунов [9, 10].

Коронавирусы отличаются высоким генетическим разнообразием у диких мелких млекопитающих. За долгую эволюционную историю вирусы не только совместно эволюционировали со своими хозяевами, но также часто преодолевали межвидовой барьер и распространялись между видами и эволюционировали, чтобы адаптироваться к новым хозяевам [11]. В последние годы у грызунов постоянно выявляли весьма разнообразные коронавирусы, некоторые из которых циркулируют одновременно у нескольких видов грызунов или даже нескольких подсемейств [12–15]. Недавние исследования показали, что коронавирусы OC43 и HKU1, вызывающие респираторные заболевания человека, также могут быть получены от грызунов [9, 16]. Помимо грызунов, мелкие млекопитающие, такие как землеройки, которые также отличаются высоким генетическим разнообразием, также могут быть переносчиками различных коронавирусов. Недавно были обнаружены коронавирусы землероек, имеющие важное эволюционное значение [17].

Проблема исследования коронавирусов актуальна для России, поскольку эпидемиологических исследований по выявлению коронавирусов в природных резервуарах до начала пандемии не проводилось. Лишь в 2020 г. были открыты SARS-подобные коронавирусы (Khosta-1 и Khosta-2) в двух видах летучих мышей рода подковоносов в Краснодарском крае Российской Федерации и изучены их полноразмерные геномы [18]. Дальнейшие исследования показали, что рецептор-связывающий домен одного из новых коронавирусов способен использовать человеческий рецептор ACE2 и представляет потенциальную опасность для человека [19]. Ещё один коронавирус выявлен среди гладконосых летучих мышей в центральной части европейской территории России [20].

В эволюционной истории этого нового MERS-подобного коронавируса предполагается рекомбинация предковых геномов коронавирусов летучих мышей и ежей. Исследования коронавирусов среди грызунов и насекомых впервые проведены на территории Сибири (Новосибирская область) [21]. Циркуляция коронавирусов обнаружена в трёх видах грызунов и одном виде насекомых. Ассоциированные с грызунами коронавирусы относились к роду *Betacoronavirus*, демонстрировали филогенетическое группирование в соответствии с видом природного носителя и сходство с соответствующими коронавирусами из Китая и европейских стран. Среди насекомых был выявлен новый вид коронавируса, который относился к роду *Alphacoronavirus*.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование многообразия коронавирусов среди грызунов и насекомых на территории Республики Алтай.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мелких млекопитающих отлавливали на северном побережье Телецкого озера Республики Алтай (51° 47' с. ш., 87° 18' в. д.). Отлов животных осуществляли в соответствии с протоколом и рекомендациями по безопасной работе согласно методическим указаниям МУ 3.1.1029-01. утверждённым 6.04.2001; для забора смывов из ротоглотки использовали ватные зонд тампоны; кусочки прямой кишки помещали в раствор с RNA Later (QIAGEN, Германия).

Выделение РНК проводили набором «РИБО-преп» (ЦНИИ эпидемиологии, Россия) из смывов или кусочков прямой кишки. В пробирки со смывами перед выделением добавляли 0,2 мл стерильного 0,9%-го раствора NaCl. Скрининг образцов проводили методом двухраундовой обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с использованием RevertAid Premium РНК-полимеразы (Thermo Fisher Scientific, США), Hot Start Taq ДНК-полимеразы (Сибэнзим, Россия) по протоколу и с праймерами на консервативную область гена РНК-зависимой РНК-полимеразы (*RdRp*) коронавируса (фрагмент 397 н. о.), описанными ранее [12]. Определение нуклеотидных последовательностей каждой из цепей ампликонов проводили на автоматическом анализаторе ABI Prism 310, используя набор BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США). Таксономическая идентификация коронавирусов и их природных носителей была основана на определении и сравнении с базой данных GenBank нуклеотидных последовательностей фрагментов вирусных геномов и гена цитохрома b митохондриальной ДНК носителей.

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма MUSCLE в программе MEGA X (Mega Software, США). Для построения филогенетического дерева использовали метод максималь-

ного правдоподобия (ML, maximum likelihood) с моделью эволюции GRT + G + I. Вычисления проводили для 500 повторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В сентябре 2022 г. на территории лесного участка, расположенного в окрестностях посёлка Артыбаш Республики Алтай, были отловлены 119 особей 10 видов мелких млекопитающих (табл. 1). Все отловленные животные были протестированы на наличие РНК коронавируса.

Положительными на коронавирусы оказались 3,8 % (2/52) насекомоядных и 5,9 % (4/67) грызунов (табл. 1). Вирусная РНК выявлена у 2 из 11 сибирских белозубок (*Crocidura sibirica*), 1 из 5 рыжих полёвок (*Myodes glareolus*), 1 из 15 красных полёвок (*Myodes rutilus*), 1 из 20 полевых мышей (*Apodemus agrarius*) и 1 из 15 восточно-азиатских лесных мышей (*Apodemus peninsulae*).

По результатам филогенетического анализа коронавирусы, переносимые грызунами (*M. rutilus*, *M. glareolus*, *A. peninsulae* и *A. agrarius*), отнесены к подроду *Embecovirus* рода *Betacoronavirus*. Вирус, обнаруженный у представителя отряда насекомоядных, *C. sibirica*, был включён в состав рода *Betacoronavirus* и, возможно, является представителем нового подрода, так как значительно отличается от других известных коронавирусов (рис. 1).

Новые РНК-изоляты коронавирусов, выявленные у грызунов, по нуклеотидным последовательностям фрагмента гена *RdRp* имеют уровень гомологии 86,7 % между изолятами от животных родов *Myodes* и *Apodemus*, идентичны для близкородственных видов *M. rutilus*/*M. glareolus* и *A. peninsulae*/*A. agrarius* и демонстрируют близкое сходство с ранее опубликованны-

ми последовательностями коронавирусов, обнаруженных в каждой из групп носителей. В частности для новых изолятов коронавируса от *M. glareolus*/*M. rutilus* (RtCoV/Mg-724/RUS/2022 и RtCoV/Mrut-816/RUS/2022) обнаружен уровень сходства 95,8 % и 93,8–94,9 % с РНК-изолятом RtCoV/Mrut-288/RUS/2021, идентифицированным от *M. rutilus* в Новосибирской области и в Германии (D_RMU10_1974/Myo_gla/GER и D_RMU10_1919/Myo_gla/GER) соответственно. Для сибирских изолятов коронавируса из Республики Алтай от *A. agrarius*/*A. peninsulae* (RtCoV/Ag-709/RUS/2022 и RtCoV/Aa-818/RUS/2022) выявлен высокий уровень гомологии (97,2 % и 98,3–98,6 % соответственно) как с изолятом RtCoV/Aa-528/RUS/2021 от *A. agrarius* из близко расположенной Новосибирской области, так и с географически удалёнными штаммами из Китая (RtAa/SX2014) и Германии (KS11_0997/Apo_agr/GER/2011) соответственно.

Коронавирус, обнаруженный у двух особей сибирской белозубки (ShrewCov/Cs-711/RUS/2022 и ShrewCov/Cs-764/RUS/2022), по нуклеотидной последовательности отличается более чем на 28,0 % от других представителей родов *Alfacoronavirus* и *Betacoronavirus*. Причём наибольший уровень различия (45,0 %) обнаружен с коронавирусом от другого вида насекомоядных – обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) (ShrewCoV/Sa-314/RUS/2021), – циркулирующего в близко расположенной Новосибирской области. В отличие от коронавирусов, ассоциированных с грызунами, у коронавирусов от насекомоядных выявлена более высокая вариабельность геномов. Так, уровень различий последовательностей, полученных от двух Сибирских белозубок, отловленных в одном сайте, составил 2,0 %. Учитывая высокий уровень различия в консервативном гене *RdRp* с представителями других родов и видов, можно предполагать, что РНК-изолят от *C. sibirica* является представителем нового подрода рода *Betacoronavirus*. Для это-

ТАБЛИЦА 1
ВИДОВОЙ СОСТАВ НАСЕКОМОЯДНЫХ И ГРЫЗУНОВ,
ИССЛЕДОВАННЫХ НА НАЛИЧИЕ РНК КОРОНАВИРУСОВ

Носители	Вид	Коронавирус РНК+/исследованы
Насекомоядные	Обыкновенная бурозубка (<i>Sorex araneus</i>)	0/39
	Равнозубая бурозубка (<i>Sorex isodon</i>)	0/1
	Средняя бурозубка (<i>Sorex caecutiens</i>)	0/1
	Сибирская белозубка (<i>Crocidura sibirica</i>)	2/11
	Восточноазиатская мышь (<i>Apodemus peninsulae</i>)	1/15
Грызуны	Полевая мышь (<i>Apodemus agrarius</i>)	1/20
	Полёвка-экономка (<i>Alexandromys oeconomus</i>)	0/3
	Красно-серая полёвка (<i>Myodes rufocanus</i>)	0/9
	Красная полёвка (<i>Myodes rutilus</i>)	1/15
	Рыжая полёвка (<i>Myodes glareolus</i>)	1/5

TABLE 1
PREVALENCE OF CORONAVIRUS INFECTION
AS DETERMINED BY RT-PCR IN SHREWS AND RODENTS
BY SPECIES

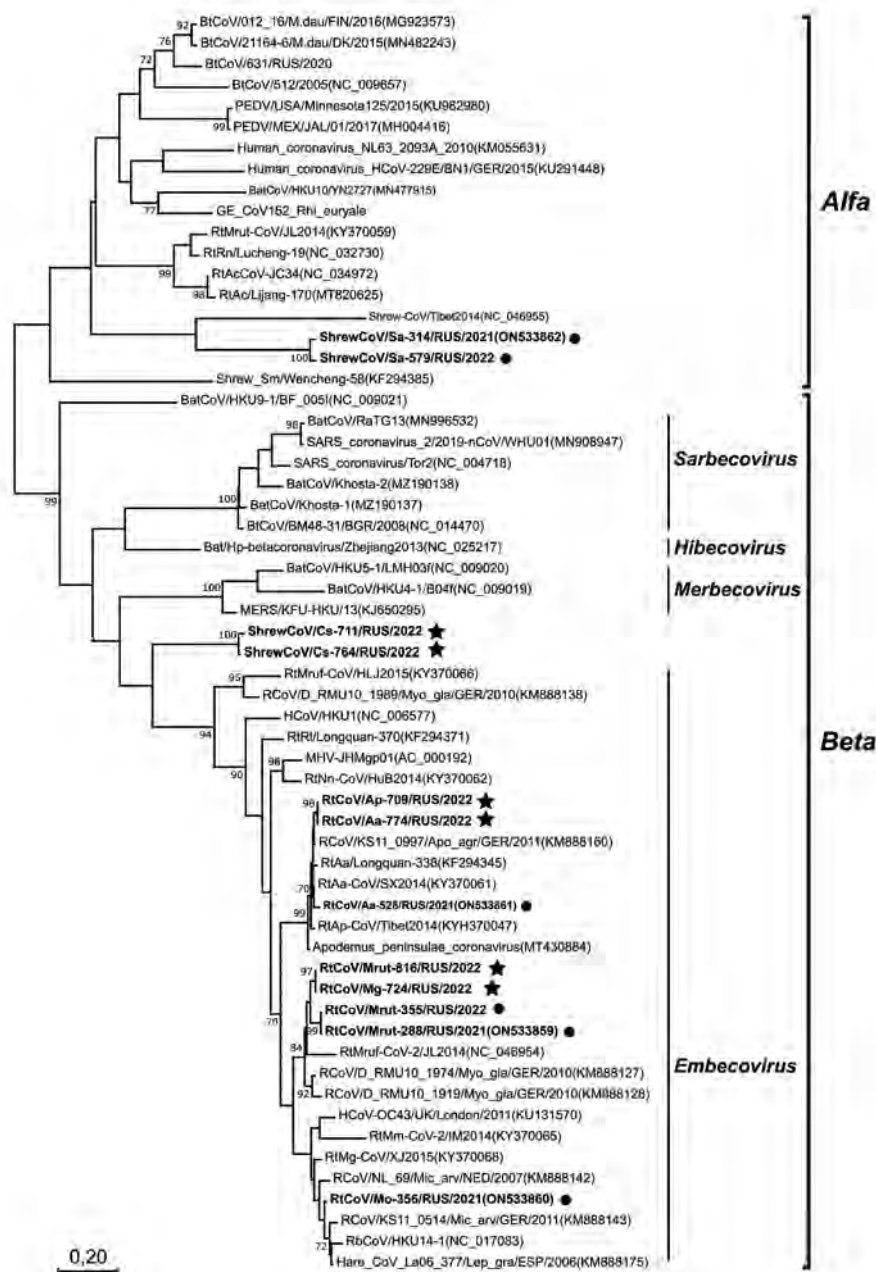


РИС. 1.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена RdRp коронавирусов, соответствующих позициям 15429–15825 изолята HKU-1 (Genbank NC_006577). Новые коронавирусы, полученные от *Myodes glareolus* (RtCoV/Mg-724/RUS/2022), *Myodes rutilus* (RtCoV/Mrut-816/RUS/2022), *Apodemus peninsulae* (RtCoV/Ap-709/RUS/2022), *Apodemus agrarius* (RtCoV/Aa-818/RUS/2022) и *Crocicidura sibirica* (ShrewCoV/Cs-711/RUS/2022, ShrewCoV/Cs-764/RUS/2022), сопоставлены с известными CoV, относящимися к родам *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*. Дерево построено с применением метода максимального правдоподобия и моделью эволюции GRT + G + I. Индексы поддержки рассчитаны для 500 повторов, индексы поддержки (> 70 %) отображены в соответствующих узлах. Масштабная линейка указывает количество нуклеотидных замен на сайт. Новые изоляты выделены жирным шрифтом и звёздочкой, изоляты из Новосибирской области выделены жирным шрифтом и кружком

FIG. 1.

Maximum likelihood phylogenetic analysis of coronavirus partial RdRp gene sequences, corresponding to positions 15429–15825 on the HKU-1 isolate (Genbank Accession number NC_006577). Novel coronavirus sequences obtained from *Myodes glareolus* (RtCoV/Mg-724/RUS/2022), *Myodes rutilus* (RtCoV/Mrut-816/RUS/2022), *Apodemus peninsulae* (RtCoV/Ap-709/RUS/2022), *Apodemus agrarius* (RtCoV/Aa-818/RUS/2022), *Crocicidura sibirica* (ShrewCoV/Cs-711/RUS/2022, ShrewCoV/Cs-764/RUS/2022) were analyzed alongside CoV sequences representing the two genera – *Alphacoronavirus* and *Betacoronavirus*. The tree was generated utilizing a GRT + G + I model with 500 bootstrap replicates using the MEGAXI. Bootstrap values (> 70 %) are shown at relevant nodes. The scale bar depicts the number of nucleotide substitutions per site. Detected coronaviruses are given in bold and labeled by asterisk, coronaviruses from Novosibirsk region are given in bold font and labeled by circle

го необходимо провести секвенирование полноразмерного генома и провести его анализ, согласно критериям международного комитета по таксономии вирусов [22].

Нами исследовано разнообразие коронавирусов, циркулирующих среди грызунов и насекомоядных в природном очаге, расположенном на территории Республики Алтай. Как и ранее [21], для одной и той же локации показана совместная циркуляция нескольких видов коронавирусов. Все исследованные животные были отловлены в окрестностях Телецкого научного стационара Института систематики и экологии животных СО РАН на участке леса не более 0,2 км². На ограниченной территории была показана совместная циркуляция двух коронавирусов, переносимых грызунами, и одного коронавируса, переносимого насекомоядным хозяином – сибирской белозубкой.

Ранее было показано, что коронавирусы, ассоциированные с природными носителями, относящимися к родам *Myodes* и *Apodemus*, подразделяются на два рода: *Alfacoronavirus* и *Betacoronavirus* [15]. Новые сибирские изоляты от грызунов, отнесённые к подроду *Embecovirus* рода *Betacoronavirus*, характеризуются высокой (93,8–95,8 % и 97,2–98,3 %) гомологией с ранее известными изолятами в каждой группе, выявленными на обширной территории, включающей Европу (Германия), Сибирь (Новосибирская область) и Китай, причём последовательности из одного места отлова в Республике Алтай были идентичными. Полученные данные свидетельствуют об относительно высокой стабильности геномов коронавирусов по сравнению с другими РНК-содержащими вирусами, ассоциированными с грызунами. Так, различие последовательностей гена *RdRp* у хантавирусов (семейство *Hantaviridae*, род *Orthohantavirus*), обнаруженных в тех же видах носителей из географически удалённых регионов Сибири и Европы, составляло более 20 % [23]. Более высокий уровень различий частичных нуклеотидных последовательностей гена *RdRp* выявлен среди коронавирусов от насекомоядных. Уровень различия последовательностей от двух особей сибирских белозубок составил 2,0 %, что сопоставимо с уровнем различия РНК изолятов хантавируса Сивис из той же локации [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружено 3 различных коронавируса среди 4 видов грызунов и одного вида насекомоядных, совместно обитающих в природном биотопе на территории Республики Алтай. Коронавирусы от грызунов (*M. glareolus*/*M. rutilus* и *A. agrarius*/*A. peninsulae*) отнесены к роду *Betacoronavirus* подрод *Embecovirus*, коронавирус от насекомоядного (*C. sibirica*) отнесён к роду *Betacoronavirus* и, как предполагается, относится к новому подроду. Обнаружена высокая стабильность геномов коронавирусов, ассоциированных с грызунами.

Финансирование

Результаты исследования были получены при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-24-00377.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt HR, Becker S, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *NEngl J Med*. 2003; 348(20): 1967-1976. doi: 10.1056/NEJMoa030747
2. Bermingham A, Chand MA, Brown CS, Aarons E, Tong C, Langrish C, et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill*. 2012; 17(40): 20290.
3. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; 579: 265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
4. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*. 2003; 302(5643): 276-278. doi: 10.1126/science.1087139
5. Lau SK, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi HW, Wong BH, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(39): 14040-14045. doi: 10.1073/pnas.0506735102
6. Mohd HA, Al-Tawfiq JA, Memish ZA. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. *Virol J*. 2016; 13: 87. doi: 10.1186/s12985-016-0544-0
7. Hu B, Zeng LP, Yang XL, Ge XY, Zhang W, Li B, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog*. 2017; 13(11): e1006698. doi: 10.1371/journal.ppat.1006698
8. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579(7798): 270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
9. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17(3): 181-192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9
10. Singh J, Pandit P, McArthur AG, Banerjee A, Mossman K. Evolutionary trajectory of SARS-CoV-2 and emerging variants. *Virol J*. 2021; 18(1): 166. doi: 10.1186/s12985-021-01633-w
11. Shi M, Lin XD, Chen X, Tian JH, Chen LJ, Li K, et al. The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature*. 2018; 556(7700): 197-202. doi: 10.1038/s41586-018-0012-7
12. Wang W, Lin XD, Guo WP, Zhou RH, Wang MR, Wang CQ, et al. Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. *Virology*. 2015; 474: 19-27. doi: 10.1016/j.virol.2014.10.017
13. Monchatre-Leroy E, Boué F, Boucher JM, Renault C, Moutou F, Ar Gouilh M, et al. Identification of alpha and beta coronavirus in wildlife species in France: Bats, rodents, rabbits, and hedgehogs. *Viruses*. 2017; 9(12): 364. doi: 10.3390/v9120364
14. Tsoleridis T, Chappell JG, Onianwa O, Marston DA, Fooks AR, Monchatre-Leroy E, et al. Shared common ancestry of rodent Alphacoronaviruses sampled globally. *Viruses*. 2019; 11(2): 125. doi: 10.3390/v11020125

15. Wang W, Lin XD, Zhang HL, Wang MR, Guan XQ, Holmes EC, et al. Extensive genetic diversity and host range of rodent-borne coronaviruses. *Virus Evol.* 2020; 6(2): veaa078. doi: 10.1093/ve/veaa078
16. Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Molecular evolution of human coronavirus genomes. *Trends Microbiol.* 2017; 25(1): 35-48. doi: 10.1016/j.tim.2016.09.001
17. Wang W, Lin XD, Liao Y, Guan XQ, Guo WP, Xing JG, et al. Discovery of a highly divergent coronavirus in the Asian house shrew from China illuminates the origin of the alphacoronaviruses. *J Virol.* 2017. 91: e00764-17. doi: 10.1128/JVI.00764-17
18. Alkhovsky S, Lenshin S, Romashin A, Vishnevskaya T, Vyshemirsky O, Bulycheva Y, et al. SARS-like coronaviruses in horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses.* 2022; 14(1): 113. doi: 10.3390/v14010113
19. Seifert SN, Bai S, Fawcett S, Norton EB, Zvezdaryk KJ, Robinson J, et al. An ACE2-dependent Sarbecovirus in Russian bats is resistant to SARS-CoV-2 vaccines. *PLoS Pathog.* 2022; 18(9): e1010828. doi: 10.1371/journal.ppat.1010828
20. Speranskaya AS, Artiushin IV, Samoilov AE, Korneenko EV, Khabudaev KV, Ilina EN, et al. Identification and genetic characterization of MERS-related coronavirus isolated from *Nathusius' pipistrelle* (*Pipistrellus nathusii*) near Zvenigorod (Moscow Region, Russia). *Int J Environ Res Public Health.* 2023; 20(4): 3702. doi: 10.3390/ijerph20043702
21. Яшина Л.Н., Сметанникова Н.А., Панов В.В. Совместная циркуляция коронавирусов среди грызунов и насекомоядных. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 2: 167-172. [Yashina LN, Smetannikova NA, Panov VV. Co-circulation of coronaviruses among rodents and insectivores. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2023; (2): 167-172. (In Russ.).] doi: 10.21055/0370-1069-2023-2-167-172
22. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Taxonomy 2017.* URL: <http://talk.ictvonline.org/taxonomy> [date of access: 10.06.2023].
23. Yashina LN, Abramov SA, Dupal TA, Danchinova GA, Malyshev BS, Hay J, et al. Hokkaido genotype of Puumala virus in the grey red-backed vole (*Myodes rufocanus*) and northern red-backed vole (*Myodes rutilus*) in Siberia. *Infect Genet Evol.* 2015; 33: 304-313. doi: 10.1016/j.meegid.2015.05.021
24. Yashina LN, Abramov SA, Gutorov VV, Dupal TA, Krivopalov AV, Panov VV, et al. Seewis virus: Phylogeography of a shrew-borne hantavirus in Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6): 585-591. doi: 10.1089/vbz.2009.0154

Сведения об авторах

Яшина Людмила Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела геномных исследований, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: yashina@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2844-7835>

Абрамов Сергей Александрович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии сообществ позвоночных животных, ФГБУН «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, e-mail: gterio@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7921-6696>

Сметанникова Наталья Анатольевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: smetannikova@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5082-8071>

Малышев Борис Сотиволдиевич – научный сотрудник отдела геномных исследований, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: malyshev@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3004-3020>

Кривопалов Антон Викторович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитологии, ФГБУН «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, e-mail: krivopalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4824-6061>

Дупал Тамара Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии сообществ позвоночных животных, ФГБУН «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, e-mail: gf@eco.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4487-1815>

Information about the authors

Liudmila N. Yashina – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Department of Genomic Research, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", e-mail: yashina@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2844-7835>

Sergey A. Abramov – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecology of Vertebrate Communities, Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: gterio@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7921-6696>

Natalia A. Smetannikova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of Genomic Research, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", e-mail: smetannikova@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5082-8071>

Boris S. Malyshev – Research Officer at the Department of Genomic Research, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", e-mail: malyshev@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3004-3020>

Anton V. Krivopalov – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Parasitology, Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: krivopalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4824-6061>

Tamara A. Dupal – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecology of Vertebrate Communities, Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: gf@eco.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4487-1815>

ОНЛАЙН-СЕРВИС ДЛЯ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ПРОГНОЗИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К БЕДАКВИЛИНУ ПО МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМ ДАННЫМ

Синьков В.В.¹,
Кондратов И.Г.¹,
Огарков О.Б.¹,
Жданова С.Н.¹,
Носков А.П.²,
Хромова П.А.¹,
Орлова Е.А.¹,
Лабыгина А.В.¹,
Рычкова Л.В.¹,
Колесникова Л.И.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ОГБУЗ «Иркутская областная
клиническая туберкулёзная больница»
(664039, г. Иркутск, ул. Терешковой, 39,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Огарков Олег Борисович,
e-mail: obogarkov@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Бедаквилин – новый и многообещающий противотуберкулёзный препарат, однако при длительном лечении к нему развивается устойчивость. Это связано преимущественно с мутациями в генах *atpE* и *mpmR* у *M. tuberculosis* (МБТ).

Цель работы. Апробация системы автоматизированной интерпретации результатов при прогнозировании устойчивости к бедаквилину на основе молекулярно-биологических данных.

Материалы и методы. ДНК выделяли из штаммов *M. tuberculosis*, циркулировавших в Иркутской области и Республике Саха (Якутия). Общее количество исследованных ДНК составило 27 штаммов из Якутии и 21 штамм из Иркутской области. Исследование геномов МБТ было проведено на ДНК штаммов, полученных авторами ранее на территориях Иркутской области ($n = 5$), Республики Саха (Якутия) ($n = 4$), Республики Бурятия ($n = 3$), Забайкальского края ($n = 4$) и Дальнего Востока ($n = 8$). Для выявления устойчивости к бедаквилину на основе нуклеотидной последовательностей генов и геномных данных мы использовали программу BSATool. При использовании секвенирования по Сэнгеру анализировались гены *atpE* и *mpmR*, при полногеномном секвенировании исследовались мутации в этих же последовательностях, а также дополнительно в *mpmL5*, *mpmS5*, *Rv0678*, *Rv1979c* и *perQ*.

Результаты. Обнаружено полное соответствие фенотипических и генотипических результатов оценки устойчивости к бедаквилину для трёх штаммов из Якутии. Кроме того, при анализе геномных данных обнаружен один геном со значимыми мутациями, способными вызвать устойчивость к бедаквилину. Делается вывод об относительно низком распространении мутаций, способных вызвать устойчивость к этому антибиотику, что совпадает с данными других исследователей в России. Сделано заключение о важности молекулярно-биологического анализа генов-мишеней с последующим выявлением устойчивости к бедаквилину *in silico*.

Ключевые слова: бедаквилин, секвенирование, резистентность, гены, *atpE*, *mpmR*, *mpmL5*, *mpmS5*, *Rv0678*, *Rv1979c*, *perQ*

Для цитирования: Синьков В.В., Кондратов И.Г., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Носков А.П., Хромова П.А., Орлова Е.А., Лабыгина А.В., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И. Онлайн-сервис для интерпретации результатов при прогнозировании устойчивости к бедаквилину по молекулярно-биологическим данным. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 124-129. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.11

Статья поступила: 29.08.2023

Статья принята: 27.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

ONLINE SERVICE FOR INTERPRETATION OF THE RESISTANCE PREDICTION RESULTS TO BEDAQUILINE BY THE MOLECULAR DATA

Sinkov V.V.¹,
Kondratov I.G.¹,
Ogarkov O.B.¹,
Zhdanova S.N.¹,
Noskov A.P.²,
Khromova P.A.¹,
Orlova E.A.¹,
Labygina A.V.¹,
Rychkova L.V.¹,
Kolesnikova L.I.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis
Hospital (Tereshkovoy str. 59,
Irkutsk 664039, Russian Federation)

Corresponding author:
Oleg B. Ogarkov,
e-mail: obogarkov@mail.ru

ABSTRACT

Background. Bedaquiline is a new and promising anti-tuberculosis drug, but long-term use requires resistance. This is due to mutations in the *atpE* and *mmpR* genes in *M. tuberculosis* (MBT).

The aim of the research was to test a system for automated interpretation of results for predicting resistance to bedaquiline by the molecular data.

Materials and methods. DNA was isolated from strains of *M. tuberculosis* in the Irkutsk region and Yakutia. The total quantity of DNA samples was 27 strains from Yakutia and 21 strains from the Irkutsk region. The study of MBT genomes was carried out on the DNA previously obtained by the authors in the territories of the Irkutsk region ($n = 5$), Yakutia ($n = 4$), Buryatia ($n = 3$), Zabaykalskiy kray ($n = 4$) and the Far East ($n = 8$). We used the BSATool program to detect bedaquiline resistance based on Sanger and genomic data. Sanger sequencing analyzed the *atpE* and *mmpR* genes, and whole genome sequencing examined mutations in the same sequences, as well as additionally in *mmpL5*, *mmpS5*, *Rv0678*, *Rv1979c*, and *pepQ*.

Results. Complete agreement between the phenotypic and genotypic analysis of resistance to bedaquiline was found for three strains from Yakutia. One genome with significant mutations to bedaquiline was identified. A conclusion was made about the importance of molecular analysis of target genes with subsequent detection of resistance to bedaquiline *in silico*.

Key words: bedaquiline, sequencing, resistance, genes, *atpE*, *mmpR*, *mmpL5*, *mmpS5*, *Rv0678*, *Rv1979c*, *pepQ*

For citation: Sinkov V.V., Kondratov I.G., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., Noskov A.P., Khromova P.A., Orlova E.A., Labygina A.V., Rychkova L.V., Kolesnikova L.I. Online service for interpretation of the resistance prediction results to bedaquiline by the molecular data. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 124-129. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.11

Received: 29.08.2023
Accepted: 27.11.2023
Published: 29.12.2023

Туберкулёз – это инфекционное заболевание, которое вызывается патогенными микобактериями, относящимися к классу Actinobacteria, порядку Actinomycetales, семейству Mycobacteriaceae, образующими группу *Mycobacterium tuberculosis complex* [1]. В 2019 г., по оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), было зарегистрировано 10 млн новых случаев и 1,2 млн смертей [2]. Однако появление и распространение штаммов микобактерий туберкулёза с множественной (МЛУ) и широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивостью до полумиллиона в год [3] требует внедрения новых противотуберкулёзных препаратов в схемы лечения. Бедаквилин – это новый и многообещающий противотуберкулёзный препарат, однако, как и в случае с другими препаратами, возможно развитие устойчивости к нему у *M. tuberculosis* (МБТ) при длительном лечении. В частности, мутации в гене *atpE* предотвращают взаимодействие препарата с его мишенью, АТФ-синтазой, а мутации в репрессоре эффлюксной помпы *mmpR* (*Rv0678*) приводят к ускоренной эвакуации препарата из микробной клетки [4–6]. Несмотря на вовлечённость значительного количества генов в устойчивость к бедаквилину и клофазимину (в том числе перекрёстную), у большинства клинических изолятов определяющими являются мутации в генах *atpE* и *mmpR* (*Rv0678*) [7]. Исходя из этих результатов, для тестирования разработанного пакета программ нами использовалось секвенирование по Сэнгеру именно этих генов.

Ранее мы разработали онлайн-сервис для автоматизированной интерпретации данных секвенирования и прогнозирования устойчивости к пиразинамиду [8]. Сервис доступен по адресу: <https://bsatool.ru>. В рамках текущего исследования мы представляем расширение возможностей пакета программ BSATool для автоматизированной интерпретации результатов при прогнозировании устойчивости к бедаквилину на основе молекулярно-биологических данных, включая секвенирование по Сэнгеру и полногеномное секвенирование.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы были получены из бактериологических лабораторий ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница» (ИОКТБ) и ГБУЗ РС (Я) «Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е.Н. Андреева» (НПЦ «Фтизиатрия»). Фенотипическую чувствительность изолятов МБТ к противотуберкулёзным препаратам (ПТП) определяли методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна – Йенсена (ИОКТБ и НПЦ «Фтизиатрия») и на среде Миддлбука 7Н9 в автоматизированной системе Bactec MGIT 960 (Becton, Dickinson and Company, США), в том числе для определения чувствительности к бедаквилину (НПЦ «Фтизиатрия»). Инактивацию штаммов проводили на месте. Выделение ДНК осуществлялось в соответствии с описанным ранее методом [9].

Общее количество исследованных образцов ДНК составило 27 штаммов из Якутии и 21 штамм из Иркутской области. Исследование геномов МБТ было прове-

дено на штаммах МБТ, полученных авторами ранее на территориях Иркутской области ($n = 5$), Республики Саха (Якутия) ($n = 4$), Республики Бурятия ($n = 3$), Забайкальского края ($n = 4$) и Дальнего Востока ($n = 8$). Таким образом, наши исследования включили в себя набор ДНК-образцов, представляющих различные регионы и территории. Структура праймеров для полимеразной цепной реакции (ПЦР), предназначенных для амплификации генов *atpE* и *mmpR*, была разработана авторами самостоятельно. Для гена *atpE* были использованы следующие праймеры: 1305F 5'-TCGAAGAGGAACACCACTAG и 1305R 5'-GGACAATCGCGCTCACTTC. Для гена *mmpR* (*Rv0678*) применялись праймеры Bdq678F 5'-CACGCTTGAGAGTTCCAATCA и Bdq678R 5'-ACCGCATCAACAAGGAGTG A. Эти олигонуклеотиды были спроектированы с целью амплификации фрагментов ПЦР размером 368 и 679 пар оснований соответственно.

Параметры ПЦР были установлены, согласно предварительно опубликованным протоколам [8]. Секвенирование по методу Сэнгера проводилось с использованием отечественного генетического анализатора Нанофор-05 (Синтол, Россия). Геномные библиотеки были подготовлены с использованием набора DNA Flex (Illumina, США). Полногеномное секвенирование образцов проводилось на секвенаторе NextSeq 550 (Illumina, США) также с применением реагентов v. 2.5 и проточной ячейкой (high output) на 300 циклах.

Первичная обработка данных включала в себя удаление коротких низкокачественных последовательностей и отсеечение технических фрагментов и проводилась в соответствии с ранее опубликованными методами [10]. Секвенирование по методу Сэнгера и полногеномное секвенирование выполнялись в ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск).

Для выявления устойчивости к бедаквилину по результатам секвенирования по Сэнгеру мы использовали программу BSATool [8], которая анализировала мутации в *atpE* и *mmpR*. Для выявления устойчивости к бедаквилину на основе геномных данных BSATool проанализированы мутации в этих же генах (*atpE* и *mmpR*), а также дополнительно – в *mmpL5*, *mmpS5*, *Rv0678*, *Rv1979c* и *perQ*. На основании вышеперечисленных анализов выявлялась потенциальная устойчивость к бедаквилину в модели *in silico*. Оценка клинической значимости обнаруженных мутаций для формирования лекарственной устойчивости проводилась в соответствии с каталогом мутаций, рекомендованным Всемирной организацией здравоохранения в качестве референсной базы данных [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ результатов секвенирования по Сэнгеру в ручном режиме и программным комплексом BSATool

Из 27 штаммов, полученных из Республики Саха (Якутия), 9 были классифицированы как штаммы с широкой

лекарственной устойчивостью или их предшественники (преШЛУ), 10 оказались чувствительными ко всем ПТП, а остальные проявили полирезистентность [11]. Устойчивость к бедаквилину была обнаружена только у трёх преШЛУ-штаммов.

При анализе секвенирования по Сэнгеру и использовании сервиса BSATool значимые мутации, способные вызывать устойчивость к бедаквилину, были обнаружены у тех же трёх штаммов. На основе результатов микробиологических исследований эти штаммы были зарегистрированы как ШЛУ.

Среди 21 штамма из Иркутска, 10 принадлежали к категории преШЛУ, и остальные 11 штаммов проявили полирезистентность. Из всех этих штаммов только у двух были обнаружены значимые мутации, способные вызывать устойчивость к бедаквилину, как при анализе секвенирования по Сэнгеру в ручном режиме, так и при использовании сервиса BSATool. Тем не менее, из-за отсутствия методики определения устойчивости к бедаквилину в бактериологической лаборатории ИОКТБ данным штаммам не был присвоен статус ШЛУ.

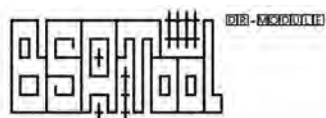
На рисунке 1 представлен пример анализа ДНК четырёх штаммов с использованием программного комплекса BSATool, один из которых содержит мутацию, способную вызывать устойчивость к бедаквилину.

Анализ результатов полногеномного секвенирования программным комплексом BSATool

Анализ полногеномных данных не может быть выполнен вручную из-за большого объема информации. В ходе исследования был проанализирован геном 24 штаммов МБТ, включая те, которые были взяты из Иркутской области, Республики Саха (Якутия), Республики Бурятия, Забайкальского края и Дальнего Востока. Значимая мутация 2223444C/T в гене *Rv1979* была выявлена только у одного штамма, который относится к наиболее вирулентному субтипу B0/W148 генотипа Beijing [12]. Важно подчеркнуть, что остальные штаммы, проанализированные методом полногеномного секвенирования, не проявили устойчивости к бедаквилину в рамках прогнозирования *in silico*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка устойчивости к противотуберкулезным препаратам с использованием молекулярно-биологических методов требует индивидуального подхода, зависящего от распространения клинически значимых мутаций. Для рифампицина «горячие точки» сосредоточены на не-



BSATool - Bacterial SNP Annotation Tool
(c) V.Sinkov, Irkutsk, Russia, 2017-2023
Version: 0.3.170723

Query	Query name	Query start	Query end	Query length	Query direction	Mutations	Intersected regions
Q1	825F.fa	1461033	1461317	284	-->	0	IGR_1460997_1461044,Rv1305,IGR_1461291_1461320
Q2	825R.fa	1461007	1461277	270	<--	0	IGR_1460997_1461044,Rv1305
Q3	850F.fa	1461039	1461311	272	-->	0	IGR_1460997_1461044,Rv1305,IGR_1461291_1461320
Q4	850R.fa	1461011	1461303	292	<--	0	IGR_1460997_1461044,Rv1305,IGR_1461291_1461320
Q5	860F.fa	1461032	1461317	285	-->	1	IGR_1460997_1461044,Rv1305,IGR_1461291_1461320
Q6	860R.fa	1461017	1461266	249	<--	1	IGR_1460997_1461044,Rv1305
Q7	870F.fa	1461043	1461320	277	-->	0	IGR_1460997_1461044,Rv1305,IGR_1461291_1461320
Q8	870R.fa	1461006	1461260	254	<--	0	IGR_1460997_1461044,Rv1305

Query	Query name	Locus	Gene	Genome position(s)	Type	Mutation	Codon	Amino Acid	Change	Description	Drug	DR	DR Info
Q1	825F.fa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q2	825R.fa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q3	850F.fa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q4	850R.fa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q5	860F.fa	Rv1305	atpE	1461242	SNP	c.198C>G	Caa/Gaa	Q66E	missense	Probable ATP synthase C chain AtpE	BDQ	R	I66M
Q6	860R.fa	Rv1305	atpE	1461242	SNP	c.198C>G	Caa/Gaa	Q66E	missense	Probable ATP synthase C chain AtpE	BDQ	R	I66M
Q7	870F.fa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q8	870R.fa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

РИС. 1.

Анализ результатов секвенирования гена *atpE* по методу Сэнгера для двух цепей четырёх различных штаммов: в штамме 860 выявлена существенная мутация, ассоциированная с устойчивостью к бедаквилину; в остальных штаммах мутации, приводящие к устойчивости, не обнаружены

FIG. 1.

Analysis of the Sanger sequencing results of the *atpE* gene for two strands in four different strains: strain 860 exhibits a significant mutation causing resistance to bedaquiline; no resistance-inducing mutations are observed in the other strains

большом участке ДНК длиной 81 п. н., и наиболее целесообразным методом является выявление их с помощью ПЦР в реальном времени. Этот метод уже успешно используется в практике медицинской диагностики в течение почти десяти лет.

Для других ПТП ситуация с клинически значимыми мутациями не так благоприятна, что требует применения секвенирования нуклеотидных последовательностей нескольких генов. Применение программных комплексов, способных выявлять значимые мутации в результатах полногеномного секвенирования или секвенирования по методу Сэнгера, значительно расширяет возможности использования этих молекулярно-биологических методов в клинической практике. Относительно небольшая частота обнаруженных мутаций, вызывающих устойчивость к бекдаквилину, соответствует результатам исследований, проведённых коллегами в европейской части России [13]. Все обнаруженные мутации наблюдались у пациентов, проходивших длительное лечение бекдаквилином в рамках режимов химиотерапии МЛУ/ШЛУ туберкулеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Молекулярно-биологический анализ нуклеотидных последовательностей генов-мишеней с последующим выявлением устойчивости к бекдаквилину *in silico* автоматизированной системой анализа BSATool (находящейся в открытом доступе) может быть рекомендован в первую очередь для лабораторий, осуществляющих секвенирование по методу Сэнгера. Низкая частота мутаций, ассоциированных с устойчивостью к бекдаквилину, может быть объяснена недавним применением препарата в лечении пациентов и, соответственно, небольшим числом штаммов МБТ, устойчивых к бекдаквилину. Аprobация заявленных подходов прогнозирования устойчивости к бекдаквилину на клинических образцах от больных с повторными курсами лечения МЛУ/ШЛУ туберкулеза подтверждает надежность полученных данных.

Источник финансирования

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-15-00280).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Васильева И.А., Андронов С.А., Баласанянц Г.С., Батыров Ф.А., Борисов С.Е., Бурмистрова И.А., и др. *Туберкулез у взрослых: Клинические рекомендации*. М.: Российское общество фтизиатров; 2022. [Vasileva IA, Andronov SA, Balasaniants GS, Baryrov FA, Borisov SE, Burmistrova IA, et al. *Tuberculosis in adults: Clinical guidelines*. Moscow: Russian Society of Phthisiatricians; 2022. (In Russ.)].

2. Sanjeet B. WHO's global tuberculosis report 2022. *Lancet Microbe*. 2023; 4(1): e20. doi: 10.1016/s2666-5247(22)00359-7
3. World Health Organization. *EndTB campaign*. URL: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/the-end-tb-strategy> [date of access: 28.08.2023].
4. Veziris N, Bernard C, Guglielmetti L, Le Du D, Mari-got-Outtandy D, Jaspard M, et al. Rapid emergence of *Mycobacterium tuberculosis* bedaquiline resistance: lessons to avoid repeating past errors. *Eur Respir J*. 2017; 49(3): 1601719. doi: 10.1183/13993003.01719-2016
5. Peretokina IV, Krylova LY, Antonova OV, Kholina MS, Kulagina EV, Nosova EY, et al. Reduced susceptibility and resistance to bedaquiline in clinical *M. tuberculosis* isolates. *J Infect*. 2020; 80(5): 527-535. doi: 10.1016/j.jinf.2020.01.007
6. Melly G, Purdy GE. MmpL proteins in physiology and pathogenesis of *M. tuberculosis*. *Microorganisms*. 2019; 7(3): 70. doi: 10.3390/microorganisms7030070
7. Kadura S, King N, Nakhoul M, Zhu H, Theron G, Köser CU, et al. Systematic review of mutations associated with resistance to the new and repurposed *Mycobacterium tuberculosis* drugs bedaquiline, clofazimine, linezolid, delamanid and pretomanid. *J Antimicrob Chemother*. 2020; 75(8): 2031-2043. doi: 10.1093/jac/dkaa136
8. Синьков В.В., Кондратов И.Г., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Сокольников Н.А., Хромова П.А., и др. Онлайн-сервис для автоматизированной интерпретации данных секвенирования и прогнозирования устойчивости к пиразинамиду возбудителя туберкулеза *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 174(11): 580-584. [Sinkov VV, Kondratov IG, Ogarkov OB, Zhdanova SN, Sokolnikova NA, Khromova PA, et al. Online service with automated interpretation of sequencing data and prediction of pyrazinamide resistance in tuberculosis. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 174(5): 623-627. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-11-580-584
9. Жданова С.Н., Бадлеева М.В., Хромова П.А., Огарков О.Б., Орлова Е.А. Молекулярная эпидемиология туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в Монголии и Восточной Сибири: два независимых процесса распространения доминирующих штаммов. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(2): 337-348. [Zhdanova SN, Badleeva MV, Khromova PA, Ogarkov OB, Orlova EA. Molecular epidemiology of multidrug resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia: two independent dissemination processes for dominant strains. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11(2): 337-348. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-MEO-1368
10. Sinkov V, Ogarkov O, Zhdanova S, Mokrousov I, Bukin Y, Heysell SK. New epidemic cluster of pre-extensively drug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Ural family emerging in Eastern Europe. *BMC Genomics*. 2018; 19(1): 762. doi: 10.1186/s12864-018-5162-3
11. Walker TM, Miotto P, Köser CU, Fowler PW, Knaggs J, Iqbal Z, et al. The 2021 WHO catalogue of complex mutations associated with drug resistance: A genotypic analysis. *Lancet. Microbe*. 2022; 3(4): e265-e273. doi: 10.1016/s2666-5247(21)00301-3
12. Синьков В.В., Савилов Е.Д., Огарков О.Б. Реконструкция эпидемической истории «пекинского» генотипа *Mycobacterium tuberculosis* в России и странах бывшего СССР по результатам сполитипирования. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2011; (3): 25-29. [Sinkov VV, Savilov ED,

Ogarkov OB. Reconstruction of the epidemic history of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and former soviet countries using spoligotyping. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2011; 26: 120-125. (In Russ.)). doi: 10.3103/S0891416811030050

13. Mokrousov I, Akhmedova G, Molchanov V, Fundovnaya E, Kozlova E, Ostankova Y, et al. Frequent acquisition of bedaquiline resistance by epidemic extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Russia during long-term treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2021; 27(3): 478-480. doi: 10.1016/j.cmi.2020.08.030

Сведения об авторах

Синьков Вячеслав Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vsinkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Кондратов Илья Геннадьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Огарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, директор Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Жданова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: svetnii@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Носков Александр Петрович – врач-бактериолог, ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулезная больница», e-mail: alex.noskoff@mail.ru

Хромова Полина Андреевна – младший научный сотрудник Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Орлова Elizaveta Андреевна – аспирант, младший научный сотрудник Института эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Лабыгина Альбина Владимировна – доктор медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: albinablab2212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8190-6143>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор РАН, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

Vyacheslav V. Sinkov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vsinkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Ilya G. Kondratov – Research Officer at the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Oleg B. Ogarkov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Svetlana N. Zhdanova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: svetnii@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Alexander P. Noskov – Bacteriologist, Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital, e-mail: alex.noskoff@mail.ru

Polina A. Khromova – Junior Research Officer at the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Elizaveta A. Orlova – Postgraduate, Junior Research Officer at the Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Albina V. Labygina – Dr. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynaecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: albinablab2212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8190-6143>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Member of the RAS, Academic Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В МАЛОИЗУЧЕННЫХ РАЙОНАХ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ

Лагунова Е.К.,
Хаснатинов М.А.,
Данчинова Г.А.

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

Автор, ответственный за переписку:
Хаснатинов Максим Анатольевич,
e-mail: khasnatinov@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Инфекции, передающиеся человеку при укусах иксодовых клещей, остаются актуальной проблемой здравоохранения. Однако во многих частях нозоареала разнообразие и распространённость клещевых инфекций остаются недостаточно исследованными.

Цель исследования. Охарактеризовать современное разнообразие и распространённость возбудителей клещевых инфекций в долине р. Чикой (Забайкальский край, Россия), входящей в буферную зону Байкальской природной территории.

Материалы и методы. С помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени на заражённость семью возбудителями клещевых инфекций исследованы 48 имаго клещей *Ixodes persulcatus*, 1 особь *Haemaphysalis concinna* и 38 особей мелких млекопитающих.

Результаты. Клещ *H. concinna* не был заражён ни одним из исследуемых патогенов. Заражённость *I. persulcatus* *Borrelia burgdorferi* s.l. составила 39,5 %, *Anaplasma phagocytophilum* – 16,7 %, *B. miyamotoi* – 8,3 % и *Ehrlichia* sp. – 2,1 %. Вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), *Rickettsia sibirica* и *R. heilongjiangensis* в таёжных клещах не обнаружено. Выявлены 4 вида позвоночных хозяев клещей и инфекций: *Myodes rufocanus* (44,7 %) *Apodemus peninsulae* (39 %), *Microtus oeconomus* (13,2 %) и *M. rutilus* (2,6 %). В популяциях мелких млекопитающих заражённость ВКЭ составила 5,3 %, *B. burgdorferi* s.l. – 39,5 %, *B. miyamotoi* – 28,9 %, *Ehrlichia* sp. – 21,1 %, *A. phagocytophilum* – 18,4 %.

Заключение. Повсеместное распространение таёжных клещей, наличие многочисленных популяций компетентных позвоночных хозяев инфекций, а также высокие показатели заражённости позвоночных и беспозвоночных хозяев свидетельствуют о широком распространении в долине р. Чикой активных природных очагов клещевого энцефалита, болезни Лайма, клещевой возвратной лихорадки, вызываемой *B. miyamotoi*, гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека.

Ключевые слова: Забайкальский край, *Borrelia*, вирус клещевого энцефалита, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia*, *Ixodes persulcatus*

Статья поступила: 06.09.2023
Статья принята: 12.12.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Лагунова Е.К., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. Характеристика клещевых инфекций в малоизученных районах Забайкальского края. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 130-140. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.12

CHARACTERISTICS OF TICK-BORNE INFECTIONS IN THE UNDEREXPLORED AREAS OF THE TRANS-BAIKAL TERRITORY

Lagunova E.K.,
Khasnatinov M.A.,
Danchinova G.A.

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

Corresponding author:
Maxim A. Khasnatinov,
e-mail: khasnatinov@gmail.com

ABSTRACT

Background. Infections transmitted to humans by the bites of ixodid ticks remain an urgent public health problem. In this work we explored the natural foci of tick-borne infections located in the valley of the Chikoy River, which is a part of the buffer zone of the Baikal natural territory.

The aim. To characterize the modern diversity and prevalence of tick-borne pathogens in the ecosystems of the valley of the Chikoy River (Trans-Baikal Territory, Russian Federation).

Materials and methods. Thirteen sampling sites were located in typical biotopes throughout the Chikoy valley. In total 48 adult *Ixodes persulcatus* ticks, 1 female *Haemaphysalis concinna* tick and 38 specimens of small mammals were studied. All samples were tested for infection with seven tick-borne pathogens using multiplex real-time PCR.

Results. No pathogens were detected in the *H. concinna* specimen. No *R. sibirica* and *R. heilongjiangensis* were detected both in ticks and in rodents. Among *I. persulcatus*, tick-borne encephalitis virus (TBEV), and the prevalence of *Borrelia burgdorferi* s. l. comprised 39.5 %, *A. phagocytophilum* – 16.7 %, *B. miyamotoi* – 8.3 % and *Ehrlichia* sp. – 2.1 %. Among infected ticks 6.2 % were co-infected with *B. burgdorferi* s. l. and *A. phagocytophilum*. Four rodent hosts of ticks and infections were identified: *Myodes rufocanus* (44.7 %), *Apodemus peninsulae* (39 %), *Microtus oeconomus* (13.2 %) and *M. rutilus* (2.6 %). Mean prevalence of *B. burgdorferi* s. l. in rodents comprised 39.5 %, *B. miyamotoi* – 28.9 %, *Ehrlichia* sp. – 21.1 % and *A. phagocytophilum* – 18.4 %. TBEV was detected in 5.3 % of rodents.

Conclusion. At least five tick-borne pathogens circulate in the Chikoi River valley, i. e. TBEV, *B. burgdorferi* sensu lato, *A. phagocytophilum*, *B. miyamotoi* and *Ehrlichia* sp. The wide spread of *I. persulcatus* and abundance of competent rodent hosts of infections and ticks indicates that natural foci of tick-borne diseases are widely distributed in the Chikoi River valley.

Key words: the Trans-Baikal Territory, *Borrelia*, tick-borne encephalitis virus, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia*, *Ixodes persulcatus*

Received: 06.09.2023
Accepted: 12.12.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Lagunova E.K., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A. Characteristics of tick-borne infections in the underexplored areas of the Trans-Baikal Territory. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 130-140. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.12

ОБОСНОВАНИЕ

Природно-очаговые инфекции продолжают оставаться одной из актуальных проблем патологии населения России. Особенно это относится к инфекциям, передаваемым иксодовыми клещами, как по обширности очаговых территорий, так и по тяжести и последствиям заболеваний. На территории Азиатской части Российской Федерации основным переносчиком многих клещевых инфекций являются клещи *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) [1].

Наиболее эпидемически значимыми возбудителями трансмиссивных инфекций являются вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), возбудители болезни Лайма *Borrelia burgdorferi* sensu lato, возбудители клещевой возвратной лихорадки вызываемой *B. miyamotoi* риккетсии, анаплазмы, эрлихии и другие патогены [2]. Иксодовые клещи могут быть инфицированы как одним патогенным для человека микроорганизмом (моноинфекция), так и одновременно двумя или более видами патогенов (коинфекция). Моно- и коинфекции отличаются клиническим своеобразием в зависимости от сочетания патогенов. Это требует разработки новых подходов к диагностике, профилактике и лечению известных клещевых инфекций, включая коинфекции [3, 4].

Основным источником информации для оценки эпидемиологической ситуации является активный мониторинг природных очагов клещевых инфекций, основанный на прямой оценке численности клещей-переносчиков и млекопитающих – резервуарных хозяев инфекций и прокормителей клещей в экосистеме, а также определение их заражённости изучаемыми патогенами. Проведение активного мониторинга требует привлечения высококвалифицированного персонала и является трудоёмким и времязатратным мероприятием. Поэтому во многих частях нозоареала заболеваний, передающихся при укусах клещей, отмечается нехватка информации о распространённости и разнообразии клещевых инфекций, а также о структуре и напряжённости их природных очагов. Несмотря на очевидные достоинства этого подхода, он обладает рядом существенных недостатков. Например, данный метод не учитывает целый ряд важнейших аспектов инфекционного процесса, таких как мультиплексирование нескольких патогенов в одной паразитарной системе, интенсивность контакта людей с клещами-переносчиками инфекций, социально-демографическое состояние населения, миграционные процессы в популяциях людей и диких животных [5]. Кроме того, чтобы получить достоверные данные в ходе активного мониторинга, необходимо исследование больших количеств переносчиков и прокормителей (клещей и позвоночных животных) в одни и те же сроки на ключевых участках, расположенных в различных ландшафтах с использованием унифицированных методик учётов животных и дальнейших лабораторных исследований всего массива, собранных в полевых экспедициях материалов, с выявлением и идентификацией патогенов [6, 7]. Поэтому во многих районах нозоареала клещевых инфекций особенности распространения и циркуляции патогенов в природе остаются слабоизученными.

Одним из таких районов является Красночикийский район Забайкальского края, в котором отмечаются наиболее высокие показатели заболеваемости клещевым энцефалитом и болезнью Лайма [8]. Несмотря на это, исследования клещевых инфекций в этих местах ранее проводились спорадически и главным образом касались вируса клещевого энцефалита и возбудителей болезни Лайма, а информация о циркуляции других патогенов, передающихся при укусах иксодовых клещей, отсутствует. Чикой является одной из крупнейших рек водосбора оз. Байкал, а долина Чикой и прилегающие хребты Хэнтей-Чикойского нагорья входят в Байкальскую природную территорию. Большие пространства коренных участков кедрового леса, не затронутые деятельностью человека, своеобразная флора и фауна, наличие уникальных природных объектов, а также залежи природных ископаемых (урановых руд) формируют потенциал для дальнейшего рекреационного, хозяйственного и промышленного освоения долины Чикой [9]. В связи с этим характеристика современного состояния природных очагов клещевых инфекций представляется актуальной задачей не только с научной, но и с практической точки зрения.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Охарактеризовать современное разнообразие и распространённость возбудителей клещевых инфекций в долине р. Чикой (Красночикийский район, Забайкальский край, Российская Федерация).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы

Для исследования использовали иксодовых клещей, отловленных с растительности в наиболее распространённых биотопах района исследования, а также мелких млекопитающих – прокормителей клещей и резервуарных хозяев клещевых инфекций.

Учёт численности иксодовых клещей проводили по стандартной методике на флаг, численность клещей оценивали как количество особей на флаго-километр маршрута [10]. Отловленных клещей доставляли в лабораторию в живом виде. Информация о каждом клеще регистрировалась в информационно-аналитической системе «Полевые клещи» [11].

Учёт численности мышевидных грызунов – прокормителей клещей и резервуарных хозяев клещевых инфекций – проводился методом отлова ловушками (живоловки Шермана) на учётных линиях. Численность выражалась в количестве особей на ловушко-сутки. Животных умерщвляли с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» [12]. Для каждого отловленного животного индивидуально определяли вид, пол, возрастную группу (молодые или взрослые), очёсывали иксодовых клещей. После этого производили забор образцов тка-

ней головного мозга, селезёнки, почек и лёгких. Образцы тканей хранили в жидком азоте до доставки в лабораторию и далее при -80°C до проведения исследований.

Подготовка суспензий клещей и органов млекопитающих

Каждого клеща индивидуально промывали в 70%-м этаноле и обсушивали на фильтровальной бумаге, затем производили определение вида, пола и состояния клеща. Вид клеща определяли по морфологическим признакам в соответствии с определителями фауны искодовых клещей СССР [13]. Подготовленных клещей гомогенизировали с использованием автоматического гомогенизатора TissueLyzer II и стерильных стальных шариков диаметром 3 мм. Гомогенаты ресуспендировали в 300 мкл стерильного фосфатно-солевого буфера ($\text{pH} = 7,4$) и исследовали непосредственно после приготовления.

Видовую принадлежность мелких млекопитающих определяли по морфологическим признакам в соответствии с определителями фауны грызунов СССР [14]. Оценку поражённости мелких млекопитающих искодовыми клещами производили на основе индекса обилия (ИО; среднее количество клещей на одну особь) и индекса встречаемости (ИВ; доля особей млекопитающих в выборке, на которых обнаружены искодовые клещи).

Образцы тканей животных (30–50 мг) гомогенизировали с использованием автоматического гомогенизатора TissueLyzer II и охлаждённых стерильных шариков из карбида вольфрама диаметром 5 мм. Гомогенаты ресуспендировали в 300 мкл охлаждённого стерильного фосфатно-солевого буфера ($\text{pH} = 7,4$) и исследовали непосредственно после приготовления.

Выделение нуклеиновых кислот

Из 100 мкл каждого образца индивидуально выделяли суммарную РНК/ДНК с помощью наборов «РеалБест экстракция 100» либо с помощью наборов РеалБест Уни-маг (Вектор-Бест, Новосибирск) и процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) в соответствии с инструкциями производителя. Полученный препарат нуклеиновых кислот ресуспендировали в 300 мкл элюирующего раствора.

ПЦР в режиме реального времени

Для выявления возбудителей клещевых инфекций использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Для детекции нуклеиновых кислот использовали наборы реагентов «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s. l./РНК ВКЭ», «РеалБест ДНК *Anaplasma phagocytophilum*/*Ehrlichia muris*, *Ehrlichia chaffeensis*», «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*» и «РеалБест ДНК *Rickettsia sibirica*/*Rickettsia heilongjiangensis*» (ВекторБест, Новосибирск). Поскольку *E. muris* и *E. chaffeensis* определялись в одной ПЦР-реакции без идентификации вида, выявленные эрлихии далее обозначали как *Ehrlichia* sp.

В качестве матрицы при ПЦР с обратной транскрипцией использовали 50 мкл препарата ДНК/РНК. Реакцию

и учёт результатов в режиме реального времени проводили с помощью амплификатора CFX C1000 Touch (BioRad, США) в соответствии с инструкцией производителя наборов. Для обработки, учёта и интерпретации результатов использовали программное обеспечение BioRad CFX Manager 3.1 (BioRad, США).

Количественная ПЦР

Количественное определение *Borrelia* sp. было выполнено с использованием мультиплексной количественной ПЦР, нацеленной на ген *16S* рРНК [15]. Для этого фрагменты гена *16S rRNA B. burgdorferi sensu lato* (штамм В31) и *B. miyamotoi* (штамм НТ31) амплифицировали с помощью ПЦР [5'-GCTGTAAACGATGCACACTTGGT-3'] и BspR-16s [5'-GGCGGCACACTTAACACGTTAG-3']. Полученные ампликоны (длиной 70 нуклеотидных оснований) независимо клонировали в плазмидном векторе pCR4-TOPO (Thermo Fisher Scientific, США) и наращивали в компетентных клетках *Escherichia coli*, штамм DH5 α (Nippon Gene, Япония) – как описано ранее [15]. Количество спирохет в образцах оценивали с помощью серийных десятикратных разведений стандартных образцов ДНК соответствующих *Borrelia* spp. и выражали как $\log_{10}$ копий генома на клеща. ПЦР проводили в реакционном объёме 25 мкл. Реакционная смесь содержала 1U Taq-полимеразы HSTaq (Eurogen), 2,5 мкл матрицы ДНК, праймеры BspF-16s и BspR-16s в концентрации 900 нМ каждый и зонды FAM-LD [5'-FAM-TTCGGTACTAACCTTTAGTTAA-BHQ1-3'] и VIC-RF [5'-R6G-CGGTACTAACCTTTCGATTABHQ1-3'] в концентрации 200 нМ каждый. Условия ПЦР представляли собой начальный цикл при 50°C в течение 2 мин, затем цикл при 95°C в течение 2 мин, затем 45 циклов при 95°C в течение 15 с и 63°C в течение 60 с. Результаты учитывали на стадии 63°C в соответствии с показаниями калибровочной кривой, при этом по каналу FAM определяли наличие и концентрацию ДНК *B. burgdorferi* s. l., а по каналу VIC – ДНК *B. miyamotoi*.

Статистические методы обработки данных

Соотношение полов и распространённость инфекций оценивали как долю инфицированных особей, выражали в процентах и рассчитывали 95%-й доверительный интервал (95% ДИ).

Для оценки ассоциаций между инфекциями ВКЭ *B. burgdorferi* s. l., *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. у клещей были построены таблицы сопряжённости 2×2 для каждой пары микроорганизмов [16]. При этом в качестве бинарных определяющих условий были взяты инфицированное и неинфицированное состояние клещей. Для оценки статистической значимости различий между групповыми средними использовали дисперсионный анализ на основе *F*-критерия Фишера [17].

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения MS Excel (Microsoft Corp., США), MaxStat Light и R версии 4.0.2 (R Foundation, Австрия). Статистическая значимость была установлена на уровне 0,95. Все тесты статистической значимости были двусторонними. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе были использованы материалы, собранные с 3 по 10 июля 2021 года в ходе исследования долины р. Чикой в Республике Бурятия и Красночикойском районе Забайкальского края (рис. 1). Было обследовано 13 учётных точек, проведено 15,7 флагов/км учётов иксодовых клещей и 455 ловушко-ночей учётов мелких млекопитающих. В ходе работы было исследовано 38 особей мышевидных грызунов и 49 иксодовых клещей, собранных с растительности. На мелких млекопитающих обнаружено 116 личинок и нимф таёжных клещей (не были включены в лабораторные исследования).

Обилие иксодовых клещей варьировало от низких до средних значений и находилось в диапазоне от 0,4 до 13 особей на флаг/км. С учётом субоптимального сезона исследований (начало июля) такие показатели численности клещей позволяют предположить, что в обследуемом районе имеются природные очаги клещевых инфекций со средним и высоким лоймопотенциалом. Наибольшие показатели численности клещей были ассоциированы с разнотравно-злаковыми сосново-берёзовыми лесами с таволгой и шиповником в подлеске. Один клещ, отловленный на учётной точке № 7 (рис. 1), был определён как самка *Haemaphysalis concinna* (Koch,

1844). Остальные 48 клещей были идентифицированы как *Ixodes persulcatus* (Shulze, 1930), все особи были половозрелыми, соотношение полов составило 0,6 самца на одну самку.

Относительная численность мелких млекопитающих варьировала от 10 до 21,5 экз./100 ловушко-суток, при этом в трёх точках не было отловлено ни одного животного. Видовое разнообразие представлено четырьмя фоновыми видами: восточноазиатская лесная мышь *Apodemus peninsulae* (Thomas, 1907), красно-серая полёвка *Myodes rufocanus* (Sundevall, 1846), полёвка-экономка *Microtus oeconomus* (Pallas, 1776) и красная полёвка *Myodes rutilus* (Pallas, 1779). Наиболее часто в отловах встречались красно-серые полёвки (44,7 %) и восточноазиатские лесные мыши (39,5 %), тогда как полёвки-экономки и красные полёвки были малочисленными (13,2 % и 2,6 % выборки соответственно).

Личинки *I. persulcatus* были обнаружены только на грызунах двух видов – *A. peninsulae* и *M. rufocanus*, при этом *A. peninsulae* играли несколько более существенную роль в прокормлении личинок таёжного клеща (ИО = 5,3; ИВ = 60 %) по сравнению с *M. rufocanus* (ИО = 2,1; ИВ = 35,3 %), несмотря на большую численность последних. В качестве прокормителей нимф таёжного клеща выступали только красно-серые полёвки

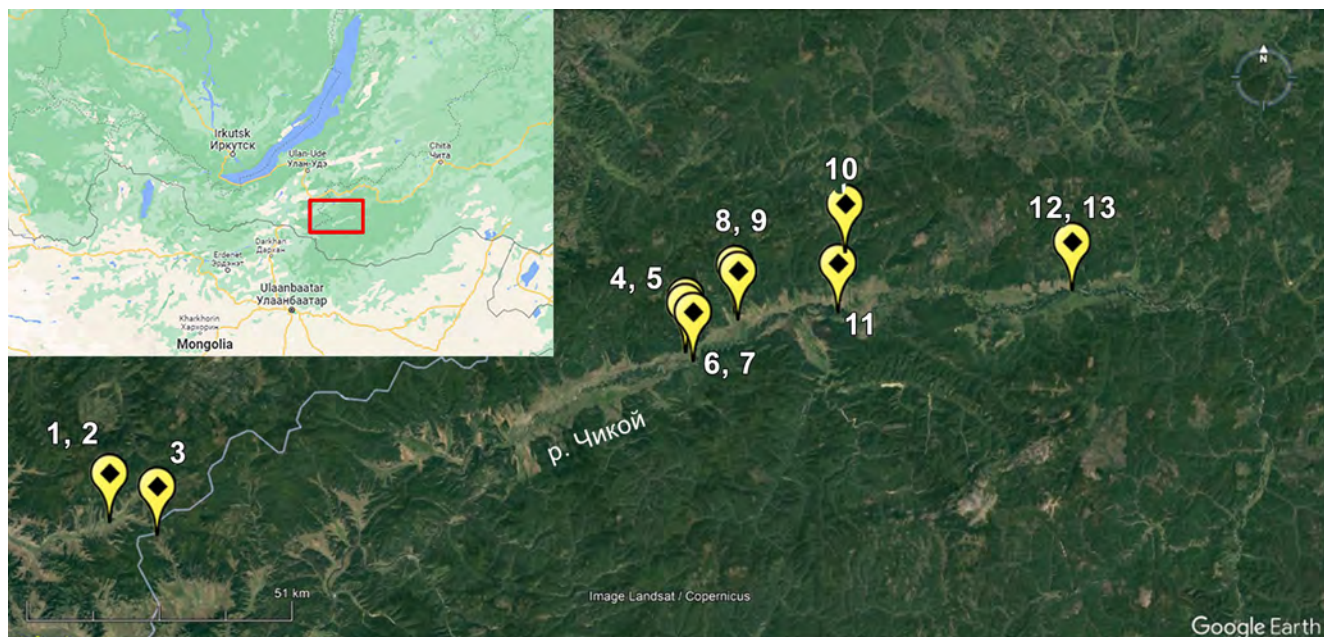


РИС. 1.

Обследуемый район и локализация учётных точек. Картирование мест отлова клещей и мышевидных грызунов и создание изображений были выполнены с использованием программного обеспечения GoogleEarthPro 7.3. Учётные точки: **1, 2** – Республика Бурятия, Кяхтинский район, окрестности с. Улады; **3** – граница Бурятии и Забайкальского края; **4–7** – Забайкальский край, Красночикойский район, с. Фомичёво; **8** – Забайкальский край, Красночикойский район, с. Захарово; **9–11** – Забайкальский край, Красночикойский район, д. Шимбилик; **12, 13** – Забайкальский край, Красночикойский район, д. Стеклозавод

FIG. 1.

Survey area and localization of sampling sites. Tick and rodent capture site mapping and imaging were performed using GoogleEarthPro 7.3 software. Sampling sites: **1, 2** – Republic of Buryatia, Kyakhtinsky district, Ulady settlement; **3** – the border of the Republic of Buryatia and the Transbaikalian krai; **4–7** – Transbaikalian krai, Krasnochikoy sky district, Fomichevo village; **8** – Transbaikalian krai, Krasnochikoy sky district, Zakharovo village; **9–11** – Transbaikalian krai, Krasnochikoy sky district, Shimbilik village; **12, 13** – Transbaikalian krai, Krasnochikoy sky district, Steklozavod village

с ИО = 0,12 клеща на особь и ИВ = 11,8 %. Иксодовые клещи других видов на млекопитающих выявлены не были.

Разнообразие и распространённость клещевых инфекций среди иксодовых клещей **Заражённость иксодовых клещей возбудителями клещевых инфекций**

Единственная самка *H. concinna* не была заражена ни одним из исследуемых патогенов. Возбудители клещевого риккетсиоза северной Азии *R. sibirica* и дальневосточного клещевого риккетсиоза *R. heilongjiangensis* не были обнаружены ни в клещах, ни в образцах тканей мышевидных грызунов, поэтому эти патогены далее не рассматриваются.

В таёжных клещах, отловленных на флаг с растительности, самым распространённым возбудителем оказалась *B. burgdorferi* s. l., которая была обнаружена в 39,6 % образцов. Далее следовала *A. phagocytophilum* (16,6 %), затем *B. miyamotoi* (8,3 %), доля *Ehrlichia* sp. составила 2 %. Вируса клещевого энцефалита обнаружено не было (табл. 1).

Оценить количественную нагрузку боррелий удалось для восьми особей *I. persulcatus*, заражённых *B. burgdorferi* s. l., и для двух особей, заражённых

B. miyamotoi. Средняя концентрация *B. miyamotoi* составляла $2,5 \pm 5,1$ lg копий генома на клеща с максимальным показателем $2,9 \log_{10}$ копий генома на клеща. Концентрация *B. burgdorferi* s. l. варьировала от 1,1 до 3,8 lg копий на клеща и в среднем составила $2,7 \pm 0,7$ lg копий на клеща. Можно предположить, что нагрузка спирохет *B. burgdorferi* s. l. на клеща несколько выше, чем *B. miyamotoi*, хотя выявленные различия не имеют статистической значимости.

Коинфицирование таёжных клещей двумя и более патогенами

Более чем в 90 % случаев клещи были заражены только одним из исследуемых микроорганизмов, но 3 (6,2 %) клеща были одновременно инфицированы *B. burgdorferi* s. l. и *A. phagocytophilum*. Статистически значимой сопряжённости этих инфекций выявлено не было. Других сочетаний патогенов в исследованной выборке таёжных клещей не выявлено.

Разнообразие и распространённость клещевых инфекций среди мелких млекопитающих – прокормителей иксодовых клещей

У мелких млекопитающих выявлены все возбудители трансмиссивных инфекций, которые были обнару-

ТАБЛИЦА 1
ЗАРАЖЁННОСТЬ ТАЁЖНЫХ КЛЕЩЕЙ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В ЭКОСИСТЕМАХ ДОЛИНЫ р. ЧИКОЙ

	Особей исследовано	ВКЭ	Из них заражено, n, % (95% ДИ)				Не заражено, % (95% ДИ)
			B. b. s. l.	B. m.	A. ph.	E. sp.	
<i>I. persulcatus</i> , самки	30	0	12 40 (22; 58)	2 7 (0; 16)	4 13 (1; 25)	1 3 (0; 10)	12 40 (22; 58)
<i>I. persulcatus</i> , самцы	18	0	7 39 (16; 61)	2 11 (0; 26)	4 22 (3; 41)	0	7 39 (16; 61)
Всего	48	0	19 40 (26; 53)	4 8 (1; 16)	8 17 (6; 27)	1 2 (0; 6)	19 40 (26; 53)

Примечание. ВКЭ – вирус клещевого энцефалита; B. b. s. l. – *B. burgdorferi* sensu lato; B. m. – *B. miyamotoi*; A. ph. – *Anaplasma phagocytophilum*; E. sp. – *Ehrlichia* sp.

TABLE 1
THE PREVALENCE OF TICK-BORNE PATHOGENS AMONG *I. PERSULCATUS* TICKS IN THE ECOSYSTEMS OF THE CHIKOY RIVER VALLEY

ТАБЛИЦА 2
ЗАРАЖЁННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ЭКОСИСТЕМАХ ДОЛИНЫ р. ЧИКОЙ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Вид	Особей исследовано	ВКЭ	Из них инфицировано, n, % (95% ДИ)				Не инфицировано, % (95% ДИ)
			B. b. s. l.	B. m.	A. ph.	E. sp.	
<i>Apodemus peninsulae</i>	15	1 7 (0; 19)	6 40 (15; 65)	4 27 (4; 49)	1 7 (0; 19)	5 33 (9; 57)	7 47 (21; 72)
<i>Microtus oeconomus</i>	5	0	2 40 (0; 83)	0	1 20 (0; 55)	1 20 (0; 55)	3 60 (17; 103)
<i>Myodes rufocanus</i>	17	1 6 (0; 17)	6 35 (13; 58)	2 12 (0; 27)	3 18 (0; 36)	1 6 (0; 17)	9 53 (29; 77)
<i>Myodes rutilus</i>	1	0	1	0	1	0	0
Всего	38	2 5 (0; 12)	15 39 (24; 55)	6 16 (4; 27)	6 16 (4; 27)	7 18 (6; 31)	19 50 (34; 66)

Примечание. ВКЭ – вирус клещевого энцефалита; B. b. s. l. – *B. burgdorferi* sensu lato; B. m. – *B. miyamotoi*; A. ph. – *Anaplasma phagocytophilum*; E. sp. – *Ehrlichia* sp.

жены в таёжных клещах, а также обнаружено две особи грызунов, заражённых ВКЭ – взрослая самка красносерой полёвки и молодой самец восточноазиатской лесной мыши. Наиболее инфицированными оказались *A. peninsulae* – порядка 53 % зверьков были заражены по меньшей мере одним из исследуемых микроорганизмов. Среди пяти особей *M. oeconomus* две были заражены возбудителями клещевых инфекций. Заражённость грызунов разных видов приведена в таблице 2.

Заражённость млекопитающих вирусом клещевого энцефалита

В отличие от таёжных клещей, ВКЭ был обнаружен в тканях 5 % позвоночных хозяев. У одной особи *A. peninsulae* вирусная РНК была выявлена в тканях головного мозга, а у одной особи *M. rufocanus* наблюдалась системная инфекция с наличием вируса в головном мозге, селезёнке, почках и лёгких. Заражённость обоих видов была сопоставимой и составила 7 % и 6 % соответственно.

Заражённость и особенности инфицирования млекопитающих *B. burgdorferi* s. l.

Возбудители болезни Лайма оказались наиболее распространённым среди позвоночных хозяев патогеном и в среднем встречались у 39 % животных, что практически идентично заражённости среди таёжных клещей. ДНК *B. burgdorferi* s. l. была выявлена у всех исследованных видов млекопитающих с практически одинаковой частотой – 39–40 %, за исключением *M. rufocanus*, среди которых заражённость составила 35 %, хотя эти различия не были статистически значимы.

В организме мелких млекопитающих ДНК *B. burgdorferi* s. l. была обнаружена во всех исследованных органах (табл. 3) хотя и с разной частотой. Реже все-

го были инфицированы ткани почек, в которых боррелии были обнаружены только у многочисленных видов *A. peninsulae* и *M. rufocanus*. Наиболее часто (практически у всех заражённых животных) инфекция выявлялась в тканях лёгких. Среди малочисленных видов *M. oeconomus* и *M. rutilus* все заражённые животные имели признаки системной инфекции *B. burgdorferi* s. l. с вовлечением по меньшей мере трёх органов: головного мозга, селезёнки и лёгких. Среди *A. peninsulae* в трёх случаях выявлены признаки системной инфекции с вовлечением двух и более органов, а в трёх случаях ДНК боррелий была выявлена только в тканях лёгких. У *M. rufocanus* наблюдалась сходная картина: в трёх случаях имелись признаки системной инфекции с вовлечением 3 или 4 органов, а в трёх случаях боррелии были выявлены только в тканях лёгких (две особи) или головного мозга (одна особь).

Количественную нагрузку *B. burgdorferi* s. l. удалось определить для трёх особей *M. rufocanus* и по одной особи *A. peninsulae*, *M. oeconomus* и *M. rutilus* (табл. 4). В тканях мозга оценить концентрацию спирохет не удалось ни у одного из видов млекопитающих.

В почках следовые количества ДНК *B. burgdorferi* s. l. были обнаружены только у одной из красно-серых полёвок. В тканях селезёнки и лёгких концентрация ДНК боррелий была сопоставима для большинства образцов и составляла порядка 10 геномных копий на 10 мг ткани. В тканях единственной особи полёвки-экономки концентрация ДНК *B. burgdorferi* s. l. концентрация ДНК боррелий составил 3,5 lg геномных копий, что примерно в 1000 раз выше аналогичных показателей восточноазиатской лесной мыши и красно-серых полёвок (табл. 4).

ТАБЛИЦА 3
ВСТРЕЧАЕМОСТЬ *B. BURGDORFERI* S. L.
В ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Виды млекопитающих	Заражено <i>B. burgdorferi</i> s. l., особей	Органы, в которых обнаружена ДНК <i>B. burgdorferi</i> s. l., n (%)			
		мозг	селезёнка	почки	лёгкие
<i>A. peninsulae</i>	6	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (16,7)	6 (100)
<i>M. oeconomus</i>	2	2 (100)	2 (100)	0 (0)	2 (100)
<i>M. rufocanus</i>	6	3 (50)	3 (50)	2 (33,3)	5 (83,3)
<i>M. rutilus</i>	1	1 (100)	1 (100)	0 (0)	1 (100)

TABLE 3
OCCURRENCE OF *B. BURGDORFERI* S. L.
IN THE ORGANS OF SMALL MAMMALS

ТАБЛИЦА 4
СРЕДНЯЯ БАКТЕРИАЛЬНАЯ НАГРУЗКА
***B. BURGDORFERI* S. L. В ОРГАНАХ МЕЛКИХ**
МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Виды млекопитающих	Концентрация <i>B. burgdorferi</i> s. l. в тканях (lg копий генома/10 мг)		
	селезёнка	почки	лёгкие
<i>A. peninsulae</i>	1	0	0,8
<i>M. oeconomus</i>	3,5	0	3,3
<i>M. rufocanus</i>	0	0,1	0,9
<i>M. rutilus</i>	0,6	0	1,4

TABLE 4
MEAN SPIROCHETE LOADS OF *B. BURGDORFERI* S. L.
IN THE ORGANS OF SMALL MAMMALS

**Заражённость и особенности инфицирования
млекопитающих *B. miyamotoi***

Возбудитель клещевой возвратной лихорадки *B. miyamotoi* был обнаружен только среди многочисленных видов грызунов. При этом заражённость *A. peninsulae* более чем вдвое превышала заражённость *M. rufocanus* (27 % и 12 % соответственно). В организме млекопитающих *B. miyamotoi* были распределены более равномерно, чем *B. burgdorferi* s. l. (табл. 5) и во всех случаях поражали 2 и более органа, за исключением одной особи *A. peninsulae*, у которой эти спирохеты были обнаружены только в тканях селезёнки.

Количественную нагрузку *B. miyamotoi* удалось определить для трёх заражённых особей *A. peninsulae* и двух *M. rufocanus* (табл. 6). В целом концентрация *B. miyamotoi* в тканях млекопитающих была примерно в 10 раз выше, чем концентрация *B. burgdorferi* s. l. и варьировала от 50 до порядка 10 000 копий генома на 10 мг ткани. У *A. peninsulae* количественная нагрузка спирохет в разных органах была примерно равной, тогда как у *M. rufocanus* выделялись ткани селезёнки, в которых концентрация ДНК *B. miyamotoi* была на 2 порядка выше, чем в других органах (табл. 6).

**Заражённость и особенности инфицирования
млекопитающих *A. phagocytophilum***

В среднем возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) *A. phagocytophilum* встречался у 16 % млекопитающих, однако у разных видов заражённость этим патогеном варьировала. Так, для *M. rufocanus* и *M. oeconomus* были характерны показатели заражённости, близкие к среднему значению, однако среди *A. peninsulae* заражённость была в три раза ниже (18–20 % против 7 % соответственно; табл. 2).

В большинстве случаев заражение *A. phagocytophilum* протекало как системная инфекция с поражением всех исследованных органов, кроме селезёнки (табл. 7). Исключение составила единственная инфицированная особь *A. peninsulae*, у которой ДНК возбудителя ГАЧ была обнаружена только в селезёнке (табл. 7).

**Заражённость и особенности инфицирования
млекопитающих *Ehrlichia* sp.**

Заражённость эрлихиями была наиболее характерна для *A. peninsulae*, у которых эти микроорганизмы встречались в 33 % случаев. Среди других видов млекопитающих эти бактерии были обнаружены у единичных особей (табл. 2).

**ТАБЛИЦА 5
ВСТРЕЧАЕМОСТЬ *B. MIYAMOTOI*
В ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Виды млекопитающих	Заражено <i>B. miyamotoi</i> , особей	Органы, в которых обнаружена ДНК <i>B. miyamotoi</i> , n (%)			
		мозг	селезёнка	почки	лёгкие
<i>A. peninsulae</i>	4	2 (50)	4 (100)	0 (0)	3 (75)
<i>M. rufocanus</i>	2	0 (0)	1 (50)	1 (50)	2 (100)

**TABLE 5
OCCURRENCE OF *B. MIYAMOTOI*
IN THE ORGANS OF SMALL MAMMALS**

**ТАБЛИЦА 6
СРЕДНЯЯ БАКТЕРИАЛЬНАЯ НАГРУЗКА *B. MIYAMOTOI*
В ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Виды млекопитающих	Концентрация <i>B. miyamotoi</i> в тканях, lg копий генома/10 мг			
	мозг	селезёнка	почки	лёгкие
<i>A. peninsulae</i>	2	2,7	0	2,3
<i>M. rufocanus</i>	0	4,1	1,4	2,2

**TABLE 6
MEAN SPIROCHETE LOADS OF *B. MIYAMOTOI*
IN THE ORGANS OF SMALL MAMMALS**

**ТАБЛИЦА 7
ВСТРЕЧАЕМОСТЬ *A. PHAGOCYTOPHILUM*
В ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Виды млекопитающих	Заражено <i>A. phagocytophilum</i> , особей	Органы, в которых обнаружена ДНК <i>A. phagocytophilum</i> , n (%)		
		мозг	селезёнка	лёгкие
<i>A. peninsulae</i>	1	0	1 (100)	0
<i>M. oeconomus</i>	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)
<i>M. rufocanus</i>	3	2 (66,7)	3 (100)	3 (100)
<i>M. rutilus</i>	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)

**TABLE 7
OCCURRENCE OF *A. PHAGOCYTOPHILUM*
IN THE ORGANS OF SMALL MAMMALS**

В отличие от всех остальных изученных патогенов, инфекция *Ehrlichia* sp. всегда имела системный характер, а у *A. peninsulae* ДНК эрлихий была обнаружена во всех обследованных органах (табл. 8).

Коинфицирование мелких млекопитающих двумя и более патогенами

Коинфицирование двумя и более патогенами оказалось широко распространено среди позвоночных хозяев клещевых инфекций. Единственная исследованная особь *M. rufocanus* была одновременно инфицирована двумя патогенами, *B. burgdorferi* s. l. и *A. phagocytophilum*. Из двух заражённых полёвок-экономок одна была заражена тремя бактериями – *B. burgdorferi* s. l., *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. Структура инфицирования клещевыми патогенами среди многочисленных видов млекопитающих представлена в таблице 9.

Для восточноазиатских лесных мышей более характерны ко-инфекции – порядка 40 % животных были одновременно инфицированы двумя и более патогенами. При этом моноинфекции были зарегистрированы только для *B. miyamotoi* и *Ehrlichia* sp. Единственный для этого вида грызунов случай заражения ВКЭ отмечен только в ко-инфекции с *B. burgdorferi* s. l., *B. miyamotoi* и *Ehrlichia* sp. Из бактерий *B. burgdorferi* s. l. примерно с одинаковой частотой встречались во всех вариантах ко-инфицирования; *B. miyamotoi* отмечена либо во множественных ко-инфекциях, либо в сочетании с *B. burgdorferi* s. l., единственный случай заражения *A. peninsulae* анаплазмами был в сочетании с *B. burgdorferi* s. l., а более распространённые эрлихии встречались примерно в равной степени как в виде мо-

ТАБЛИЦА 8
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ *EHRlichia* SP.
В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Виды млекопитающих	Заражено <i>Ehrlichia</i> sp.	Органы, в которых обнаружена ДНК <i>Ehrlichia</i> sp., n (%)			
		мозг	селезёнка	почки	лёгкие
<i>A. peninsulae</i>	5	4 (80)	5 (100)	1 (20)	5 (100)
<i>M. oeconomus</i>	1	1 (100)	1 (100)	0	1 (100)
<i>M. rufocanus</i>	1	1 (100)	1 (100)	0	1 (100)

TABLE 8
THE DISTRIBUTION OF *EHRlichia* SP.
IN DIFFERENT ORGANS OF SMALL MAMMALS

ТАБЛИЦА 9
СТРУКТУРА КО-ИНФЕКЦИЙ КЛЕЩЕВЫХ ПАТОГЕНОВ
У МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Патогены	Моноинфекция, <i>n</i> (%)	Ко-инфекция, <i>n</i> (%)	Ко-инфекция с (%)				
			B. b. s. l.*	B. m.	A. ph.	E. sp.	более 2 патогенов
<i>A. peninsulae</i> (<i>n</i> = 15)							
БКЭ*	0	1 (6,7)	0	0	0	0	1 (6,7)
B. b. s. l.	0	6 (40)	–	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (13,3)	2 (13,3)
B. m.	1 (6,7)	3 (20)	1 (6,7)	–	0	0	2 (13,3)
A. ph.	0	1 (6,7)	1 (6,7)	0	–	0	0
E. sp.	1 (6,7)	4 (26,7)	2 (13,3)	0	0	–	2 (13,3)
Всего	2 (13,3)	6 (40)	4 (26,7)	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (13,3)	–
<i>M. rufocanus</i> (<i>n</i> = 17)							
БКЭ	1 (5,9)	0	0	0	0	0	0
B. b. s. l.	2 (11,8)	4 (23,5)	–	1 (5,9)	2 (11,8)	0	1 (5,9)
B. m.	1 (5,9)	1 (5,9)	1 (5,9)	–	0	0	0
A. ph.	0	3 (17,6)	2 (11,8)	0	–	0	1 (5,9)
E. sp.	0	1 (5,9)	0	0	0	–	1 (5,9)
Всего	4 (23,5)	4 (23,5)	3 (17,6)	1 (5,9)	2 (11,8)	0	–

Примечание. ВКЭ – вирус клещевого энцефалита; B. b. s. l. – *B. burgdorferi* sensu lato; B. m. – *B. miyamotoi*; A. ph. – *Anaplasma phagocytophilum*; E. sp. – *Ehrlichia* sp.

ноинфекции, так и в различных комбинациях с другими микроорганизмами.

Среди красно-серых полёвок каждый четвёртый зверёк был заражён одним, и столько же – двумя и более патогенами. Моноинфекции были отмечены для ВКЭ, *B. burgdorferi* s. l. и *B. miyamotoi*. Из ко-инфекций были наиболее примечательны *B. burgdorferi* s. l., которые встречались во всех доступных комбинациях, кроме сочетания с ВКЭ. Для остальных бактерий ко-инфекции у этого вида грызунов не были характерны и ограничивались единичными случаями множественных инфекций либо ко-инфекциями с *B. burgdorferi* s. l.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В Красночикойском районе Забайкальского края в пределах долины р. Чикой впервые выявлена устойчивая циркуляция по меньшей мере пяти возбудителей клещевых инфекций: вируса клещевого энцефалита, *B. burgdorferi* s. l., *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. Установлено, что эти патогены не только инфицируют клещей-переносчиков, но и распространены среди естественных позвоночных хозяев – мелких млекопитающих. Наиболее актуальным для обследованного района переносчиком клещевых инфекций являются клещи *I. persulcatus*, а наиболее важными позвоночными хозяевами и прокормителями клещей – красно-серая полёвка *M. rufocanus* и восточноазиатская лесная мышь *A. peninsulae*.

Случаев заражения таёжных клещей и мышевидных грызунов возбудителями клещевого риккетсиоза северной Азии *R. sibirica* и дальневосточного клещевого риккетсиоза *R. heilongjiangensis* не выявлено. Однако исключать наличие природных очагов этих заболеваний в экосистемах водосбора р. Чикой нельзя. С одной стороны, ограниченный объем выборки клещей и позвоночных хозяев не позволяет утверждать о полноте описания фауны иксодовых клещей долины р. Чикой, а также биоразнообразия инфицирующих их патогенов. С другой стороны, обнаружение клеща *H. concinna*, который является специфичным беспозвоночным хозяином *R. heilongjiangensis*, также свидетельствует в пользу того, что видовое разнообразие как переносчиков, так и клещевых патогенов в Красночикойском районе может быть ещё шире, чем установлено в настоящем исследовании.

Обобщая полученные результаты, можно отметить высокий риск заражения клещевым энцефалитом, болезнью Лайма, клещевой возвратной лихорадкой, вызываемой *B. miyamotoi*, гранулоцитарным анаплазмозом и моноцитарным эрлихиозом человека в Красночикойском районе Забайкальского края, входящем в Байкальскую природную территорию, включающую самые привлекательные местности для проживания и отдыха местного населения, российских и иностранных туристов. Об этом свидетельствуют повсеместное распространение эпидемически значимых переносчиков клещевых инфекций – клещей *I. persulcatus*, наличие многочисленных популяций компетентных позвоночных – хо-

зяев инфекций и прокормителей клещей, высокие показатели заражённости клещей и мелких млекопитающих, а также значительная доля животных, одновременно инфицированных двумя и более патогенами. Всё это диктует необходимость дальнейшего совершенствования мониторинга клещевых инфекций с привлечением всех возможностей современной науки как для краткосрочного, так и для средне- и долгосрочного прогнозирования эпидемиологической ситуации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам биомедицинской этики

При работе соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, в редакции 2000). Работа проведена с одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2 от 18.02.2020).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Зайцева О.А., Котенев Е.С., Артюшина Ю.С., Кот Л.А., Шапошникова Л.И., Чишенюк Т.И., и др. Современная эпидемиолого-эпизоотологическая ситуация по иксодовому клещевому боррелиозу на юге европейской части России. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (3): 58-65. [Zaitseva OA, Kotenev ES, Artyushina YuS, Kot LA, Shaposhnikova LI, Chishenyuk TI, et al. Modern epidemiological and epizootiological situation on ixodic tick-borne borreliosis in the south of the European part of Russia. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019; (3): 58-65. (In Russ.)]. doi: 10.21055/0370-1069-2019-3-58-65
2. Danchinova GA, Khasnatinov MA, Zlobin VI, Kozlova IV, Verkhozina MM, Sountsova OV, et al. Ixodid ticks in Southern part of Eastern Siberia and Mongolia and their spontaneous infectiveness by infectious agents. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2006; 5: 137-143. doi: 10.20538/1682-0363-2006-137-143
3. Усков А.Н., Лобзин Ю.В., Бургасова О.А. Клещевой энцефалит, эрлихиоз, бабезиоз и другие актуальные клещевые инфекции в России. *Инфекционные болезни*. 2010; 8(2): 83-88. [Uskov AN, Lobzin YuV, Burgasova OA. Tick-borne encephalitis, ehrlichiosis, babesiosis and other topical tick-borne infections in Russia. *Infectious Diseases*. 2010; 8(2): 83-88. (In Russ.)].
4. Lagunova EK, Liapunova NA, Tuul D, Otgonsuren G, Nomin D, Erdenebat N, et al. Co-infections with multiple pathogens in natural populations of *Ixodes persulcatus* ticks in Mongolia. *Parasit Vectors*. 2022; 15(1): 236. doi: 10.1186/s13071-022-05356-x
5. Копенберг Э.И. Пути совершенствования эпидемиологического надзора за природноочаговыми инфекциями. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(6): 18-29. [Korenberg EI. Ways of improving epidemiological surveillance of natural focal infections. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016; 15(6): 18-29. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-6-18-29
6. Вержужский Д.Б. Современное состояние зоологической работы по обеспечению эпидемиологического благополучия

России. *Байкальский зоологический журнал*. 2013; 1(12): 109-112. [Verzhutsky DB. Contemporary state of zoological work to ensure epidemiological welfare of Russia. *Baykalskiy zoologicheskii zhurnal*. 2013; 1(12): 109-112. (In Russ.)].

7. Diuk-Wasser MA, Hoen AG, Cislo P, Brinkerhoff R, Hamer SA, Rowland M, et al. Human risk of infection with *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent, in eastern United States. *Am J Trop Med Hyg*. 2012; 86(2): 320-327. doi: 10.4269/ajtmh.2012.11-0395

8. Носков А.К., Трушина Ю.Н., Туранов А.О., Адельшин Р.В., Хаснатинов М.А., Трухина А.Г., и др. Клинико-эпидемиологические особенности иксодовых клещевых боррелиозов в Забайкальском крае. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (4): 25-28. [Noskov AK, Trushina YuN, Turanov AO, Adel'shin RV, Khasnatinov MA, Trukhina AG, et al. Clinical-epidemiological peculiarities of the tick-borne borrelioses registered in the Trans-Baikal Territory. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014; (4): 25-28. (In Russ.)]. doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-25-28

9. Козлова С.А. Перспективы включения национального парка «Чикой» во всемирную сеть биосферных резерватов. *Успехи современного естествознания*. 2019; (5): 64-69. [Kozlova SA. The prospects of including the national park «Chikoy» to the world network of biosphere reserves. *Advances in Current Natural Sciences*. 2019; (5): 64-69. (In Russ.)]. doi: 10.17513/use.37123

10. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней: Методические указания МУ 3.1.3012-12.3.1. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. [Collection, recording and preparation for laboratory research of blood-sucking arthropods in natural foci of dangerous infectious diseases: Guidelines MU 3.1.3012-12.3.1. Moscow; 2021. (In Russ.)].

11. Хаснатинов М.А., Ляпунов А.В., Арбатская Е.В., Чапоргина Е.А., Данчинова Г.А. Информационно-аналитическая система «Иксодовые клещи, распространённые в Восточной Сибири, и их патогены» (ИАС «Полевые клещи»): Свидетельство о государственной регистрации БД № 2011620140; 16.02.2011.

[Khasnatinov MA, Lyapunov AV, Arbatskaya EV, Chaporgina EA, Danchinova GA. *Information and analytical system "Ixodid ticks, common in Eastern Siberia, and their pathogens" (EIS "Field ticks")*: Certificate of state registration of database No. 2011620140. 2011. (In Russ.)].

12. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (в редакции 52-й сессии Генеральной Ассамблеи ВМА в Эдинбурге, Шотландия, октябрь 2000 г.). 2000. [Declaration of Helsinki of the World Medical Association "Ethical principles for medical research involving human subjects" (as amended by the 52nd session of the WMA General Assembly in Edinburgh, Scotland, October 2000). 2000. (In Russ.)].

13. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства Ixodidae. Паукообразные. Фауна СССР. Л.: Наука; 1977; 4(4). [Filippova NA. Ixodid ticks of the subfamily Ixodidae. *Arachnids. Fauna of the USSR*. Leningrad: Nauka; 1977; 4(4). (In Russ.)].

14. Виноградов В.С., Аргиропуло А.И. Фауна СССР. Млекопитающие. Определитель грызунов. М.: Изд-во АН СССР; 1941. [Vinogradov VS, Argiropulo AI. *Fauna of the USSR. Mammals. Rodents indicator*. Moscow; 1941. (In Russ.)].

15. Takano A, Toyomane K, Konnai S, Ohashi K, Nakao M, Ito T, et al. Tick surveillance for relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Hokkaido, Japan. *PLoS One*. 2014; 9(8): e104532. doi: 10.1371/journal.pone.0104532

16. Mina MJ, Burke RM, Klugman KP. Estimating the prevalence of coinfection with influenza virus and the atypical bacteria *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Mycoplasma pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33(9): 1585-1589. doi: 10.1007/s10096-014-2120-0

17. Алферова М.А., Михалевич И.М., Рожкова Н.Ю. Основы прикладной статистики (использование программы Statistica в медицинских исследованиях). Иркутск: РИО Государственный институт усовершенствования врачей; 2005. [Alferova MA, Mikhalevich IM, Rozhkova NYu. *Fundamentals of applied statistics (using the Statistica software in medical research)*. Irkutsk; 2005. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Лагунова Екатерина Константиновна – лаборант-исследователь лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lagunovakatya1994@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-3688-023X>

Хаснатинов Максим Анатольевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

Данчинова Галина Анатольевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3970>

Information about the authors

Ekaterina K. Lagunova – Laboratory Assistant at the Laboratory of Vector-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lagunovakatya1994@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-3688-023X>

Maxim A. Khasnatinov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Vector-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

Galina A. Danchinova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Vector-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3970>

Статья опубликована в рамках Международной научно-практической конференции «Актуальные природно-очаговые инфекции».

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ БЛОКАДА КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ II ТИПА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ

Ерофеева А.-М.В.¹,
Пинчук С.В.²,
Рябцева С.Н.¹,
Молчанова А.Ю.¹

¹ ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»
(220072, г. Минск, ул. Академическая, 28, Республика Беларусь)
² ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»
(220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, Республика Беларусь)

Автор, ответственный за переписку:
Ерофеева Анна-Мария Вадимовна,
e-mail: amyerofeyeva@zoho.eu

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить антиноцицептивный и репаративный эффекты мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) на фоне фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов CB_2 в модели периферической нейропатической боли.

Материал и методы. У 40 крыс-самцов Wistar осуществили моделирование периферической нейропатии (НП) путём иссечения участка седалищного нерва. На 7-е сутки исследования проведена трансплантация МСК ЖТ (1×10^6 клеток/кг) в область повреждения седалищного нерва без дополнительных воздействий, а также после локального введения антагониста CB_2 -рецептора AM630 и предварительной инкубации с AM630. В течение 90 суток регистрировали ноцицептивную чувствительность и анализировали походку крыс с помощью CatWalk XT (Noldus, Нидерланды). На 21-е и 90-е сутки проведена оценка гистоструктуры дистального сегмента седалищного нерва после аксотомии.

Результаты. Фармакологическая блокада CB_2 -рецепторов как на мембранах МСК ЖТ, так и в мягких тканях, окружающих место повреждения седалищного нерва, приводила к снижению порога и латентного периода ноцицептивной реакции с 28-х суток исследования по сравнению с группой крыс с НП и группой животных после трансплантации только МСК ЖТ. После локального введения AM630 перед трансплантацией МСК ЖТ отмечены ухудшение параметров походки, вызванные НП, и увеличение доли повреждённых нервных волокон в дистальном сегменте седалищного нерва. Трансплантация МСК, преинкубированных с AM630, не оказывала существенного влияния на скорость восстановления параметров походки, к 90-м суткам исследования сопровождалась снижением числа повреждённых нервных волокон.

Заключение. Блокада CB_2 -рецепторов как на мембранах МСК, так в зоне повреждения периферического нерва сопровождается снижением антиноцицептивного эффекта МСК при их локальной трансплантации и подавляет репаративное действие МСК.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, нейропатическая боль, седалищный нерв, каннабиноидные рецепторы, фармакологическая блокада CB_2 -рецепторов

Статья поступила: 25.05.2023
Статья принята: 17.11.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Ерофеева А.-М.В., Пинчук С.В., Рябцева С.Н., Молчанова А.Ю. Фармакологическая блокада каннабиноидных рецепторов II типа при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатической боли. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 141-152. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.13

PHARMACOLOGICAL BLOCKADE OF CANNABINOID TYPE II RECEPTORS AND MESENCHYMAL STEM CELL TRANSPLANTATION IN A MODEL OF PERIPHERAL NEUROPATHIC PAIN

Yerofeyeva A.-M.V.¹,
Pinchuk S.V.²,
Rjabceva S.N.¹,
Molchanova A.Yu.¹

¹ Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya str. 28, Minsk 220072, Republic of Belarus)

² Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya str. 28, Minsk 220072, Republic of Belarus)

Corresponding author:
Anna-Maria V. Yerofeyeva,
e-mail: amyerofeyeva@zoho.eu

ABSTRACT

Objective. To evaluate the anti-nociceptive and reparative effects of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) under the pharmacological blockade of cannabinoid CB₂ receptors in a model of peripheral neuropathic pain.

Material and methods. In 40 male Wistar rats, modeling of peripheral neuropathy (NP) was performed by excising a sciatic nerve. On day 7 of the study, ADMSCs (1×10^6 cells/kg) were transplanted into the area of sciatic nerve injury without additional influences or after administration of the CB₂ receptor antagonist AM630, as well as after incubation with AM630. Within 90 days, nociceptive sensitivity was studied, as well as a detailed analysis of gait using CatWalk XT (Noldus, Netherlands). On day 21 and day 90, histostucture of the distal segment of the sciatic nerve was assessed.

Results. Pharmacological blockade of CB₂ receptors both on the ADMSCs and in the soft tissues surrounding the site of sciatic nerve injury led to a decrease in withdrawal threshold and withdrawal latency from day 28 of the study compared with the group of rats with NP and transplantation of ADMSCs only. Local injection of AM630 before transplantation of ADMSCs contributed to the development of NP-induced gait disturbances and increase of the number of damaged nerve fibers in the distal segment of sciatic nerve. Transplantation of ADMSCs pretreated with AM630 did not significantly affect the rate of recovery of gait parameters, and decreased the number of damaged nerve fibers by day 90 of study.

Conclusion. Blockade of CB₂ receptors, both on the membranes of MSCs and in the area of damage to the peripheral nerve, has a negative effect on the development of the anti-nociceptive and reparative effects of MSCs.

Key words: mesenchymal stem cells, neuropathic pain, sciatic nerve, cannabinoid receptors, pharmacological blockade of CB₂ receptors

Received: 25.05.2023

Accepted: 17.11.2023

Published: 29.12.2023

For citation: Yerofeyeva A.-M., Pinchuk S., Rjabceva S., Molchanova A. Pharmacological blockade of cannabinoid type II receptors and mesenchymal stem cell transplantation in a model of peripheral neuropathic pain. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 141-152. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.13

ВВЕДЕНИЕ

Хронические болевые синдромы нейрогенного происхождения, связанные с повреждением или дисфункцией периферических звеньев соматосенсорной нервной системы [1], встречаются у 7–20 % жителей Европы [2] и у 30–50 % населения планеты [3]. Клеточная терапия с использованием мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) представляется перспективной в отношении повреждений периферических нервов и связанных с ними болевых синдромов [4, 5]; их антиноцицептивный эффект при локальной трансплантации показан в моделях нейропатии различной этиологии [6–11]. Способность МСК купировать нейропатическую боль в настоящее время связывают главным образом с подавлением локальной воспалительной реакции путём секреции ряда паракринных факторов [5], однако механизмы активации данных процессов не до конца раскрыты.

Каннабиноидные CB_2 -рецепторы участвуют в модуляции трансдукции, передаче и обработке ноцицептивного сигнала как на периферическом, так и на центральном уровне соматосенсорной нервной системы [12] и являются мишенью для купирования болевого синдрома. МСК способны продуцировать лиганды CB_2 -рецепторов [13], что может быть одним из механизмов их анальгетического действия. С другой стороны, CB_2 -рецепторы присутствуют в МСК и участвуют в поддержании их жизнеспособности и метаболической активности [13–16], что указывает о возможном взаимодействии МСК с эндогенными каннабиноидами в области трансплантации. Для понимания роли CB_2 -рецепторов в реализации анальгетического и репаративного действия МСК при локальном введении в область повреждения периферического нерва необходимо исследовать изменения эффектов МСК в условиях блокады данных рецепторов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка антиноцицептивного и репаративного эффектов мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на фоне фармакологической блокады каннабиноидных CB_2 -рецепторов в модели периферической нейропатической боли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 180–200 г. Животных содержали в виварии ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» со свободным доступом к воде и пище и циклом день/ночь 12/12 ч. Методом простой рандомизации (с использованием таблицы случайных чисел) животных разделили на 4 группы, в каждой группе $n = 10$:

1) крысы с моделью периферической нейропатии (НП) без лечения (группа НП);

2) крысы с моделью НП и трансплантацией аллогенных МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва (группа НП + МСК ЖТ);

3) крысы с моделью НП и трансплантацией МСК ЖТ при фармакологической блокаде CB_2 -рецепторов в мягких тканях области повреждения седалищного нерва (группа НП + AM630 + МСК ЖТ);

4) крысы с моделью НП и трансплантацией МСК ЖТ, которым осуществили фармакологическую блокаду CB_2 -рецепторов при предварительном инкубировании с селективным антагонистом (группа НП + пре-AM630-МСК ЖТ).

Все манипуляции с экспериментальными животными проведены с соблюдением принципов биоэтики, изложенных в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Протокол исследования одобрен Комиссией по биоэтике при ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» (протокол № 1 от 02.02.2023).

Хирургические манипуляции. Моделирование НП осуществляли на левой задней конечности крыс путём аксотомии участка седалищного нерва размером 0,5 см, согласно ранее описанной методике [8]. Операцию проводили под общим наркозом, индуцируемым внутривенной инъекцией тиопентала натрия (ОАО «Синтез», Россия) в дозе 20 мг/кг с применением местной анестезии (гидрохлорид лидокаина (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь), 0,1 мл внутримышечно).

Трансплантация МСК ЖТ. На 7-е сутки после моделирования НП экспериментальным группам вводили МСК ЖТ в количестве 1×10^6 клеток/кг. МСК ЖТ, выделенные из висцерального жира интактных крыс, согласно ранее описанной методике [17], культивировали в CO_2 -инкубаторе (37 °C; 5%-й CO_2) до 3-го пассажа. На проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США) исследован фенотип МСК ЖТ по наличию характерных маркеров CD29, CD44 и CD90 и отсутствию гемопоэтического маркера CD45. Суспензию клеток в фосфатно-солевом (PBS, phosphate-buffered saline) буфере (pH = 7,2; Sigma-Aldrich, Германия) вводили внутримышечно инсулиновым шприцом с интегрированной иглой 30 G четырьмя инъекциями вокруг зоны оперативного иссечения участка нерва по воображаемому циферблату на 3, 6, 9 и 12 часов.

Фармакологическая блокада CB_2 -рецепторов. С целью блокады CB_2 -рецепторов на мембранах МСК ЖТ клетки инкубировали с селективным антагонистом AM630 (Sigma-Aldrich, Германия) в течение 24 ч (2 μ M). Фармакологическую блокаду CB_2 -рецепторов в мягких тканях области повреждения седалищного нерва осуществляли путём внутримышечного введения AM630 (100 мкг/кг) за 15 мин до трансплантации МСК ЖТ. Антагонист AM630 разводили в растворителе, состоящем из стерильного PBS-буфера (pH = 7,4; Sigma-Aldrich, Германия) и 0,2%-го диметилсульфоксида (NeoFroxx GmbH, Германия).

Оценка ноцицептивной чувствительности. Для определения ноцицептивной чувствительности на механический стимул (порога ноцицептивной реак-

ции (ПНР)) использовали алгезиметр «Рэндалла-Селитто» (Panlab, Испания), для определения ноцицептивной чувствительности на термический стимул (латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР)) – алгезиметр «Горячая пластина» (Panlab, Испания) [18]. Измерения проводили трёхкратно с интервалом 5–7 мин. Оценку ноцицептивной чувствительности проводили на 0-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 60-е и 90-е сутки исследования.

Анализ параметров походки. Детальный анализ походки проводили с использованием аппаратно-программного комплекса CatWalk XT 10.6 (Noldus, Нидерланды). Установка позволяет проводить качественную и количественную оценку параметров походки во время непринуждённого передвижения животного по стеклянному подиуму. Интенсивность зелёного света в месте контакта лап с поверхностью стеклянного подиума, подсвечиваемого зелёной LED-подсветкой, фиксировали высокоскоростной видеокамерой с широкоугольным объективом Gevica GP-3360 (GEViCAM Inc., США), расположенной под коридором. Анализ отпечатков лап и подсчёт параметров походки осуществляли с помощью программного обеспечения данного аппаратно-программного комплекса. До начала исследования животных адаптировали к прибору и условиям записи пробежек. Пробежки каждого животного регистрировали в тёмном вентилируемом помещении по 3 раза с максимальным уровнем вариативности шага 60 % и временем пробежки не более 5,00 с. В анализ включали статические и динамические параметры, которые в данной модели отражают степень тонических болевых ощущений, а также косвенно демонстрируют функциональное состояние седалищного нерва. Динамические параметры включали:

- Stand time – длительность фазы опоры лапы на поверхность;
- Swing time – длительность фазы переноса лапы в воздухе;
- Duty cycle – рабочий цикл лапы, отношение длительности фазы опоры лапы к длительности полного цикла шага.

Статические параметры походки:

- Print length – длина отпечатка;
- Print width – ширина отпечатка;
- Print area – площадь отпечатка;
- Max contact area – площадь отпечатка при наиболее интенсивном контакте лапы с поверхностью;
- Max intensity – максимальная интенсивность отпечатка лапы;
- Mean intensity – средняя интенсивность отпечатка лапы;
- Sciatic functional index (SFI) – функциональный седалищный индекс (ФСИ).

Данные параметры были отобраны на основании предыдущих исследований [6–7, 19]. Для исключения влияния скорости пробежек и массы тела животных на показатели параметров походки данные рассчитывали в процентах от контралатеральной задней конечности, кроме ФСИ.

Оценка гистоструктуры седалищного нерва.

На 21-е и 90-е сутки исследования осуществлён забор дистального сегмента седалищного нерва для гистоло-

гического исследования. Материал фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Просмотр и оцифровку полученных препаратов осуществляли на световом микроскопе Optec BK 5000 с цифровой камерой (Optec, Китай) на увеличении $\times 400$. На поперечных срезах седалищного нерва осуществлён подсчёт процентного содержания нормальных и повреждённых нервных волокон [20]. Оценка морфометрических параметров осуществлялась в поле зрения микроскопа на увеличении $\times 400$ (площадью 67072,0 мкм²) не менее чем в пяти полях зрения.

Статистика. Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Данные проверяли на нормальность распределения критерием Шапиро – Уилка. При нормальном распределении признака результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$); при ненормальном – как медиана и квартили ($Me (Q25; Q75)$). Отличия в показателях ноцицептивной чувствительности и параметров походки оценивали с помощью дисперсионного анализа повторных измерений с апостериорными сравнениями методом наименьшей значимой разницы. Морфометрические данные сравнивали критерием Краскелла – Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями. Вывод о статистической значимости отличий делали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменения ноцицептивной чувствительности.

На 7-е сутки после моделирования НП наблюдали развитие механической и термической гипералгезии. Об этом свидетельствовало снижение показателей ПНР ипсилатеральной конечности на 35,5 % ($c 136,0 \pm 1,9$ до $87,7 \pm 2,0$ г) и ЛПНР на 34,3 % ($c 18,1 \pm 0,6$ до $11,9 \pm 0,4$ с) относительно исходных значений ($p < 0,001$) (рис. 1а, б). На протяжении исследования не отмечено тенденции к восстановлению показателей ПНР и ЛПНР до первоначальных значений. ПНР контралатеральной здоровой конечности статистически значимо не изменялся на протяжении исследования ($p > 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками; рис. 1а).

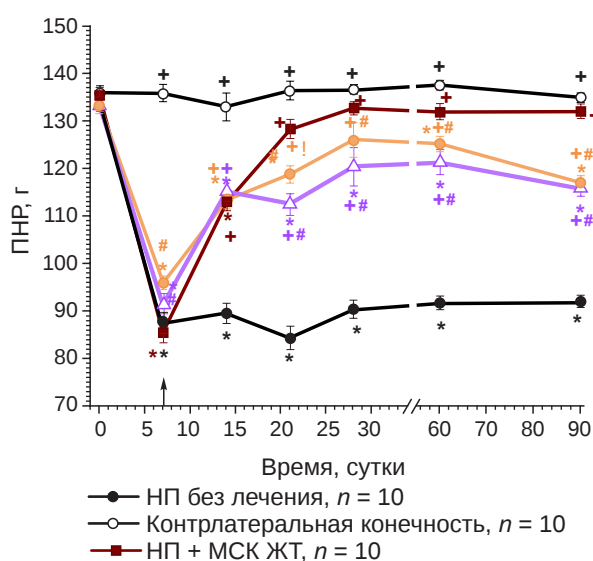
Однократное внутримышечное введение МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва приводило к увеличению ПНР ипсилатеральной конечности к 14-м суткам на 32,3 % ($c 85,4 \pm 2,0$ до $113,0 \pm 1,9$ г; $p < 0,001$ к 7-м суткам; рис. 1а), ЛПНР – на 17,1 % ($c 11,7 \pm 0,5$ до $13,7 \pm 0,5$ с; $p < 0,001$ к 7-м суткам; рис. 1б). К 21-м суткам исследования ПНР ипсилатеральной конечности увеличился уже до $129,4 \pm 2,0$ г ($p < 0,001$ к 7-м суткам; $p > 0,05$ к 0-м суткам; рис. 1а), а ЛПНР – до $16,2 \pm 0,5$ с (на 38,5 % выше; $p < 0,001$ к 7-м суткам; $p > 0,05$ к 0-м суткам; рис. 1б). Далее по 90-е сутки включительно ПНР и ЛПНР статистически значимо не отличались от исходных значений ($p > 0,05$; рис. 1а, б). Введение МСК ЖТ крысам с НП также статистически значимо повышало их ПНР и ЛПНР при сравнении с нелечеными животными уже на 14-е сутки исследования: ПНР был выше на 26,2 % ($p < 0,001$), а ЛПНР – на 20,2 % ($p < 0,001$). С 21-х суток и далее увели-

чение ПНР относительно группы НП без лечения составило 53,5 % ($p < 0,001$), ЛПНР – 54,3 % ($p < 0,001$).

Введение антагониста AM630 в дозе 100 мкг/кг в область повреждения нерва крысам с НП на 7-е сутки исследования не приводило к статистически значимым изменениям ПНР ипсилатеральной конечности, а также ЛПНР через 15 мин (табл. 1).

Введение МСК ЖТ через 15 мин после фармакологической блокады CB_2 -рецепторов в области повреждения седалищного нерва приводило к увеличению ПНР на 14-е сутки эксперимента на 21,9 % относительно значений на 7-е сутки ($94,5 \pm 2,1$ до $115,2 \pm 2,6$ г;

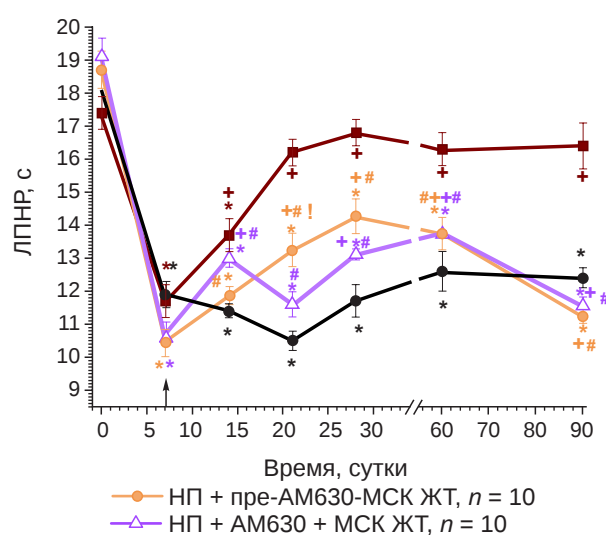
$p < 0,001$). При этом данные значения статистически значимо не отличались от группы НП + МСК ЖТ ($p > 0,05$), но были на 18,7 % выше, чем в группе НП без лечения ($p < 0,001$). К 21-м суткам ПНР имел тенденцию к снижению по сравнению с группой НП + МСК ЖТ и тенденцию к повышению на 33,3 % по сравнению с группой НП без лечения ($p < 0,001$). На 28-е сутки ПНР возрастал до $120,4 \pm 4,1$ г, что на 9,3 % было ниже значений группы НП + МСК ЖТ ($p < 0,001$) и на 33,2 % выше, чем у нелеченых крыс ($p < 0,001$; рис. 1а). В дальнейшем наблюдали тенденцию к снижению ПНР (рис. 1а). В отношении ЛПНР к 14-м суткам исследования наблюдали увеличение данного показателя



а

РИС. 1.

Динамика ноцицептивной чувствительности к механическому (а) и термическому (б) стимулам у крыс с НП, трансплантацией МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов антагонистом AM630: стрелкой обозначено время трансплантации МСК ЖТ; * – $p < 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками; + – $p < 0,05$ по сравнению с НП без лечения; # – $p < 0,05$ по сравнению с НП + МСК ЖТ; ! – $p < 0,05$ по сравнению с НП + AM630 + МСК ЖТ



б

FIG. 1.

Dynamics of nociceptive sensitivity to mechanical (а) and thermal (б) stimuli in rats with neuropathy, transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells upon pharmacological blockade of CB_2 receptors by the AM630 antagonist: the arrow indicates the time of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; * – $p < 0,05$ compared to day 0; + – $p < 0,05$ compared to the group with neuropathy without treatment; # – $p < 0,05$ compared to the group with neuropathy and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; ! – $p < 0,05$ compared to the group with neuropathy, pharmacological blockade with the AM630 antagonist and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells

ТАБЛИЦА 1

ПОКАЗАТЕЛИ НОЦИЦЕПТИВНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС С НП ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ АНТАГОНИСТА AM630 В ОБЛАСТЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА

Показатели	ПНР (левая лапа), г	ПНР (правая лапа), г	ЛПНР, с
0-е сутки	$133,2 \pm 1,3$	$132,5 \pm 1,0$	$19,1 \pm 0,6$
7-е сутки	$91,2 \pm 1,8^*$	$133,9 \pm 0,9$	$10,6 \pm 0,3^*$
Через 15 мин после введения AM630	$94,5 \pm 2,1^*$	$131,6 \pm 1,3$	$10,7 \pm 0,3^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками.

TABLE 1

PARAMETERS OF NOCICEPTIVE SENSITIVITY IN RATS WITH NEUROPATHY AFTER ADMINISTRATION OF THE AM630 ANTAGONIST TO THE AREA OF SCIATIC NERVE INJURY

на 21,5 % относительно значений на 7-е сутки: с $10,7 \pm 0,3$ до $13,0 \pm 0,3$ с ($p < 0,001$; без статистически значимых различий с группой НП + МСК ЖТ ($p > 0,05$); на 14,0 % выше в сравнении с группой НП без лечения ($p < 0,05$) (рис. 16). К 28-м суткам отмечено увеличение ЛПНР до $13,1 \pm 0,2$ с, при этом показатель был на 22,0 % ниже значений относительно группы НП + МСК ЖТ ($p < 0,001$). К 90-м суткам исследования наблюдали выраженное снижение ЛПНР до $11,5 \pm 0,3$ с ($p > 0,05$ по сравнению с НП без лечения; $p < 0,001$ по сравнению с НП + МСК ЖТ; рис. 16).

Введение МСК ЖТ, преинкубированных с АМ630, способствовало увеличению ПНР ипсилатеральной конечности на 14-е сутки исследования на $18,3$ % относительно значений на 7-е сутки (с $95,9 \pm 1,4$ до $113,4 \pm 2,0$ г; $p < 0,001$; рис. 1а) и ЛПНР – на $13,3$ % относительно значений на 7-е сутки (с $10,5 \pm 0,4$ до $11,9 \pm 0,3$ с; $p < 0,001$). При этом ПНР не отличался от значений в группе НП + МСК ЖТ ($p > 0,05$) и в группе НП + АМ630 + МСК ЖТ ($p > 0,05$), а ЛПНР был на $13,1$ % ниже значений группы НП + МСК ЖТ и статистически значимо не отличался от группы с НП без лечения ($p > 0,05$). К 21-м суткам оба показателя в данной группе были ниже таковых у крыс, получивших только МСК ЖТ, на $8,3$ % ($p < 0,05$) и $18,5$ % ($p < 0,001$) соответственно, но выше, чем у группы НП + АМ630 + МСК ЖТ, на $5,6$ % и $13,8$ % соответственно ($p < 0,05$). К 90-м суткам наблюдали снижение ПНР до $117,0 \pm 1,5$ г ($p < 0,001$ к группе НП без лечения; $p < 0,001$ к группе НП + МСК ЖТ), ЛПНР – до $11,3 \pm 0,2$ с ($p > 0,05$ к НП без лечения; $p < 0,001$ к НП + МСК ЖТ).

При сравнении обоих способов фармакологической блокады CB_2 -рецепторов установлено, что после трансплантации преинкубированных с АМ630 МСК ЖТ наблюдали повышение ПНР относительно группы НП + АМ630 + МСК ЖТ на 21-е сутки исследования на $5,6$ % ($p < 0,05$), а также снижение ЛПНР на 14-е сутки на $8,5$ % ($p < 0,05$) с последующим повышением на 21-е сутки исследования на $13,8$ % ($p < 0,02$). На более поздних сроках исследования не выявлено статистически значимых различий исследуемых показателей между данными группами. В целом трансплантация МСК ЖТ после локальной инъекции АМ630 приводила к более выраженному снижению антиноцицептивного действия МСК ЖТ.

Динамические параметры походки. В группе НП без лечения с 7-х суток эксперимента наблюдали сокращение длительности фазы опоры ипсилатеральной конечности до $91,0$ % ($p < 0,001$), рабочего цикла – до $95,4$ % ($p < 0,001$), при этом статистически значимых отличий в длительности фазы переноса не наблюдалось ($p > 0,05$; рис. 2в). К 21-м суткам исследования наступало адаптационное восстановление вышеописанных параметров (рис. 2а, б).

После введения МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг в область перерезки седалищного нерва к 14-м суткам наблюдали восстановление длительности фазы опоры (до $98,4$ %) и рабочего цикла (до $101,9$ %) (рис. 2а, б), далее не выявлено каких-либо изменений. После введения МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов в области перерезки седалищного нерва восстановление длительности фазы опоры фиксирова-

ли к 60-м суткам исследования (рис. 2а), рабочего цикла – на 90-е сутки исследования (рис. 2б). На 28-е сутки эксперимента отмечено снижение длительности фазы опоры ипсилатеральной конечности по сравнению с группой НП без лечения (на $8,1$ %; $p < 0,005$) и рабочего цикла (на $5,1$ %; $p < 0,01$). По сравнению с группой НП + МСК ЖТ, длительность фазы опоры ипсилатеральной лапы была ниже на 21-е (на $7,1$ %; $p < 0,05$) и на 28-е (на $8,8$ %; $p < 0,002$) сутки исследования; рабочий цикл – на 14-е (на $6,8$ %; $p < 0,005$) и 60-е (на $4,9$ %; $p < 0,02$) сутки исследования. Введение пре-АМ630-МСК ЖТ приводило к восстановлению длительности фазы опоры к 14-м суткам до $99,2$ % ($p > 0,05$ к 0-м суткам; $p < 0,05$ к группе НП без лечения) и рабочего цикла – до $100,5$ % ($p > 0,05$ к 0-м суткам; $p < 0,05$ к группе НП без лечения). Статистически значимых отличий по динамическим параметрам от группы НП + МСК ЖТ не было выявлено, а паттерн изменений указанных параметров походки в этих двух группах носил схожий характер.

Функциональный седалищный индекс. Данный показатель в группе НП без лечения снизился в 2,3 раза – на $229,9$ % (с $-7,65 \pm 0,30$ до $-24,99 \pm 2,45$; $p < 0,001$ по сравнению с данными на 0-е сутки) к 7-м суткам исследования (рис. 2г). Тенденция к восстановлению данного показателя наблюдалась лишь с 60-х суток исследования, однако к 90-м суткам восстановления ФСИ до исходного уровня не отмечено ($p < 0,01$) (рис. 2г). После трансплантации МСК ЖТ к 14-м суткам исследования наблюдали восстановление ФСИ до $-7,75 \pm 1,57$. Далее на протяжении исследования не наблюдали статистически значимых изменений ФСИ в сравнении со значениями на 0-е сутки. При введении АМ630 за 15 мин до трансплантации МСК ЖТ к 14-м суткам исследования отмечено частичное восстановление ФСИ (до $-16,75 \pm 1,74$; $p < 0,002$ к 0-м суткам; $p < 0,05$ к группе НП без лечения). С 21-х суток исследования показатель снова снизился до уровня группы НП без лечения (до $-26,69 \pm 3,05$; $p < 0,001$ к 0-м суткам; $p > 0,05$ к группе НП без лечения). ФСИ в данной группе вернулся к исходному уровню лишь к 90-м суткам исследования (до $12,10 \pm 1,85$), но при этом статистически значимо не отличался от НП без лечения. По сравнению с группой НП + МСК ЖТ ФСИ в данной группе был статистически значимо снижен на 14-е ($p < 0,001$), 21-е ($p < 0,001$) и 28-е ($p < 0,001$) сутки эксперимента. После трансплантации преинкубированных с АМ630 МСК ЖТ к 21-м суткам ФСИ полностью восстановился (до $-9,16 \pm 1,12$; $p > 0,05$ к 0-м суткам; $p < 0,001$ к группе НП без лечения). По сравнению с группой НП + МСК ЖТ ФСИ в данной группе был ниже на 14-е сутки исследования (на $76,4$ %; $p < 0,005$).

Статические параметры походки. С 28-х суток и далее в группе НП без лечения отмечено снижение длины отпечатка травмированной конечности по сравнению с 0-ми сутками до $93,6$ % ($p < 0,02$; рис. 3а), ширины отпечатка – до $96,1$ % ($p < 0,001$; рис. 3б). Площадь отпечатка ипсилатеральной конечности снизилась до $84,5$ % от контралатеральной конечности ($p < 0,001$; рис. 3в), площадь максимального контакта – до $84,7$ %, ($p < 0,005$; рис. 3е), максимальная интенсивность отпе-

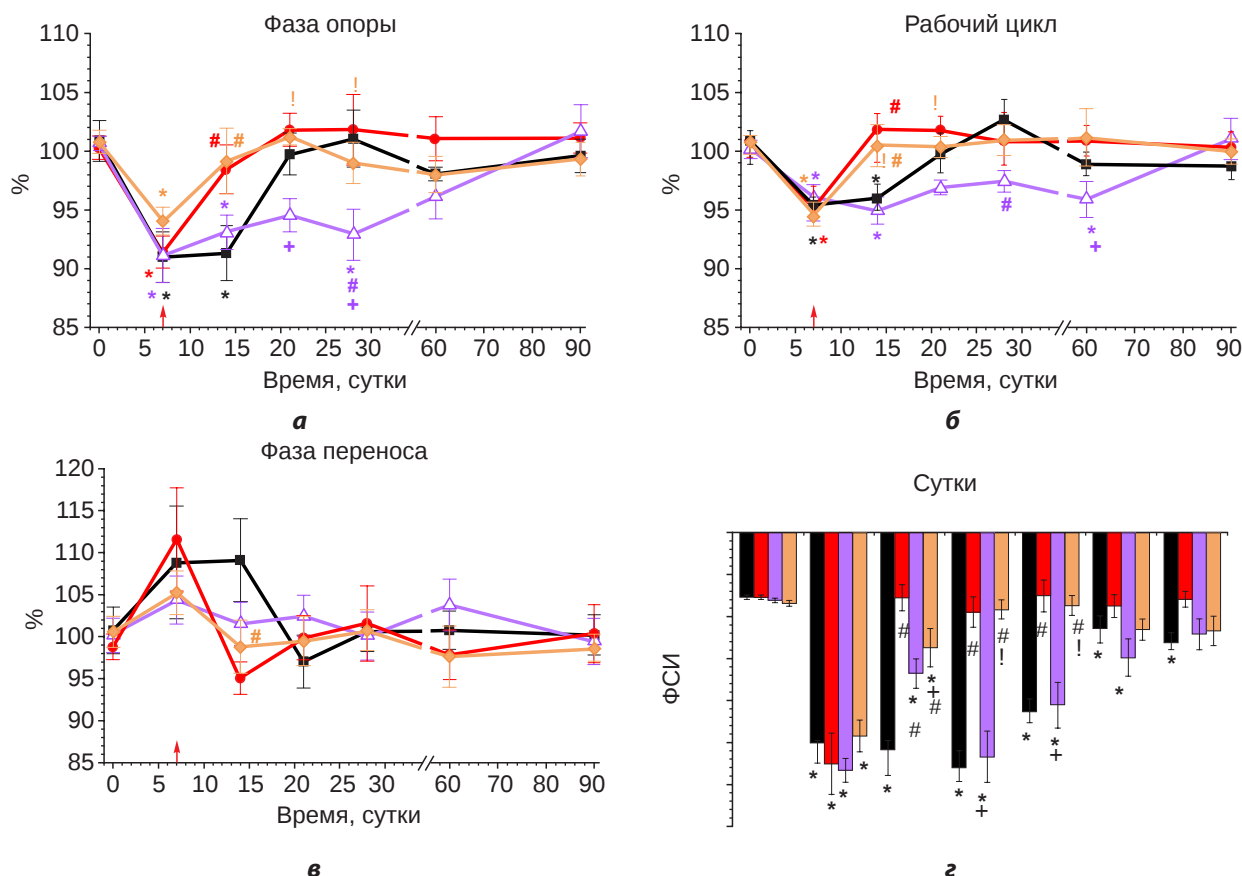


РИС. 2.

Изменения динамических параметров походки (а–в), а также функционального седалищного индекса (г) у крыс после моделирования НП, трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов антагонистом АМ630: стрелкой обозначено время трансплантации; * – $p < 0,05$ к значениям до моделирования НП; # – $p < 0,05$ к группе НП без лечения; + – $p < 0,05$ к НП + МСК ЖТ; ! – $p < 0,05$ к группе НП + АМ630 + МСК ЖТ

FIG. 2.

Changes in dynamic gait parameters (а–в) and sciatic functional index (г) in rats with neuropathy, transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells upon pharmacological blockade of CB_2 -receptors by the AM630 antagonist: the arrow indicates the time of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; * – $p < 0.05$ compared to day 0; + – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy without treatment; # – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; ! – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy, pharmacological blockade with the AM630 antagonist and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells

чатка – до 91,5 % ($p < 0,001$; рис. 3г), средняя интенсивность – до 98,3 % ($p < 0,01$; рис. 3д). Тенденции к восстановлению статических параметров походки у животных данной группы не было отмечено по 90-е сутки наблюдения включительно.

После трансплантации МСК ЖТ на протяжении исследования не наблюдали статистически значимых изменений статических параметров. Относительно группы НП без лечения наблюдали увеличение площади отпечатка и площади максимального контакта отпечатка, а также параметров интенсивности на 28-е ($p < 0,005$) и 60-е ($p < 0,02$) сутки эксперимента. При трансплантации МСК ЖТ через 15 мин после введения АМ630 с 21-х суток эксперимента наблюдали снижение площади отпечатка до 90,2 % от контралатеральной конечности ($p < 0,002$ к 0-м суткам; рис. 3в). По сравнению с группой НП без лечения на 21-е сутки исследования отмечено сокращение ширины отпечатка до 93,8 % ($p < 0,001$), максимальной

интенсивности отпечатка – до 102,5 % ($p < 0,001$), средней интенсивности – до 100,3 % ($p < 0,005$; рис. 3б, г, д). Относительно группы НП + МСК ЖТ площадь отпечатка лапы была ниже на 21-е ($p < 0,05$), 28-е ($p < 0,05$) и 60-е ($p < 0,005$) сутки эксперимента; площадь максимального контакта – на 28-е и 60-е сутки эксперимента ($p < 0,05$). Другие параметры походки не отличались по сравнению с группой НП + МСК ЖТ. После трансплантации пре-АМ630-МСК ЖТ не отмечено статистически значимых изменений статических параметров походки относительно значений до моделирования НП, а также относительно группы НП + МСК ЖТ.

Изменения гистологической структуры седалищного нерва. Содержание нормальных и повреждённых нервных волокон дистального сегмента седалищного нерва экспериментальных групп оценивали по состоянию миелиновой оболочки и расположению осевого цилиндра в нервном волокне. Нормальные нервные во-

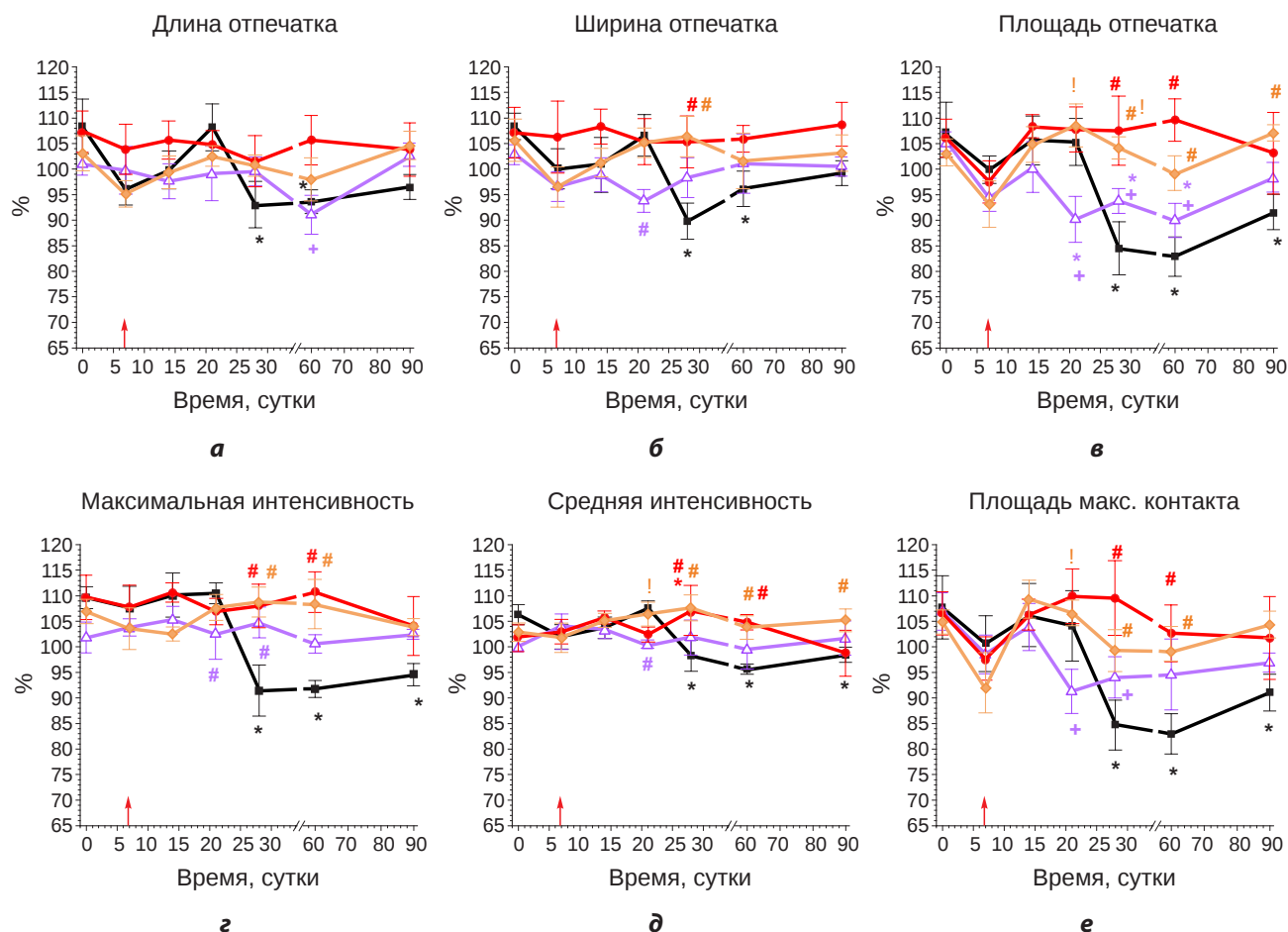


РИС. 3.

Изменения статических параметров походки: длины и ширины отпечатка (а, б), площади отпечатка (в, е), а также параметров интенсивности (г, д), – у крыс после моделирования НП, трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов антагонистом AM630. Стрелкой обозначено время трансплантации; * – $p < 0,05$ к значениям до моделирования НП; # – $p < 0,05$ к группе НП без лечения; + – $p < 0,05$ к НП + МСК ЖТ; ! – $p < 0,05$ к группе НП + AM630 + МСК ЖТ

FIG. 3.

Dynamics of static gait parameters: print length and width (a, б), print area (в, е) and print intensity (г, д) in rats with neuropathy, transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells upon pharmacological blockade of CB_2 -receptors by the AM630 antagonist. the arrow indicates the time of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; * – $p < 0.05$ compared to day 0; + – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy without treatment; # – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; ! – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy, pharmacological blockade with the AM630 antagonist and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells

локна представляли собой чётко дифференцированные осевые цилиндры, вокруг которых определялась равномерно окрашенная миелиновая оболочка с чёткими границами. Повреждённые нервные волокна характеризовались набуханием, вакуольной дегенерацией миелиновой оболочки, размытием границ нервного волокна, при этом осевой цилиндр был смещён к периферии либо не определялся на гистологических срезах (рис. 4).

В группе НП без лечения на 21-е сутки эксперимента содержание нормальных и повреждённых нервных волокон в дистальном сегменте седалищного нерва составляло 13 [11,75; 14] % и 87 [86; 87,5] % соответственно (табл. 2; рис. 4в).

После трансплантации МСК ЖТ на 21-е сутки исследования в дистальном сегменте седалищного нерва доля сохранных нервных волокон была статистически

значимо выше по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,002$; рис. 4а).

После введения МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов в мягких тканях области перерезки седалищного нерва на 21-е сутки не наблюдали статистически значимых изменений содержания нормальных и повреждённых нервных волокон в сравнении с группой НП без лечения ($p = 0,326$), однако их количество было существенно ниже по сравнению с группой НП + МСК ЖТ ($p = 0,004$).

К 90-м суткам исследования при НП без лечения наблюдали 74 [72; 74] % повреждённых нервных волокон и 13 [11; 14] % неизменённых (табл. 2). После трансплантации МСК ЖТ на 90-е сутки исследования количество повреждённых нервных волокон было статистически значимо ниже таковых при НП без лечения ($p = 0,001$).

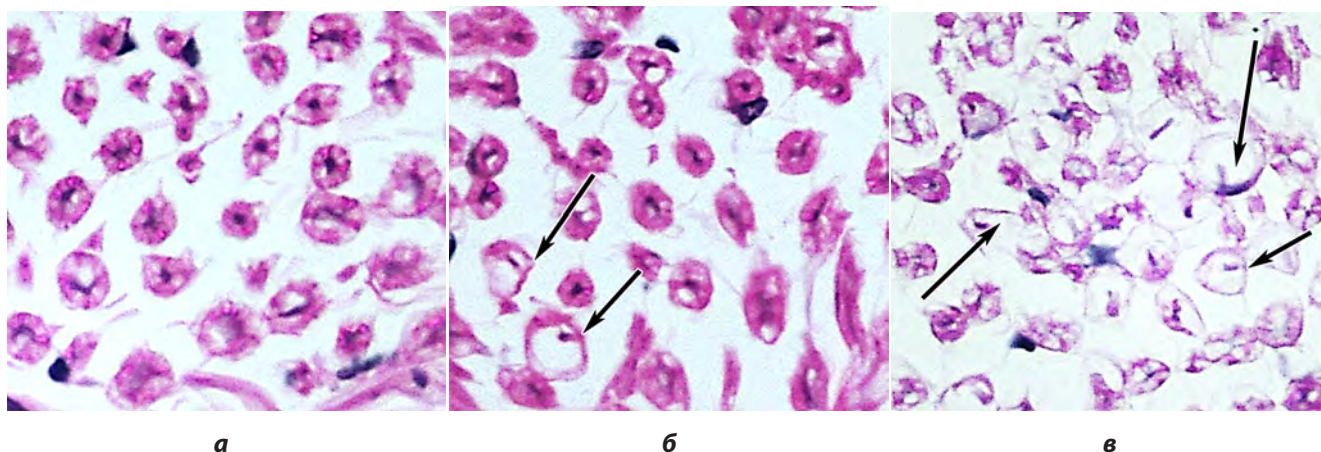


РИС. 4.
Миелиновые нервные волокна седалищного нерва крысы: **а** – сохранённые нервные волокна фрагмента дистального участка седалищного нерва животного из группы после введения МСК ЖТ, 21-е сутки; **б** – наличие дистрофически изменённых нервных волокон (стрелки) в дистальном фрагменте седалищного нерва животного из группы НП + преАМ630-МСК ЖТ, 21-е сутки; **в** – наличие дистрофически изменённых нервных волокон (стрелки) в дистальном фрагменте седалищного нерва группы животных НП без лечения. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

FIG. 4.
Myelinated nerve fibers of rat's sciatic nerve: **а** – preserved nerve fibers of the distal part of the sciatic nerve of animal from the group after of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells, day 21; **б** – dystrophic nerve fibers (arrows) in the distal fragment of the sciatic nerve of the animal from the group with neuropathy and transplantation of pre-AM630 and adipose-derived mesenchymal stem cells, day 21; **в** – dystrophic altered nerve fibers (arrows) in the distal fragment of the sciatic nerve of the animal from the group with neuropathy without treatment, day 21. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 400$

ТАБЛИЦА 2
СОДЕРЖАНИЕ НОРМАЛЬНЫХ И ПОВРЕЖДЁННЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН ДИСТАЛЬНОГО СЕГМЕНТА СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГРУПП НА 21-Е И 90-Е СУТКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 2
THE CONTENT OF NORMAL AND DAMAGED NERVE FIBERS OF THE SCIATIC NERVE DISTAL SEGMENT OF THE ANIMALS FROM EXPERIMENTAL GROUPS ON THE DAYS 21 AND 90 OF THE STUDY

Группа	% нормальных нервных волокон	% повреждённых нервных волокон
21-е сутки исследования		
НП без лечения	13 [11,75; 14]	87 [86; 87,5]
НП + МСК ЖТ	86 [84; 86]*	14 [13; 16]*
НП + АМ630 + МСК ЖТ	48 [48; 48] [#]	52 [51; 52] [#]
НП + преАМ630-МСК ЖТ	55 [49; 55]	45 [38; 51]
90-е сутки исследования		
НП без лечения	26 [25; 28]	74 [72; 74]
НП + МСК ЖТ	61 [61; 63]*	37 [37; 39]*
НП + АМ630 + МСК ЖТ	37 [26; 37] [#]	63 [60; 74] [#]
НП + преАМ630-МСК ЖТ	65 [56,5; 65]*; [!]	35 [32; 43,5]*; [!]

Примечание. * – $p < 0,05$ к НП без лечения; [#] – $p < 0,05$ к НП + МСК; [!] – $p < 0,05$ между преинкубированием и локальным введением (критерий Краскелла – Уоллиса)

После введения МСК ЖТ на фоне локального введения антагониста АМ630 на 90-е сутки наблюдали снижение доли повреждённых нервных волокон по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,008$) и нарастание по сравнению с группой НП + МСК ЖТ ($p = 0,036$). Трансплантация пре-АМ630-МСК приводила к 90-м суткам исследования к снижению числа повреждённых нервных волокон и увеличению числа нормальных нервных во-

локон по сравнению с НП без лечения ($p = 0,042$) и была сравнима с группой НП + МСК ЖТ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантация МСК ЖТ в настоящее время позиционируется как эффективный метод снижения прогрес-

сирования болевого синдрома воспалительного [21] и нейрогенного происхождения [6–11]. Эффективность МСК ЖТ в подавлении таких нарушений ноцицептивной чувствительности, как механическая и термическая гипералгезия и аллодиния, показана в экспериментальных моделях хронического лигирования седалищного нерва [8] и подглазничного нерва [9] у грызунов, а также в моделях частичного [8, 10] и полного травматического повреждения нерва [6–7], модели стрептозотин-индуцированной диабетической полинейропатии [11]. Тем не менее, механизмы реализуемых МСК ЖТ эффектов изучаются до сих пор. Известно, что эндоканнабиноидная система участвует в подавлении трансдукции и передачи ноцицептивного сигнала как в периферических тканях, так и в центральной нервной системе, и модуляция её компонентов служит одной из мишеней купирования болевого синдрома при нейропатической боли. С другой стороны, МСК ЖТ экспрессируют компоненты эндоканнабиноидной системы, в частности рецепторов CB_1 и CB_2 [14–16], при активации которых увеличивается секреция ими таких факторов, как фактор роста эндотелия сосудов, трансформирующий фактор роста-бета и фактор роста гепатоцитов [16]. Кроме того, активация CB_2 -рецептора на МСК приводит к снижению уровня продукции интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-8 и фактора некроза опухоли α , а также увеличению ИЛ-10 [13, 15, 22]. На основании имеющихся в литературе данных авторы предположили, что CB_2 -рецепторы являются посредниками в реализации иммуномодулирующих и антиноцицептивных эффектов МСК ЖТ.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что фармакологическая блокада CB_2 -рецепторов как на мембранах МСК, так и в мягких тканях, окружающих место повреждения седалищного нерва, способствует снижению антиноцицептивного эффекта МСК ЖТ при их трансплантации в область перерезки седалищного нерва крыс, на что указывало отсутствие восстановления ПНР и ЛПНР в соответствующих группах животных, а также усугубление механической и термической гипералгезии на поздних сроках исследования (рис. 1а, б). Блокада CB_2 -рецепторов на МСК существенно замедляла восстановление ФСИ (рис. 2г), а их деактивация в тканях в области перерезки седалищного нерва и вовсе полностью отменяла восстанавливающий ФСИ эффект МСК (рис. 2г). Приведённые выше факты в совокупности позволяют предполагать как минимум ослабление антиноцицептивных свойств МСК ЖТ в ответ на блокаду указанного рецептора.

При гистологическом исследовании дистального сегмента седалищного нерва выявлен протекторный эффект МСК, выразившийся в ослаблении дегенеративных изменений нервных волокон. Оба способа блокады CB_2 -рецепторов отменяли упомянутое протекторное действие МСК ЖТ на повреждённые нервные волокна. Содержание последних на 21-е сутки эксперимента не отличалось в этих группах от такового у нелеченых животных (табл. 2). Кроме того, на поздних сроках исследования (90 суток) блокада CB_2 -рецепторов в мягких тканях ипсилатеральной характеризовалась

более высокой долей повреждённых нервных волокон, чем в группе НП + пре-АМ630-МСК (табл. 2). В совокупности результаты данного исследования указывают на вовлечение CB_2 -рецепторов в механизмы протекторных эффектов МСК ЖТ. При этом блокада CB_2 -рецепторов на периферических нервных волокнах в большей степени сказывается на репаративном потенциале МСК, а фармакологическая инактивация этих рецепторов на самих стволовых клетках – на их антиноцицептивном действии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально подтверждено, что фармакологическая блокада CB_2 -рецепторов как на мембранах МСК ЖТ, так и в зоне повреждения периферического нерва ослабляет антиноцицептивное и репаративное действие МСК ЖТ при их локальной трансплантации. Это указывает на непосредственное участие данных рецепторов в протекторных эффектах, реализуемых МСК. Дальнейшее исследование влияния стимуляции CB_2 -рецепторов позволит оценить степень усиления антиноцицептивных и репаративных эффектов МСК ЖТ при их трансплантации в область повреждения периферического нерва.

Источник финансирования

Исследование проведено на базе ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» в рамках диссертационной работы за счёт средств республиканского бюджета.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Scholz J, Finnerup NB, Attal N, Aziz Q, Baron R, Bennett MI, et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. *Pain*. 2019; 160(1): 53-59. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001365
2. Bouhassira D. Neuropathic pain: Definition, assessment and epidemiology. *Rev Neurol (Paris)*. 2019; 175(1-2): 16-25. doi: 10.1016/j.neurol.2018.09.016
3. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, et al. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17002. doi: 10.1038/nrdp.2017.2
4. Cavalli E, Mammana S, Nicoletti F, Bramanti P, Mazon E. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2019; 33: 2058738419838383. doi: 10.1177/2058738419838383
5. Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, Ochiya T. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity. *J Clin Med*. 2019; 8(7): 1025. doi: 10.3390/jcm8071025

6. Ерофеева А.-М.В., Молчанова А.Ю. Влияние трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс с экспериментальной периферической нейропатией. *Вестці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. 2022; 19(4): 404-412. [Yerofeyeva AMV, Molchanova AYU. Impact of adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cell transplantation on nociceptive reactions and gait parameters in rats with experimental peripheral neuropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*. 2022; 19(4): 404-412. (In Russ.)]. doi: 10.29235/1814-6023-2022-19-4-404-412
7. Ерофеева А.-М.В. Влияние фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов 1 типа на эффективность трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатии. *Вестник ВГМУ*. 2022; 21(6): 46-57. [Erofeeva AMV. The impact of pharmacological blocking of type 1 cannabinoid receptors on the effectiveness of mesenchymal stem cell transplantation in experimental peripheral neuropathy. *Vitebsk Medical Journal*. 2022; 21(6): 46-57. (In Russ.)]. doi: 10.22263/2312-4156.2022.6.47
8. Guo W, Chu YX, Imai S, Yang JL, Zou S, Mohammad Z, et al. Further observations on the behavioral and neural effects of bone marrow stromal cells in rodent pain models. *Mol Pain*. 2016; 12: 1744806916658043. doi: 10.1177/1744806916658043
9. Guo W, Wang H, Zou S, Gu M, Watanabe M, Wei F, et al. Bone marrow stromal cells produce long-term pain relief in rat models of persistent pain. *Stem Cells*. 2011; 29(8): 1294-1303. doi: 10.1002/stem.667
10. Siniscalco D, Giordano C, Galderisi U, Luongo L, de Novellis V, Rossi F, et al. Long-lasting effects of human mesenchymal stem cell systemic administration on pain-like behaviors, cellular, and biomolecular modifications in neuropathic mice. *Front Integr Neurosci*. 2011; 5: 79. doi: 10.3389/fnint.2011.00079
11. Naruse K, Sato J, Funakubo M, Hata M, Nakamura N, Kobayashi Y, et al. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells improves mechanical hyperalgesia, cold allodynia and nerve function in diabetic neuropathy. *PLoS One*. 2011; 6(11): e27458. doi: 10.1371/journal.pone.0027458
12. Carey LM, Xu Z, Rajic G, Makriyannis A, Romero J, Hillard C, et al. Peripheral sensory neuron CB2 cannabinoid receptors are necessary for both CB2-mediated antinociceptive efficacy and sparing of morphine tolerance in a mouse model of anti-retroviral toxic neuropathy. *Pharmacol Res*. 2023; 187: 106560. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106560
13. Rossi F, Bernardo ME, Bellini G, Luongo L, Conforti A, Manzo I, et al. The cannabinoid receptor type 2 as mediator of mesenchymal stromal cell immunosuppressive properties. *PLoS One*. 2013; 8(11): e80022. doi: 10.1371/journal.pone.0080022
14. Roche R, Hoareau L, Bes-Houtmann S, Gonthier MP, Laborde C, Baron JF, et al. Presence of the cannabinoid receptors, CB1 and CB2, in human omental and subcutaneous adipocytes. *Histochem Cell Biol*. 2006; 126(2): 177-187. doi: 10.1007/s00418-005-0127-4
15. Xie J, Xiao D, Xu Y, Zhao J, Jiang L, Hu X, et al. Up-regulation of immunomodulatory effects of mouse bone-marrow derived mesenchymal stem cells by tetrahydrocannabinol pre-treatment involving cannabinoid receptor CB2. *Oncotarget*. 2016; 7(6): 6436-6447. doi: 10.18632/oncotarget.7042
16. Ruhl T, Karthaus N, Kim BS, Beier JP. The endocannabinoid receptors CB1 and CB2 affect the regenerative potential of adipose tissue MSCs. *Exp Cell Res*. 2020; 389(1): 111881. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.111881
17. Василевич И.Б., Пинчук С.В., Лобанок Е.С., Волотовский И.Д. Морфофункциональное состояние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс в условиях подавления окислительного стресса. *Вестці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 2014; (2): 82-88. [Vasilevich IB, Pinchuk SV, Lobanok ES, Volotovskii ID. Morphology-function state of rat adipose-derived mesenchymal stem cells under the suppression of oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*. 2014; (2): 82-88. (In Russ.)].
18. Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10: 284. doi: 10.3389/fnmol.2017.00284
19. Kappos EA, Sieber PK, Engels PE, Mariolo AV, D'Arpa S, Schaefer DJ, et al. Validity and reliability of the CatWalk system as a static and dynamic gait analysis tool for the assessment of functional nerve recovery in small animal models. *Brain Behav*. 2017; 7(7): e00723. doi: 10.1002/brb3.723
20. Choi S, Choi HJ, Cheong Y, Lim YJ, Park HK. Internal-specific morphological analysis of sciatic nerve fibers in a radiofrequency-induced animal neuropathic pain model. *PLoS One*. 2013; 8(9): e73913. doi: 10.1371/journal.pone.0073913
21. Mert T, Kurt AH, Arslan M, Çelik A, Tugtag B, Akkurt A. Anti-inflammatory and anti-nociceptive actions of systemically or locally treated adipose-derived mesenchymal stem cells in experimental inflammatory model. *Inflammation*. 2015; 38(3): 1302-1310. doi: 10.1007/s10753-014-0101-1
22. Ruhl T, Corsten C, Beier JP, Kim BS. The immunosuppressive effect of the endocannabinoid system on the inflammatory phenotypes of macrophages and mesenchymal stromal cells: a comparative study. *Pharmacol Rep*. 2021; 73(1): 143-153. doi: 10.1007/s43440-020-00166-3

Сведения об авторах

Ерофеева Анна-Мария Вадимовна – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории биологического моделирования, ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», e-mail: amyerofeeva@zoho.eu, <https://orcid.org/0000-0002-9407-9295>

Пинчук Сергей Владимирович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии клетки, ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», e-mail: pinchuksv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5499-5950>

Рябцева Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией «Центр электронной и световой микроскопии», ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», e-mail: ryabceva@physiology.by, <https://orcid.org/0000-0001-5960-3656>

Молчанова Алла Юрьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологического моделирования, ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», e-mail: kjordknits@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

Information about the authors

Anna-Maria V. Yerofeyeva – Postgraduate, Junior Research Officer at the Laboratory of Biological Modeling, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: amyerofoyeva@zoho.eu, <https://orcid.org/0000-0002-5499-5950>

Sergei V. Pinchuk – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Molecular Cell Biology, Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: pinchuksv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5499-5950>

Svetlana N. Rjabceva – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory «Center of Electron and Light Microscopy», Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: ryabceva@physiology.by, <https://orcid.org/0000-0001-5960-3656>

Alla Yu. Molchanova – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Biological Modeling, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: kjordknits@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

Вклад авторов

Ерофеева А.-М.В. – проведение исследования, анализ данных, написание текста.

Пинчук С.В. – проведение исследования.

Рябцева С.Н. – руководство научно-исследовательской работой, редактирование текста.

Молчанова А.Ю. – концепция исследования, утверждение итогового варианта рукописи.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

НАКОПЛЕНИЕ АГРЕГИРОВАННОГО АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В СТРУКТУРАХ НЕРВНОЙ ТКАНИ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

**Сальков В.Н.,
Воронков Д.Н.**

ФГБНУ «Научный центр неврологии»
(125367, г. Москва,
Волоколамское шоссе, 80, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сальков Владимир Николаевич,
e-mail: vla-salkov@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Представлен критический анализ литературы о строении и свойствах альфа-синуклеина в физиологических условиях и в условиях патологии, когда изменяется конформация этого белка, что способствует его агрегации и изменению особенностей локализации в структурах головного мозга при таких нейродегенеративных заболеваниях, как болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви, множественная системная атрофия и болезнь Альцгеймера.

Показано, что токсическое действие конформационно изменённого альфа-синуклеина может опосредованно влиять на функции нейронов вследствие его взаимодействия с клетками нейроглии, в первую очередь с микроглией и астроцитами, а также может модулировать агрегацию и экспрессию других белков, функционально значимых для развития нейродегенерации. Дальнейшее исследование механизмов взаимодействия конформационно измененного альфа-синуклеина с другими белками и уточнение взаимосвязи между его накоплением в структурах головного мозга и дисфункцией нейронов остаются актуальными для современной неврологии.

Поиск литературы проводился в базах данных «PubMed» и «eLIBRARY».

Ключевые слова: конформации альфа-синуклеина, нейроны, нейроглия, болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви, множественная системная атрофия, болезнь Альцгеймера

Статья поступила: 13.03.2023
Статья принята: 16.11.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Сальков В.Н., Воронков Д.Н. Накопление агрегированного альфа-синуклеина в структурах нервной ткани при нейродегенеративных заболеваниях. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 153-161. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.14

ACCUMULATION OF AGGREGATED ALPHA-SYNUCLEIN IN NEURAL TISSUE STRUCTURES IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

**Salkov V.N.
Voronkov D.N.**

Research Center of Neurology
(Volokolamskoye highway 80,
Moscow 125367, Russian Federation)

Corresponding author:
Vladimir N. Salkov,
e-mail: vla-salkov@yandex.ru

ABSTRACT

A critical analysis of the literature on the structure and properties of alpha-synuclein under physiological and pathological conditions is presented, when the conformation of this protein changes, which contributes to its aggregation and changes in localization features in brain structures in such neurodegenerative diseases as Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, multiple systemic atrophy and Alzheimer's disease. It has been shown that the toxic effect of conformationally altered alpha-synuclein can indirectly affect the functions of neurons due to its interaction with neuroglial cells, primarily microglia and astrocytes, and can also modulate the aggregation and expression of other proteins that are functionally important for the development of neurodegeneration.

Further study of the mechanisms of interaction of conformationally altered alpha-synuclein with other proteins and clarification of the relationship between its accumulation in brain structures and neuronal dysfunction remains relevant for modern neurology.

Literature search was carried out in the "PubMed" and "eLIBRARY" databases.

Key words: conformations of alpha-synuclein, neurons, neuroglia, Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, multiple system atrophy, Alzheimer's disease

Received: 13.03.2023
Accepted: 16.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Salkov V.N. Voronkov D.N. Accumulation of aggregated alpha-synuclein in neural tissue structures in neurodegenerative diseases. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 153-161. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.14

ВВЕДЕНИЕ

Большинство нейродегенеративных заболеваний, связанных с пожилым возрастом, характеризуются морфохимическими признаками протеинопатий, т. е. патологии, сопровождающейся нарушением структуры определённых белков (альфа-синуклеина, тау-протеина, бета-амилоида и др.) и их метаболизма [1]. Наиболее распространёнными заболеваниями этой группы являются болезнь Паркинсона (БП) и Альцгеймера (БА) [2]. В их основе лежат протеинопатии, связанные с нарушением агрегации альфа-синуклеина – белка, который накапливается в структурах головного мозга [3]. В экспериментах на лабораторных животных и исследованиях на аутопсийном материале головного мозга при упомянутых нозологических формах альфа-синуклеинопатий определены особенности изменений структуры этого белка [4], но особенности его накопления в нервной ткани при этих и других формах альфа-синуклеинопатий изучены недостаточно полно.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Охарактеризовать особенности накопления агрегированного альфа-синуклеина в структурах нервной ткани при нейродегенеративных заболеваниях на основе анализа литературных источников.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА И ЕГО БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Альфа-синуклеин – это небольшой белок (молекулярная масса не более 40 килодальтон), который синтезируется в основном в цитоплазме и пресинаптических терминалях нейронов центральной нервной системы человека и позвоночных животных [5]. В структуре этого белка различают гидрофобный центральный домен, известный как неамилоидный компонент, и два концевых участка: один из них – N-терминаль, которая проявляет амфипатические свойства и взаимодействует с клеточными мембранами, а другой участок – отрицательно заряженный C-терминаль, которая содержит несколько сайтов фосфорилирования [6]. Неамилоидный компонент накапливается в высоких концентрациях в сенильных бляшках при БА [7], N-терминаль обладает способностью подвергаться большинству известных мутаций, связанных с БП – A53T, A30P и E46K, G51D и H50Q [8], а фосфорилирование (по серину) сайта-129 C-терминали обуславливает нарушение полимеризации и агрегации альфа-синуклеина с последующим формированием внутриклеточных включений в структурах головного мозга, что характерно как для БП, так и для других альфа-синуклеинопатий (деменции с тельцами Леви (ДТЛ), множественной системной атрофии (МСА), и др.) [9]. По сравнению с другими синуклеинами, имеющими сходную с альфа-синуклеином структуру, он демон-

стрирует значительный уровень экспрессии в структурах головного мозга (по сравнению с гамма-синуклеином) и способен к агрегации (по сравнению с бета-синуклеином, в структуре которого не представлен неамилоидный компонент) [10].

Для альфа-синуклеина характерно структурное разнообразие. Так, если в физиологических условиях он располагается в клетках в состоянии мономера (нетоксичного низкомолекулярного полипептида, способного к реакции полимеризации), то при упомянутых выше нейродегенеративных заболеваниях его структура изменяется, что способствует его самоорганизации вначале в олигомеры (димеры, тримеры, тетрамеры), которые состоят из единичных мономеров, а позже, путём преобразования всего ранее неструктурированного полипептида или его части, – в чётко определённые, богатые β -листами вторичные структуры (нерастворимые нити или фибриллы) [11], проникновению в другие нейроны, «рекрутированию» в них эндогенного альфа-синуклеина и образованию новых нерастворимых агрегатов [12]. В связи со способностью патологических форм альфа-синуклеина передаваться от нейрона к нейрону, альфа-синуклеинопатии нередко соотносят с прионными заболеваниями [13] и предполагают, что по аналогии с прионными заболеваниями, которые вызываются разными штаммами прионов, отличающихся по биохимическим характеристикам (способности к расщеплению протеиназой K, возможности гликозилирования и др.), различные альфа-синуклеинопатии также могут быть связаны с различными «штаммами» патологического альфа-синуклеина [14]. В качестве доказательства приводят наблюдение, согласно которому патологический процесс в лимбической области коры головного мозга, как и в других её областях, при ДТЛ развивается значительно быстрее, чем при БП [15], а это, как предполагают, может быть связано с тем, что эти заболевания вызываются разными «штаммами» альфа-синуклеина [6]. Вместе с тем подобное доказательство не является убедительным, в связи с тем, что к настоящему времени не продемонстрировано биохимических различий между типами альфа-синуклеина, которые накапливаются в структурах коры головного мозга при БП и ДТЛ. Более значимым аргументом в пользу «прионной гипотезы» представляется тот факт, что альфа-синуклеин дикого типа в аминокислотном остатке 46 содержит глутамат, а в случаях наследственных форм БП – лизин [16]. Изменения этого остатка вполне достаточно, чтобы альфа-синуклеин, накапливающийся при наследственных формах БП, не принимал любую из конформаций, которую имеют протофибриллы альфа-синуклеина при МСА.

Альфа-синуклеин в физиологических условиях находится в клетке в мембраносвязанном и растворимом стабильном состоянии; последнее обнаружили, исследуя протеины в эритроцитах человека при помощи аналитического центрифугирования [17, 18]. В клетках альфа-синуклеин связывается с липидными мембранными структурами, такими как липосомы, липидные капли и липидные рафты, что требует присутствия окисленных липидов [19], таких как фосфатидилсерин

или фосфатидилинозитол, и предполагает взаимодействие мембраны с лизинами, обнаруженными в структуре этого белка. Связывание с отрицательно заряженными липидными мембранными структурами обуславливает приобретение альфа-синуклеином спиралевидной конформации [20]. Предполагается, что альфа-синуклеин такой формы присутствует в клетках в виде двух вариантов: одиночной удлинённой α -спирали и разорванной α -спирали, представленной двумя антипараллельными не взаимодействующими спиралями [21]. Методами молекулярного моделирования было показано, что формированию удлинённой α -спирали способствует взаимодействие альфа-синуклеина с мембранными структурами большого диаметра (~100 нанометров и более), а его взаимодействие с мембранными структурами меньшего диаметра способствует формированию разорванной α -спирали [22]. Указанные спиралевидные формы характерны для нативного альфа-синуклеина в физиологических условиях, тогда как при патологических состояниях он принимает форму β -листа. Такая конформация альфа-синуклеина связана с процессами агрегации этого белка, образованием фибрилл и отложением их в тельцах Леви, которые при БП формируются в нейронах чёрного вещества головного мозга [23]. Конформацию альфа-синуклеина в виде β -листа считают нейротоксичной, но точный генез этой формы остаётся невыясненным [24].

ТОКСИЧНОСТЬ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА И ЕЁ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ДИСФУНКЦИЕЙ НЕЙРОНОВ

Экспериментальным методом было установлено, что альфа-синуклеин, фосфорилированный по серину (α -Syn-p129), высокотоксичен независимо от размера его агрегатов, накапливающихся в нервных клетках и нейропиле [25]. В связи с этим было показано, что если взрослым бабуинам стереотаксически в структуры скорлупы головного мозга вводили как единичные олигомеры α -Syn-p129, так и более крупные его агрегаты (фибриллы), полученные от пациентов с БП, которые в свою очередь выделяли из телец Леви аутопсийного мозга лиц с БП (программа донорства мозга Банка мозга «GIE NeuroCEB»), то через 2 года у подопытных животных независимо от размера вводимых им фракций альфа-синуклеина в компактной части чёрного вещества головного мозга развивалась нейродегенерация, приводившая к гибели не только дофаминовых, но и других нейронов. Цитотоксичность альфа-синуклеина может быть обусловлена его способностью связываться с мембранами большой кривизны [26], которая является общим свойством для амфипатических α -спиралей и объясняется тем, что по сравнению с уплощёнными мембранами мембраны большой кривизны обеспечивают более высокую плотность сайтам связывания белков спиралевидной формы при взаимодействии с липидными мембранными структурами [27]. Кроме того, предполагают, что при патологии альфа-синуклеин, действуя

на мембраны митохондрий, может вызывать их фрагментацию [28]. При этом, связываясь преимущественно с внутренней митохондриальной мембраной, он может взаимодействовать с комплексом I, что снижает митохондриальную активность и усиливает аутофагию (митофагию) этих структур [29].

Нейротоксичность α -Syn-p129 проявляется и в том, что он способен индуцировать приток в клетку ионов кальция как напрямую, за счёт образования порообразных кольцевых структур в плазматической мембране [30], так и опосредованно, за счёт активации потенциалзависимых кальциевых каналов N-типа [31], в результате чего концентрация ионов кальция в нейронах увеличивается, а клеточная мембрана нервной клетки деполяризуется, а это приводит к высвобождению нейротрансмиттеров.

Токсичность альфа-синуклеина может быть связана с потерей спиралевидной конформации этим белком [32]. Относительная устойчивость спиралевидности была продемонстрирована в эксперименте *in vitro*, в котором добавление небольших однослойных отрицательно заряженных липидных везикул не вызвало значительных конформационных изменений в нативном тетрамере альфа-синуклеина [17]. Вместе с тем воздействие ряда факторов, таких как генетические мутации, старение, воспалительный процесс, токсины окружающей среды, может способствовать тому, что он теряет упорядоченность своей структуры и в связи с этим утрачивает спиралевидность конформации, принимая форму недостаточно структурированного белка, т. е. β -листа [33]. Подобную конформацию альфа-синуклеин принимает при нейродегенеративных заболеваниях, развитие которых индуцируют окислительный стресс и накопление в нервной ткани оксида азота (II) [34]. Олигомеры альфа-синуклеина, образующиеся при окислительном стрессе, фосфорилируются, и в результате высвобождаются молекулы перекиси водорода [35]. Этот процесс происходит в присутствии ионов переходных металлов, проявляющих окислительно-восстановительные свойства: Fe (II), Cu (I) и др. Ионы металла, связываясь с молекулой альфа-синуклеина, образуют специфические кислородные мостики, которые дестабилизируются при изменении конформации альфа-синуклеина и его олигомеризации. При этом высвобождается анион супероксида, который впоследствии подвергается обратимому превращению в перекись водорода [36]. Нитрозирующий стресс, при котором образование активных форм азота превышает возможности их нейтрализации или элиминирования, приводит к формированию ковалентных связей между оксидом азота (II) и специфическими тиоловыми группами белков и может рассматриваться как вероятный механизм, способствующий NO-индуцированной неправильной агрегации различных белков, в том числе и альфа-синуклеина [37], что подтверждается выявлением нитрозилированного альфа-синуклеина в тельцах Леви, которые локализуются в структурах головного мозга при БП [38].

Однако взаимосвязь между накоплением высокотоксичного α -Syn-p129 в нейронах и их дисфункцией оста-

ётся невыясненной [39]. Количество нейронов в чёрном веществе головного мозга существенно уменьшается ещё до развития основных клинических симптомов БП или на ранних стадиях заболевания (от 50 % и до 90 %) [40], а это, согласно мнению исследователей, изучающих взаимосвязь между убылью нейронов и накоплением α -Syn-p129 в дофаминовых нейронах чёрного вещества при этой патологии, позволяет предположить, что его накопление в структурах головного мозга не столь значимо, как потеря нервных клеток [39]. В других образованиях нервной системы, например, энтеральной, клинические проявления паркинсонизма связаны не с гибелью нейронов, а с накоплением в нервной ткани α -Syn-p129 [41]. В то же время трансгенные мыши с высокой экспрессией альфа-синуклеина дикого типа обнаруживали нарушение поведенческих реакций, связанных с изменением обоняния, перистальтики кишечника и двигательной активности, но морфологических признаков нейродегенеративного процесса они не выявляли [42]. Более того, в аутопсийном материале среднего мозга пожилых людей, умерших от интеркуррентных заболеваний, находили морфологические признаки накопления альфа-синуклеина, но при жизни у этих людей неврологическую симптоматику не выявляли [43]. В связи с этим предполагается, что накопление агрегированного альфа-синуклеина в мозге неврологически здоровых лиц – это приспособительная реакция организма, а увеличение морфохимических показателей нейродегенеративного процесса в мозге пациентов с БП – это результат накопления токсичного α -Syn-p129.

Следовательно, несмотря на высокую токсичность α -Syn-p129, одного лишь избыточного накопления этого белка в нервной ткани явно недостаточно для развития нейродегенерации, и его фактическая роль в развитии этого процесса остаётся неопределённой.

Сведения о структурных характеристиках агрегированного альфа-синуклеина и о его нейротоксичности, изложенные выше, были получены в основном в экспериментальных исследованиях на животных. В связи с этим они не дают полного представления о морфологической основе и возможных механизмах патогенеза альфа-синуклеинопатий. В то же время эти сведения существенно расширяют и дополняют данные патоморфологических исследований, выполненные иммуногистохимическими методами на аутопсийном материале больных с альфа-синуклеинопатиями.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА И ЕГО НАКОПЛЕНИЕ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Локализация α -Syn-p129 при БП, рассматриваемой в качестве альфа-синуклеинопатии, обнаруживается не только в центральной (ЦНС), но и в периферической нервной системе [44], и в последней этот белок нередко начинает накапливаться раньше, чем в ЦНС [45]. Вероятно, этим можно объяснить при БП более раннее появление симптомов, указывающих на поражение перифери-

ческих отделов черепных нервов (гипосмия, снижение контрастности зрения и дискриминация цветов), симптомов дисфункции желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы, и более позднее появление симптомов двигательных нарушений, которые относят к основными клиническим проявлениям заболевания [44].

Последовательность отложения α -Syn-p129 в разных отделах нервной системы, выявленная в патоморфологических исследованиях, легла в основу схемы клинико-морфологических стадий БП, которая учитывала вовлечение в патологический процесс как периферического, так и центрального отделов нервной системы и постулировала распространение патологических изменений от каудальных образований головного мозга к корковым формациям [46]. Кроме того, была предложена гипотеза «двойного удара», объясняющая прогрессирование БП с точки зрения соответствия последовательности стадий клинической картины заболевания обнаруженным морфологическим изменениям [47]. Согласно этой гипотезе, неизвестный нейротропный патоген (предположительно вирус) через обонятельный тракт и волокна блуждающего нерва, иннервирующие пищеварительную систему, может проникать в структуры головного мозга: в первом случае – в височную долю, во втором – в продолговатый мозг, мост и средний мозг. В последнем из образований, а именно в компактной части чёрного вещества, происходит вторичное накопление α -Syn-p129 в виде телец Леви, локализующихся как в цитоплазме нейронов, так и вне клеток, что приводит к гибели дофаминовых нейронов. Вначале α -Syn-p129 накапливается либо в обонятельных луковицах, либо в дорсальном двигательном ядре языкоглоточного и блуждающего нервов. Гипотеза была подтверждена перекрёстным анализом патологических изменений в образцах мозга лиц с БП, умерших от интеркуррентных заболеваний. Схема стадий БП и гипотеза «двойного удара», несмотря на популярность, неоднократно и обоснованно критиковались научным сообществом. Так, накопления α -Syn-p129 выявляли одновременно в различных образованиях головного мозга, что опровергало тем самым возможность распространения этого белка только в направлении от продолговатого мозга к структурам среднего и большого мозга [48]. Кроме того, концепция не объясняла наличие в повышенных количествах в плазме крови и ликворе пациентов с БП олигомерного альфа-синуклеина [49]. В итоге схема, позволяющая определять клинико-морфологические стадии БП, была поставлена под сомнение самим автором [50].

В настоящее время считают, что нарушение агрегации альфа-синуклеина, а впоследствии и его накопление, происходит одновременно в нескольких структурах центральной и периферической нервной системы уже на латентной стадии нейродегенеративного процесса [51]. Кроме того, при помощи однофотонной эмиссионной компьютерной томографии было установлено, что различные клинические варианты течения БП соответствуют вовлечению различных структур нервной системы в патологический процесс [52], а накопление

α -Syn-p129 в нервной ткани не всегда является причиной гибели дофаминовых нейронов при этом заболевании [53]. Вместе с тем накопление α -Syn-p129 может активировать микроглию, уровень активности которой соответствует степени нейротоксичности [54], и, кроме того, олигомерный альфа-синуклеин усиливает фагоцитарную функцию микроглии [55].

Следовательно, α -Syn-p129, накапливающийся в структурах головного мозга при БП, может, очевидно, оказывать такое же токсическое воздействие на дофаминовые нейроны чёрного вещества, как и другие патогенные факторы: ионы металлов, пестициды и др. [56].

НАКОПЛЕНИЕ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА ПРИ ДРУГИХ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Клинически ДТЛ во многом сходна с деменцией при БП [57], и их различают при помощи «правила 1 года»: если деменция возникает на фоне БП не менее чем через 1 год после установления диагноза, то такой случай расценивают как «деменцию при болезни Паркинсона»; если деменция предшествует или возникает одновременно с появлением клинических симптомов паркинсонизма или она развивается в течение года после их появления, то в этом случае диагностируют ДТЛ. Оба заболевания характеризуются накоплением агрегированного альфа-синуклеина в виде телец Леви и нейритов Леви, которые в аутопсийном мозге лиц с БП выявляются лишь в структурах ствола мозга и лимбической системы, а при ДТЛ и деменции, развившейся на фоне БП, их обнаруживают и в неокортексе [58]. Методами позитронно-эмиссионной томографии и патоморфологии обнаружили, что корковая атрофия при ДТЛ была больше выражена, чем при деменции, развившейся на фоне БП [59]. При этом численность телец Леви в лимбической области, особенно в поле CA2 гиппокампа, и в височной области неокортекса была существенно больше при ДТЛ, чем при деменции, развившейся на фоне БП [60], а в последнем случае была значительно выше гибель дофаминовых нейронов в чёрном веществе головного мозга [61]. Кроме того, для ДТЛ характерна убыль дофаминовых нейронов в медиовентральном сегменте чёрного вещества, а для деменции при БП – в её дорсолатеральном сегменте.

Наряду с тем, что агрегированный альфа-синуклеин в структурах нервной ткани обнаруживали при БП и ДТЛ, его выявляли и при МСА [62], но, в отличие от БП и ДТЛ, отложения альфа-синуклеина при МСА накапливались в основном в цитоплазме и ядрах олигодендроцитов, а также они выявлялись в телах и отростках нейронов [63]. При исследовании аутопсийных образцов головного ($n = 14$) и спинного мозга ($n = 11$) больных МСА были обнаружены включения альфа-синуклеина в цитоплазму глиальных клеток в структурах двигательной области коры головного мозга, скорлупы, моста, продолговатого мозга и супрасегментарных центрах вегетативной нервной системы [64], а также в хвостатом

ядре, наружном паллидуме, чёрном веществе, голубом пятне и мозжечке [65]. Если учесть, что альфа-синуклеин при физиологических условиях не экспрессируется в олигодендроцитах в значимых количествах, то не понятно, каким образом его агрегированная форма накапливается в цитоплазме глиальных клеток при патологии [66]? При рассмотрении этого вопроса одни авторы считают, что на основе агрегированного альфа-синуклеина, который высвобождается из нейронов и затем захватывается соседними астроцитами, могут формироваться патологические включения в нейроглии [67], другие предполагают, что причиной накопления агрегатов альфа-синуклеина в олигодендроцитах является активация гена *SNCA* [66]. Кроме того, в экспериментах *in vivo* было продемонстрировано, что олигодендроциты могут интернализировать агрегированный альфа-синуклеин при введении его мышам [68].

БА в существенном количестве случаев (до 50 %) демонстрирует накопление агрегированного альфа-синуклеина в структурах головного мозга [69], преимущественно в амигдале [70], несмотря на то, что его накопление не считают характерным патоморфологическим признаком этого заболевания. Так, на аутопсийном мозге иммуногистохимическими методами тельца Леви обнаруживали при БА в 10 из 22 случаев [71] и выявляли их в телах, а не в отростках нейронов [72]. Предполагают, что альфа-синуклеин при БА напрямую взаимодействует с А β -пептидом и тау-протеином, а это способствует взаимной агрегации этих белков [73]. В то же время было показано, что введение лабораторным мышам зёрен тау-протеина и предварительно сформированных фибрилл, полученных из очищенного рекомбинантного альфа-синуклеина, в область гиппокампа и корковой пластинки, значительно увеличивает число тау-позитивных нейронов, но не влияет на число альфа-синуклеин-позитивных нейронов [74].

Следовательно, альфа-синуклеин способен модулировать агрегацию и экспрессию других белков, функционально значимых для развития нейродегенерации при БА, но влияние этих белков на агрегацию альфа-синуклеина к настоящему времени не доказано.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, к настоящему времени установлено, что альфа-синуклеин в физиологических условиях обнаруживается в цитоплазме нейронов и пресинаптических терминалях аксонов. При патологии он может изменять свою конформацию и приобретать нейротоксические свойства, которые реализуются вследствие его взаимодействия с элементами нейроглии, в первую очередь с микроглиальными клетками и астроцитами. Кроме того, он может модулировать экспрессию других нейрональных белков, функционально значимых при таких нейродегенеративных заболеваниях, как БП, ДТЛ, МСА и БА. Вместе с тем сведения о накоплении агрегированного альфа-синуклеина в структурах нервной ткани не позволяют в полной мере установить его роль в пато-

генезе этих заболеваний, но это представляется возможным при продолжении изучения механизмов его взаимодействия с другими белками и уточнении взаимосвязи между его накоплением в структурах головного мозга и дисфункцией нейронов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hansson O. Biomarkers for neurodegenerative diseases. *Nat Med.* 2021; 27(6): 954-963. doi: 10.1038/s41591-021-01382-x
- GBD 2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019; 18(1): 88-106. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30403-4
- Trist BG, Hare DJ, Double KL. A proposed mechanism for neurodegeneration in movement disorders characterized by metal dyshomeostasis and oxidative stress. *Cell Chem Biol.* 2018; 25(7): 807-816. doi: 10.1016/j.chembiol.2018.05.004
- Vaikath NN, Erskine D, Morris CM, Majbour NK, Vekrellis K, Li JY, et al. Heterogeneity in α -synuclein subtypes and their expression in cortical brain tissue lysates from Lewy body diseases and Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2019; 45(6): 597-608. doi: 10.1111/nan.12531
- Pineda A, Burre J. Modulating membrane binding of alpha-synuclein as a therapeutic strategy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017; 114: 1223-1225. doi: 10.1073/pnas.1620159114
- Peng C, Gathagan RG, Lee VM-Y. Distinct α -synuclein strains and implications for heterogeneity among α -synucleinopathies. *Neurobiol Dis.* 2018; 109: 209-218. doi: 10.1016/j.nbd.2017.07.018
- Jellinger KA. Lewy body-related alpha-synucleinopathy in the aged human brain. *J Neural Transm.* 2004; 111(10-11): 1219-1235. doi: 10.1007/s00702-004-0138-7
- Appel-Cresswell S, Vilarino-Guell C, Encarnacion M, Sherman H, Yu I, Shah B. Alpha-synuclein p.H50Q, a novel pathogenic mutation for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013; 28(6): 811-813. doi: 10.1002/mds.25421
- Burre J, Sharma M, Südhof TC. Cell biology and pathophysiology of α -synuclein. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018; 8: a024091. doi: 10.1101/cshperspect.a024091
- Allison JR, Rivers RC, Christodoulou JC, Vendruscolo M, Dobson CM. A relationship between the transient structure in the monomeric state and the aggregation propensities of α -synuclein and β -synuclein. *Biochemistry.* 2014; 53(46): 7170-7183. doi: 10.1021/bi5009326
- Breydo L, Wu JW, Uversky VN. α -Synuclein misfolding and Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822(2): 261-285. doi: 10.1016/j.bbdis.2011.10.002
- Goedert M, Masuda-Suzukake M, Falcon B. Like prions: The propagation of aggregated tau and α -synuclein in neurodegeneration. *Brain.* 2017; 140(2): 266-278. doi: 10.1093/brain/aww230
- Lee SJ, Desplats P, Sigurdson C, Tsigelny I, Masliah E. Cell-to-cell transmission of non-prion protein aggregates. *Nat Rev Neurol.* 2010; 6(12): 702-706. doi: 10.1038/nrneurol.2010.145
- Guo JL, Covell DJ, Daniels JP, Iba M, Stieber A, Zhang B, et al. Distinct α -synuclein strains differentially promote tau inclusions in neurons. *Cell.* 2013; 154(1): 103-117. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.057
- Irwin DJ, Lee VM, Trojanowski JQ. Parkinson's disease dementia: Convergence of α -synuclein, tau and amyloid- β pathologies. *Nat Rev Neurosci.* 2013; 14(9): 626-636. doi: 10.1038/nrn3549
- Ayers JL, Lee J, Monteiro O, Woerman AL, Lazar AA, Condelo C, et al. Different α -synuclein prion strains cause dementia with Lewy bodies and multiple system atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022; 119(6): e2113489119. doi: 10.1073/pnas.2113489119
- Bartels T, Choi JG, Selkoe DJ. α -Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation. *Nature.* 2011; 477(7362): 107-110. doi: 10.1038/nature10324
- Wang W, Perovic I, Chittuluru J, Kaganovich A, Nguyen LT, Liao J, et al. A soluble α -synuclein construct forms a dynamic tetramer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(43): 17797-17802. doi: 10.1073/pnas.1113260108
- Middleton ER, Rhoades E. Effects of curvature and composition on α -synuclein binding to lipid vesicles. *Biophys J.* 2010; 99(7): 2279-2288. doi: 10.1016/j.bpj.2010.07.056
- Jo E, McLaurin J, Yip CM, St George-Hyslop P, Fraser PE. Alpha-synuclein membrane interactions and lipid specificity. *J Biol Chem.* 2000; 275(44): 34328-34334. doi: 10.1074/jbc.M004345200
- Jao CC, Hegde BG, Chen J, Haworth IS, Langen R. Structure of membrane-bound alpha-synuclein from site-directed spin labeling and computational refinement. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(50): 19666-19671. doi: 10.1073/pnas.0807826105
- Trexler AJ, Rhoades E. Alpha-synuclein binds large unilamellar vesicles as an extended helix. *Biochemistry.* 2009; 48(11): 2304-2306. doi: 10.1021/bi900114z
- Yonetani M, Nonaka T, Masuda M, Inukai Y, Oikawa T, Hisanaga S, et al. Conversion of wild-type alpha-synuclein into mutant-type fibrils and its propagation in the presence of A30P mutant. *J Biol Chem.* 2009; 284(12): 7940-7950. doi: 10.1074/jbc.M807482200
- Guiney SJ, Adlard PA, Lei P, Mawal CH, Bush AI, Finkelshtein DI, et al. Fibrillar α -synuclein toxicity depends on functional lysosomes. *J Biol Chem.* 2020; 295(51): 17497-17513. doi: 10.1074/jbc.RA120.013428
- Bourdenx M, Nioche A, Dovero S, Arotcarena ML, Camus S, Porras G, et al. Identification of distinct pathological signatures induced by patient-derived α -synuclein structures in nonhuman primates. *Sci Adv.* 2020; 6(20): eaaz9165. doi: 10.1126/sciadv.aaz9165
- Pranke IM, Morello V, Bigay J, Gibson K, Verbavatz JM, Antonny B, et al. α -Synuclein and ALPS motifs are membrane curvature sensors whose contrasting chemistry mediates selective vesicle binding. *J Cell Biol.* 2011; 194(1): 89-103. doi: 10.1083/jcb.201011118
- Hatzakis NS, Bhatia VK, Larsen J, Madsen KL, Bolinger PY, Kunding AH, et al. How curved membranes recruit amphipathic helices and protein anchoring motifs. *Nat Chem Biol.* 2009; 5(11): 835-841. doi: 10.1038/nchembio.213
- Nakamura K, Nemani VM, Azarbal F, Skibinski G, Levy JM, Egami K, et al. Direct membrane association drives mitochondrial fission by the Parkinson disease-associated protein alpha-synuclein. *J Biol Chem.* 2011; 286(23): 20710-20726. doi: 10.1074/jbc.M110.213538
- Chinta SJ, Mallajosyula JK, Rane A, Andersen JK. Mitochondrial α -synuclein accumulation impairs complex I function in dopaminergic neurons and results in increased mitophagy

in vivo. *Neurosci Lett*. 2010; 486(3): 235-239. doi: 10.1016/j.neulet.2010.09.061

30. Volles MJ, Lansbury PT Jr. Relationships between the sequence of alpha-synuclein and its membrane affinity, fibrillization propensity, and yeast toxicity. *J Mol Biol*. 2007; 366(5): 1510-1522. doi: 10.1016/j.jmb.2006.12.044

31. Adamczyk A, Strosznajder JB. Alpha-synuclein potentiates Ca²⁺ influx through voltage-dependent Ca²⁺ channels. *Neuroreport*. 2006; 17(18): 188-1886. doi: 10.1097/WNR.0b013e3280115185

32. Dettmer U, Newman AJ, Luth ES, Bartels T, Selkoe D. In vivo cross-linking reveals principally oligomeric forms of α-synuclein and β-synuclein in neurons and non-neural cells. *J Biol Chem*. 2013; 288(9): 6371-6385. doi: 10.1074/jbc.M112.403311

33. Olanow CW, Brundin P. Parkinson's disease and alpha synuclein: Is Parkinson's disease a prion-like disorder? *Mov Disord*. 2013; 28(1): 31-40. doi: 10.1002/mds.25373

34. Wilkaniec A, Strosznajder JB, Adamczyk A. Toxicity of extracellular secreted alpha-synuclein: Its role in nitrosative stress and neurodegeneration. *Neurochem Int*. 2013; 62(5): 776-783. doi: 10.1016/j.neuint.2013.02.004

35. Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, Mallory M, Hashimoto M, Takeda A, et al. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. *Science*. 2000; 287(5456): 1265-1269. doi: 10.1126/science.287.5456.1265

36. Tabner BJ, Turnbull S, El-Agnaf OM, Allsop D. Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from A(beta) and alpha-synuclein as a possible mechanism of cell death in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med*. 2002; 32(11): 1076-1083. doi: 10.1016/s0891-5849(02)00801-8

37. Nakamura T, Lipton SA. According to GOSPEL: Filling in the GAP(DH) of NO-mediated neurotoxicity. *Neuron*. 2009; 63(1): 3-6. doi: 10.1016/j.neuron.2009.06.013

38. Giasson BI, Duda JE, Murray IV, Chen Q, Souza JM, Hurtig HI, et al. Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions. *Science*. 2000; 290(5493): 985-989. doi: 10.1126/science.290.5493.985

39. Bendor JT, Logan TP, Edwards RH. The function of α-synuclein. *Neuron*. 2013; 79(6): 1044-1066. doi: 10.1016/j.neuron.2013.09.004

40. Kordower JH, Olanow CW, Dodiya HB, Chu Y, Beach TG, Adler CH, et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain*. 2013; 136(8): 2419-2431. doi: 10.1093/brain/awt192

41. Annerino DM, Arshad S, Taylor GM, Adler CH, Beach TG, Greene JG. Parkinson's disease is not associated with gastrointestinal myenteric ganglion neuron loss. *Acta Neuropathol*. 2012; 124(5): 665-680. doi: 10.1007/s00401-012-1040-2

42. Matsuoka Y, Vila M, Lincoln S, McCormack A, Picciano M, LaFrancois J, et al. Lack of nigral pathology in transgenic mice expressing human alpha-synuclein driven by the tyrosine hydroxylase promoter. *Neurobiol Dis*. 2001; 8(3): 535-539. doi: 10.1006/nbdi.2001.0392

43. Markesbery WR, Jicha GA, Liu H, Schmitt FA. Lewy body pathology in normal elderly subjects. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2009; 68(7): 816-822. doi: 10.1097/NEN.0b013e328181ac10a7

44. Иллариошкин С.Н., Власенко А.Г., Федотова Е.Ю. Современные возможности идентификации латентной стадии нейродегенеративного процесса. *Анналы клинической и экс-*

периментальной неврологии. 2013; 7(2): 39-50. [Illarioshkin SN, Vlasenko AG, Fedotova EY. Current means for identifying the latent stage of a neurodegenerative process. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2013; 7(2): 39-50. (In Russ.)].

45. Худоевков Р.М., Воронков Д.Н., Богданов Р.Р., Соболев В.Б., Борисова С.Ю., Давыдов И.А., и др. Исследование α-синуклеина в биоптатах подъязычных слюнных желез при болезни Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2016; 21(3): 152-157. [Khudoerkov RM, Voronkov DN, Bogdanov RR, Sobolev VB, Borisova SYu, Davydov IA, et al. Study of α-synuclein deposition in the sublingual salivary gland biopsy slices in Parkinson's disease. *Neurological Journal*. 2016; 21(3): 152-157. (In Russ.)] doi: 10.18821/1560-9545-2016-21-3-152-157

46. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003; 24(2): 197-211. doi: 10.1016/s0197-4580(02)00065-9

47. Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. Parkinson's disease: A dual-hit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2007; 33(6): 599-614. doi: 10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x

48. Halliday G, McCann H, Shepherd C. Evaluation of the Braak hypothesis: How far can it explain the pathogenesis of Parkinson's disease? *Expert Rev Neurother*. 2012; 12(6): 673-686. doi: 10.1586/ern.12.47

49. El-Agnaf OM, Salem SA, Paleologou KE, Curran MD, Gibson MJ, Court JA, et al. Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J*. 2006; 20(3): 419-425. doi: 10.1096/fj.03-1449com

50. Braak H, Del Tredici K. Neuropathological staging of brain pathology in sporadic Parkinson's disease: Separating the wheat from the chaff. *J Parkinsons Dis*. 2017; 7(1): 71-85. doi: 10.3233/JPD-179001

51. Orimo S, Uchihara T, Nakamura A, Mori F, Ikeuchi T, Onodera O, et al. Cardiac sympathetic denervation in Parkinson's disease linked to SNCA duplication. *Acta Neuropathol*. 2008; 116(5): 575-577. doi: 10.1007/s00401-008-0428-5

52. Eggers C, Kahraman D, Fink GR, Schmidt M, Timmermann L. Akinetic-rigid and tremor-dominant Parkinson's disease patients show different patterns of FP-CIT single photon emission computed tomography. *Mov Disord*. 2011; 26(3): 416-423. doi: 10.1002/mds.23468

53. Lo Bianco C, Ridet JL, Schneider BL, Deglon N, Aebischer P. Alpha-synucleinopathy and selective dopaminergic neuron loss in a rat lentiviral-based model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99(16): 10813-10818. doi: 10.1073/pnas.152339799

54. Zhang W, Dallas S, Zhang D, Guo JP, Pang H, Wilson B, et al. Microglial PHOX and Mac-1 are essential to the enhanced dopaminergic neurodegeneration elicited by A30P and A53T mutant alpha-synuclein. *Glia*. 2007; 55(11): 1178-1188. doi: 10.1002/glia.20532

55. Zhang W, Wang T, Pei Z, Miller DS, Wu X, Block ML, et al. Aggregated alpha-synuclein activates microglia: A process leading to disease progression in Parkinson's disease. *FASEB J*. 2005; 19(6): 533-542. doi: 10.1096/fj.04-2751com

56. Катунина Ю.А., Бездольный Ю.Н. Эпидемиология болезни Паркинсона. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2013; 113(12): 81-88. [Katunina EA, Bezdolny YuN. Epidemiology of Parkinson's disease. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2013; 113(12): 81-88. (In Russ.)].

57. Walker L, Stefanis L, Attems J. Clinical and neuropathological differences between Parkinson's disease, Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies – Current issues and future directions. *J Neurochem*. 2019; 150(5): 467-474. doi: 10.1111/jnc.14698
58. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, Halliday G, Taylor JP, Weintraub D, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth consensus report of the DLB Consortium. *Neurology*. 2017; 89(1): 88-100. doi: 10.1212/WNL.0000000000004058
59. Jellinger KA. Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease-dementia: Current concepts and controversies. *J Neural Transm*. 2018; 125: 615-650. doi: 10.1007/s00702-017-1821-9
60. Kovari E, Horvath J, Bouras C. Neuropathology of Lewy body disorders. *Brain Res Bull*. 2009; 80: 203-210. doi: 10.1016/j.brainresbull.2009.06.018
61. Tsuboi Y, Dickson DW. Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease with dementia: Are they different? *Parkinsonism Relat Disord*. 2005; 11(1): 47-51. doi: 10.1016/j.parkreldis.2004.10.014
62. Dickson DW. Parkinson's disease and parkinsonism: Neuropathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012; 2(8): a009258. doi: 10.1101/cshperspect.a009258
63. Lantos PL. The definition of multiple system atrophy: A review of recent developments. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1998; 57(12): 1099-1111. doi: 10.1097/00005072-199812000-00001
64. Papp MI, Lantos PL. The distribution of oligodendroglial inclusions in multiple system atrophy and its relevance to clinical symptomatology. *Brain*. 1994; 117: 235-243. doi: 10.1093/brain/117.2.235
65. Wenning G, Tison F, Ben Shlomo Y, Daniel S, Quinn N. Multiple system atrophy: A review of 203 pathologically proven cases. *Mov Disord*. 1997; 12: 133-147. doi: 10.1002/mds.870120203
66. Kim WS, Kågedal K, Halliday GM. Alpha-synuclein biology in Lewy body diseases. *Alzheimers Res Ther*. 2014; 6(5): 73. doi: 10.1186/s13195-014-0073-2
67. Lee HJ, Suk JE, Bae EJ, Lee SJ. Clearance and deposition of extracellular alpha-synuclein aggregates in microglia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 372: 423-428. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.05.045
68. Ruf WP, Meirelles JL, Danzer KM. Spreading of alpha-synuclein between different cell types. *Behav Brain Res*. 2023; 436: 114059. doi: 10.1016/j.bbr.2022.114059
69. Postina R. A closer look at alpha-secretase. *Curr Alzheimer Res*. 2008; 5(2): 179-186. doi: 10.2174/156720508783954668
70. Lippa CF, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ. Antibodies to alpha-synuclein detect Lewy bodies in many Down's syndrome brains with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1999; 45(3): 353-357. doi: 10.1002/1531-8249(199903)45:3<353::aid-ana11>3.0.co;2-4
71. Toledo JB, Cairns NJ, Da X, Chen K, Carter D, Fleisher A, et al. Clinical and multimodal biomarker correlates of ADNI neuropathological findings. *Acta Neuropathol Commun*. 2013; 1: 65. doi: 10.1186/2051-5960-1-65
72. Iseki E. Dementia with Lewy bodies: Reclassification of pathological subtypes and boundary with Parkinson's disease or Alzheimer's disease. *Neuropathology*. 2004; 24(1): 72-78. doi: 10.1111/j.1440-1789.2003.00530.x
73. Shim KH, Kang MJ, Youn YC, An SSA, Kim S. Alpha-synuclein: A pathological factor with Aβ and tau and biomarker in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2022; 14(1): 201. doi: 10.1186/s13195-022-01150-0
74. Bassil F, Meymand ES, Brown HJ, Xu H, Cox TO, Patabhira-man S, et al. α-synuclein modulates tau spreading in mouse brains. *J Exp Med*. 2021; 218(1): e20192193. doi: 10.1084/jem.20192193

Сведения об авторах

Салков Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Института мозга, ФГБНУ «Научный центр неврологии», e-mail: vla-salkov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1580-0380>

Воронков Дмитрий Николаевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Института мозга, ФГБНУ «Научный центр неврологии», e-mail: voronkov@neurology.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Information about the authors

Vladimir N. Salkov – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Neuromorphology of Brain Institute, Research Center of Neurology, e-mail: vla-salkov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1580-0380>

Dmitry N. Voronkov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Neuromorphology of Brain Institute, Research Center of Neurology, e-mail: voronkov@neurology.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

ОНКОЛОГИЯ ONCOLOGY

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОНКОЛИТИЧЕСКОГО ВИРУСА VV-GMCSF-LACT В ОТНОШЕНИИ 3D-КУЛЬТУР КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА U-87 MG

Дымова М.А.¹,
Шнайдер Т.А.²,
Чечеткина С.А.³,
Петров Г.О.¹,
Малышева Д.О.¹,
Дроков Д.В.³,
Агеенко А.Б.¹,
Васильева Н.С.¹,
Рихтер В.А.¹,
Кулигина Е.В.¹

¹ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8, Россия)

² ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10, Россия)

³ ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет» (630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дымова Майя Александровна,
e-mail: maya.a.rot@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Одним из перспективных методов лечения опухолей является виротерапия, в основе которой лежит прямой лизис вирусом опухолевых клеток и вирус-опосредованный противоопухолевый иммунный ответ организма. Для рекомбинантного штамма вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact, продуцирующего GMCSF человека и онкотоксический белок лактаптин, показано цитотоксическое и противоопухолевое действие в экспериментах *in vitro* и *in vivo* соответственно при использовании адгезивных культур клеток U-87 MG глиобластомы человека. 3D-культуры являются более релевантной моделью опухоли в сравнении с адгезивными моделями, так как более полно отражают реалистичный сценарий развития опухолевого процесса, а также ответа опухоли на противоопухолевую терапию.

Цель исследования. Оценка цитотоксического действия онколитического вируса VV-GMCSF-Lact в отношении клеток 3D-культур глиобластомы человека U-87 MG.

Методы. В работе использовались следующие методы: культивирование 3D-культур клеток; цитофлуориметрия; микроскопический анализ; титрование вируса; статистическая обработка данных.

Результаты. Клетки U-87 MG были трансдуцированы лентивирусным вектором, несущим ген GFP. Цитотоксичность вируса VV-GMCSF-Lact (IC50) в отношении исследуемых клеток составила 0,024 БОЕ/клетку. Далее клетки U-87 MG культивировали в условиях формирования 3D-структур. С помощью микроскопического анализа показано онколитическое действие вируса на клетки 3D-культур уже спустя 24 часа после начала инкубации. Методом проточной цитофлуориметрии показано увеличение гранулярности клеток глиобластомы под действием вируса, что указывает на активную репликацию вируса в клетках. Титр вируса составил 0,44 БОЕ/клетку.

Заключение. Рекомбинантный вирус VV-GMCSF-Lact оказывает цитотоксическое действие на 3D-культуры клеток глиобластомы человека U-87 MG, активно реплицируется в них. В дальнейшем для тестирования онколитического действия VV-GMCSF-Lact планируется использовать не только 3D-культуры глиобластомы человека, но и церебральные органоиды, полученные в процессе сокультивирования клеток глиобластомы и индуцированных плюрипотентных клеток человека.

Ключевые слова: глиобластома, нейросферы, онколитический вирус, VV-GMCSF-Lact

Для цитирования: Дымова М.А., Шнайдер Т.А., Чечеткина С.А., Петров Г.О., Малышева Д.О., Дроков Д.В., Агеенко А.Б., Васильева Н.С., Рихтер В.А., Кулигина Е.В. Цитотоксическое действие онколитического вируса VV-GMCSF-Lact в отношении 3D-культур клеток глиобластомы человека U-87 MG. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 162-169. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.15

Статья поступила: 29.08.2023

Статья принята: 29.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

CYTOTOXIC EFFECT OF THE VV-GMCSF-LACT ONCOLYTIC VIRUS AGAINST 3D CULTURES OF HUMAN GLIOBLASTOMA CELLS U-87 MG

Dymova M.A.¹,
Shnaider T.A.²,
Chechetkina S.A.³,
Petrov G.O.¹,
Malysheva D.O.¹,
Drokov D.V.³,
Ageenko A.B.¹,
Vasileva N.S.¹,
Richter V.A.¹,
Kuligina E.V.¹

¹ Institute of Chemical Biology
and Fundamental Medicine, Siberian
Branch of the Russian Academy of Sciences
(Akademika Lavrentieva Ave. 8, Novosibirsk
630090, Russian Federation)

² Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences (Akademika Lavrentieva Ave. 10,
Novosibirsk 630090, Russian Federation)

³ Novosibirsk State University
(Pirogova str. 2, Novosibirsk 630090,
Russian Federation)

Corresponding author:
Maya A. Dymova,
e-mail: maya.a.rot@gmail.com

ABSTRACT

Background. One of the promising methods of treating tumors is virotherapy, which is based on direct lysis of cancer cells by a virus and a virus-mediated anti-tumor immune response of the body. For the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact, producing human GMCSF and the oncotoxic protein lactaptin, cytotoxic and antitumor effects were shown in experiments in vitro and in vivo, respectively, when using adhesive cultures of U-87 MG human glioblastoma cells. 3D cultures are a more relevant tumor model than adhesive models, as they more fully reflect the realistic scenario of cancer development, as well as the response of the tumor to anticancer therapy.

The aim. To evaluate the cytotoxic effect of the oncolytic virus VV-GMCSF-Lact against 3D cultures of human glioblastoma U-87 MG.

Materials and methods. The following methods were used in the work: cultivation of 3D cell cultures, cytofluorometry, microscopic analysis, virus titration, statistical analysis.

Results. U-87 MG cells were transduced with a lentiviral vector carrying the GFP reporter gene. The cytotoxicity of the VV-GMCSF-Lact virus (IC₅₀) against the studied cells was 0.024 PFU/cell. U-87 MG cells were cultured under conditions for the formation of 3D structures. Microscopic analysis showed the oncolytic effect of the virus on the cells of 3D cultures as early as 24 hours after the start of incubation. Flow cytometry showed an increase in the granularity of glioblastoma cells under the action of the virus, which indicates active replication of the virus in the cells. The virus titer was 0.44 PFU/cell.

Conclusions. The recombinant VV-GMCSF-Lact virus has a cytotoxic effect on 3D human glioblastoma U-87 MG cell cultures and actively replicates in them. In the future, to test the oncolytic effect of VV-GMCSF-Lact, it is planned to use not only 3D human glioblastoma cultures, but also cerebral organelles obtained in the process of cocultivation of glioblastoma cells and induced human pluripotent cells.

Key words: glioblastoma, neurospheres, oncolytic virus, VV-GMCSF-Lact

For citation: Dymova M.A., Shnaider T.A., Chechetkina S.A., Petrov G.O., Malysheva D.O., Drokov D.V., Ageenko A.B., Vasileva N.S., Richter V.A., Kuligina E.V. Cytotoxic effect of the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus against 3D cultures of human glioblastoma cells U-87 MG. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 162-169. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.15

Received: 29.08.2023
Accepted: 29.11.2023
Published: 29.12.2023

ВВЕДЕНИЕ

Глиобластома (ГБМ) человека или астроцитомы IV степени злокачественности – одна из самых распространённых видов злокачественных первичных опухолей мозга, характеризующаяся высокой инвазивностью, гетерогенностью и агрессивностью протекания опухолевого процесса. При традиционной схеме лечения (стандартной терапией ГБМ является протокол Ступпа), включающей хирургическую резекцию, радио- и химиотерапию темозоломидом, выживаемость пациентов с диагнозом глиобластома составляет всего лишь 26,5 %, общая выживаемость более 10 лет – 0,71 % [1]. Действительно, средняя продолжительность жизни после постановки диагноза составляет около 15 месяцев, при этом в отсутствие терапии выживаемость обычно составляет не более 3 месяцев. Заболевание чаще встречается у мужчин, нежели у женщин, и средний возраст больных на момент постановки диагноза составляет 64 года. Поэтому разработка новых терапевтических подходов для таких трудноизлечимых онкологических заболеваний крайне необходима. Одним из перспективных методов лечения опухолей является виротерапия, основой которой является прямой лизис вирусом опухолевых клеток и вирус-опосредованный противоопухолевый иммунный ответ организма. Противоопухолевая эффективность рекомбинантных вирусов может быть усилена за счёт встройки в их геном генов онкотоксических и иммуномодулирующих белков.

В данной работе был использован рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, продуцирующий гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор человека (GMCSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) и онкотоксический белок лактаптин [2]. Ранее был показан противоопухолевый эффект VV-GMCSF-Lact в отношении рака молочной железы, и в настоящее время проводятся его клинические испытания (ClinicalTrials.gov: NCT05376527). Однако спектр действия данного вируса гораздо шире: в частности, было показано его цитотоксическое и противоопухолевое действие в экспериментах *in vitro* и *in vivo* соответственно при использовании адгезивных культур глиобластомы человека U-87 MG [3]. Известно, что 3D-культуры являются более релевантной моделью опухоли, так как позволяют более полно воспроизвести сценарий развития опухолевого процесса, а также ответ на противоопухолевую терапию.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка онколитического действия VV-GMCSF-Lact в отношении клеток 3D-культур глиобластомы человека U-87 MG. Для большей визуализации цитотоксического эффекта рекомбинантного вируса в данной работе мы использовали клетки глиобластомы человека U-87 MG, предварительно трансдуцированные лентивирусом, несущим репортерный ген *GFP*.

МЕТОДЫ

Культивирование клеток

Клетки линии U-87, трансдуцированные лентивирусом, несущим ген *GFP*, культивировали в полной ростовой среде DMEM/F12 с добавлением 10%-й фетальной бычьей сыворотки (FBS, fetal bovine serum), 2 mM L-глутамина, 1X раствора незаменимых аминокислот MEM и раствора антибиотика (100 ед/мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина сульфата) при 37 °C в CO₂-инкубаторе. Для получения сфероидов микролуночные планшеты AggreWell™800 (STEMCELL Technologies, Канада) обрабатывали Anti-Adherence Rinsing Solution (STEMCELL Technologies, Канада) в течение 10 минут, после чего промывали 1X PBS. Клетки диссоциировали с помощью 0,25%-го раствора трипсина с EDTA и рассаживали в количестве 3×10^6 клеток на лунку в 2 мл ростовой среды. На следующий день меняли половину объёма среды. На третий день сфероиды вымывали из микролунок и переносили в 10 см чашки и культивировали в шейкере-инкубаторе при 37 °C, 5 % CO₂ и постоянной агитации на 80 об/мин, каждые 3–4 дня проводили смену среды.

Определение цитотоксической активности VV-GMCSF-Lact в отношении клеток U-87 MG

Клетки U-87 MG рассаживали на 96-луночный планшет в количестве 4×10^3 клеток на лунку в 100 мкл среды Opti-MEM без содержания фенолового-красного и инкубировали при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂. Через 24 ч к клеткам добавляли VV-GMCSF-Lact. Множественность инфекции вируса варьировали от 0,0012 до 10 БОЕ на клетку. Клетки инкубировали с вирусом в течение 72 ч. Контрольные клетки инкубировали в тех же условиях без добавления вирусного препарата. После инкубации в лунки добавляли по 10 мкл реагента из набора Deep Blue Viability Kit (BioLegend, США) и инкубировали в течение 4 часов при 37 °C. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 570 нм (референсное значение – 620 нм) на спектрофотометре Apollo LB 912 (Berthold Technologies, Германия). Жизнеспособность клеток определяли относительно жизнеспособности контрольных клеток (100 %) $\pm$ SD по результатам трёх независимых экспериментов.

Определение цитотоксической активности VV-GMCSF-Lact в отношении клеток 3D-культур глиобластомы человека U-87 MG

3D-культуры клеток U-87 MG помещали в лунки 96-луночного планшета по 10 штук в лунку и культивировали в 100 мкл полной культуральной среды DMEM/F12. Через 24 ч среду удаляли и заменяли на 50 мкл вирусной суспензии с титром вируса $3,3 \times 10^7$ БОЕ/мл. В контрольные лунки добавляли 50 мкл 1 mM TRIS HCl (pH = 8,5). Для осаждения вируса планшет центрифугировали в течение 20 мин при 500 об/мин. Далее клетки инкубировали в CO₂-инкубаторе при 37 °C в течение 20 мин, после чего добавляли 50 мкл полной культуральной среды DMEM/F12. Цитотоксическое действие вируса анализировали через 24 и 72 часа и на 7-е сутки после инфицирования клеток.

Микроскопия

Образцы 3D-культур клеток после воздействия вируса анализировали прижизненно, в проходящем свете и в зелёном канале FITC с использованием микроскопа Nikon Eclipse Ti (г. Токио, Япония).

Цитофлуориметрический анализ

Образцы клеток после воздействия вируса были диссоциированы ферментативно с помощью реагента Accutax (Stemcell Technologies, Канада) и проанализированы на проточном цитометре BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США) с использованием набора BD Pharmigen FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I, согласно инструкции производителя с небольшими модификациями: использовали только один краситель – пропидий йодид (PI), так как Annexin V – FITC необходимо анализировать в зелёном канале, уже занятом в связи с проведённой трансдукцией клеток U-87 MG. Результаты цитофлуориметрии анализировали в FlowJo™ v. 10 Software (Becton Dickinson, США).

Титрование вируса VV-GMCSF-Lact

Клетки почки зелёной мартышки 4647 рассаживали в 12-луночный планшет по 300 тыс. клеток на лунку, в 2 мл полной среды DMEM с 10%-й эмбриональной сывороткой (FBS) и инкубировали при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂ до образования 90%-го монослоя. Готовили 10-кратные разведения вирусной суспензии в среде DMEM. Удаляли ростовую среду из лунок планшета и добавляли в центр каждой лунки по 100 мкл соответствующего разведения вируса. Планшет с клетками инкубировали при 37 °C в CO₂-инкубаторе в течение 1 часа. Затем добавляли в лунки по 2 мл поддерживающей среды (DMEM + 2 % FBS) и оставляли планшет при 37 °C в CO₂ инкубаторе на 48 часов. Далее удаляли поддерживающую среду, добавляли в лунки с клетками по 1 мл раствора кристаллического фиолетового и оставляли на 20 мин при комнатной температуре. Затем раствор кристаллического фиолетового удаляли и считали бляшки.

Статистический анализ

Количественные переменные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение (SD, standard deviation). Каждый эксперимент повторяли не менее трёх раз. Статистический анализ проводился с использованием GraphPad 6.01 (GraphPad Software, США). Двухфакторный дисперсионный анализ использовался для сравнения более чем двух наборов данных. Различия считались статистически значимыми, если значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клетки глиобластомы человека U-87 MG были трансдуцированы лентивирусной конструкцией, несущей репортерный ген *GFP*, так как в последующем планируется использовать данные клетки для сокультивирования с церебральными органоидами человека. Цитотоксичность вируса в отношении клеток U-87 MG определяли

по пролиферативной активности клеток с использованием резазурина в качестве индикатора. Степень снижения резазурина и продукции резорфуина пропорциональна количеству метаболически активных клеток (живых клеток), присутствующих в культуре. Значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀, half maximal inhibitory concentration), вычисленное в программе CompuSyn, составило 0,024 БОЕ/клетку, что говорит о более высокой чувствительности данной клеточной культуры к вирусу VV-GMCSF-Lact по сравнению с нетрансдуцированной лентивирусом культурой клеток U-87 MG [4].

Сформированные 3D-культуры U-87 MG инкубировали с VV-GMCSF-Lact, титр которого составлял $3,3 \times 10^7$ БОЕ/мл. Данное количество вирусных частиц сопоставимо с таковым при внутриопухолевом введении в организм лабораторного животного в доклинических испытаниях [3]. Дальнейший анализ клеток 3D-культур проводили спустя 24 и 72 ч и 7 дней после инфицирования клеток. Показано, что репликация некоторых онколитических вирусов может увеличиваться уже спустя 24 ч после заражения опухолевых клеток, однако после 72 ч она начинает снижаться [5, 6].

Микроскопический анализ образцов проводили как в проходящем свете, так и с использованием флуоресцентного фильтра для флуоресценции изотиоцианата (FITC, fluorescein isothiocyanate). Нами было показано онколитическое действие VV-GMCSF-Lact на 3D-культуры клеток U-87 MG (рис. 1).

С увеличением времени инкубации с вирусом структура 3D-культур разрушается и количество клеточного дебриса увеличивается («3D-культуры с вирусом_24 часа», «3D-культуры с вирусом_72 часа», «3D-культуры с вирусом_7 дней»), тогда как в контрольных лунках 3D-культуры («Контрольные 3D-культуры_24 часа», «Контрольные 3D-культуры_72 часа», «Контрольные 3D-культуры_7 дней») не изменяются, сохраняя чёткие очертания и ровные края. Интенсивность реакций клеточной гибели оценивали по взаимодействию клеток с пропидий йодидом (PI), маркером некроза. К сожалению, возможно, из-за наличия некротического ядра внутри 3D культур статистически значимой разницы между группами в количестве окрашенных клеток в канале PE не наблюдалось. Известно, что при достижении опухолевым сфероидом диаметра более 500 мкм, в сфероиде обычно наблюдается трёхслойная концентрическая структура, включающая внешний слой пролиферирующих клеток, средний слой покоящихся клеток и центральную некротическую зону, при этом каждая область находится на разных стадиях клеточного цикла [7]. Сложность этой многослойной структуры может быть вызвана недостатком кислорода и питательных веществ, что не наблюдается в 2D-культурах опухолевых клеток. Известно, что лекарственные препараты, растворимые метаболиты, а также концентрация кислорода и pH существуют в виде градиента внутри опухоли: периферические клетки, находящиеся ближе к кровеносным сосудам, имеют больший доступ к растворимым компонентам и кислороду, который уменьшает

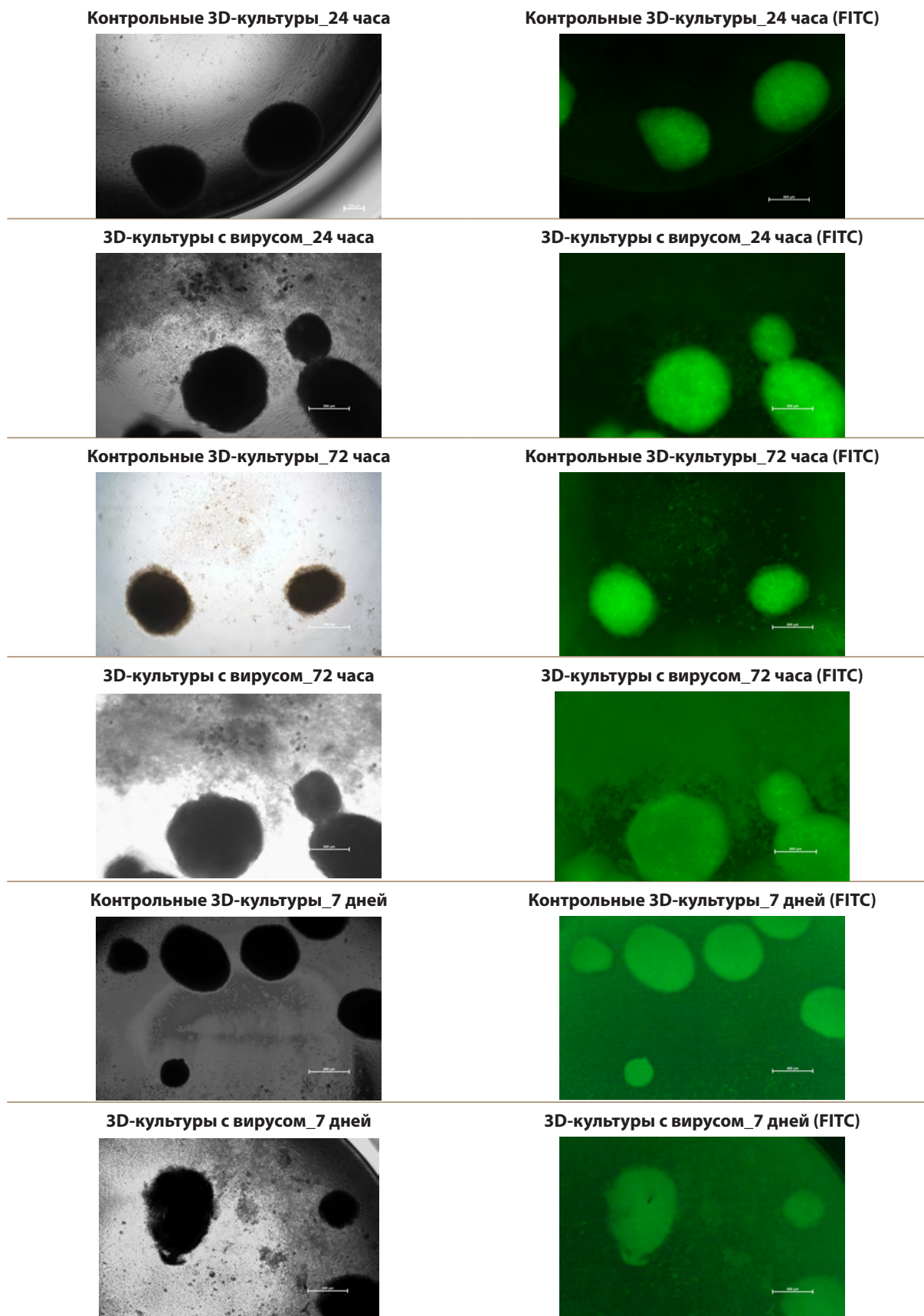


РИС. 1.

Микроскопическое изображение клеток 3D-культур, обработанных онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact, и необработанных контрольных клеток 3D-культур; увеличение микроскопа $\times 40$

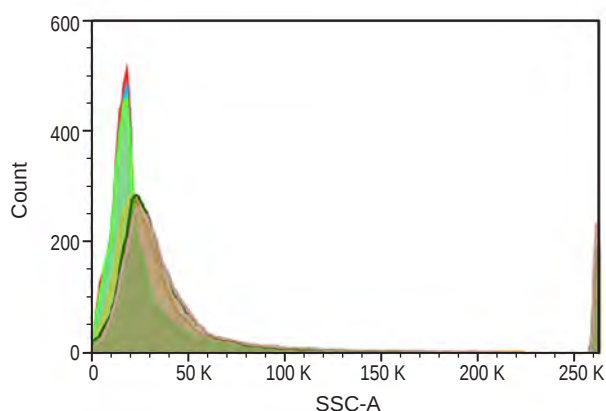
FIG. 1.

Microscopic image of 3D culture cells treated with VV-GMCSF-Lact and untreated control 3D culture cells; microscope magnification $\times 40$

ся по мере его диффузии через внеклеточный матрикс к ядру опухоли. Градиенты концентрации факторов роста, питательных веществ, метаболитов создают внутриопухолевую гетерогенность и влияют на передачу сигналов в микроокружении, включая функцию клеток, пролиферацию, морфогенез и хемотаксис [8]. С точки зрения фармакокинетики градиент концентрации ограничивает проникновение лекарств в опухоль и достижения дозировки, достаточной для оказания терапевтического воздействия на все раковые клетки.

С использованием цитофлуориметрического анализа нами показано статистически значимое увеличение интенсивности бокового светорассеивания, то есть гранулярности клеток 3D-культур во временных точках 24 и 72 ч (рис. 2), что косвенно указывает на активную репликацию вируса в клетках. Так, ранее было показано, что популяции клеток с более высокой интенсивностью бокового светорассеивания (SSC, side scatter) имели больше включений, больше органелл и виросом (вирусных фабрик) [9, 10].

Для оценки эффективности репликации VV-GMCSF-Lact в клетках 3D-культур глиобластомы человека был определён титр вируса на 7-й день после инфицирования клеток [11]. Показано, что вирус эффективно реплицируется в клетках сфероидов; титр составил 0,44 БОЕ/клетку, что в ≈ 18 раз превышает IC50 для соответствующих адгезивных культур, что ещё раз подтверждает литературные данные о резистентности 3D-культур по сравнению с адгезивными клетками при тестировании цитотоксичности противоопухолевых препаратов [12]. Скорее всего, репликация вируса происходит во внешнем клеточном слое сфероида, однако для точного выявления локализации этого процесса необходимо провести дополнительные эксперименты.



а

РИС. 2.

а – распределение клеток 3D-культур по интенсивности бокового светорассеивания; проточная цитометрия. **б** – средняя интенсивность бокового светорассеивания клеток 3D-культур, обработанных вирусом (в_24 ч, в_72 ч, в_7 д) по сравнению с клетками контрольной группы (к_24 ч, к_72 ч, к_7 д)

Таким образом, клетки, культивируемые в более крупных трёхмерных агрегатах, имитируют состояние *in vivo*, находясь в различных пролиферативных состояниях, основанных на доступе к питательным веществам, который ограничен градиентом концентрации. И хотя 2D-культуры по-прежнему преимущественно используются для разработки лекарственных средств из-за своей простоты и совместимости с платформами скрининга, системы 3D-культуры имеют многочисленные преимущества по сравнению с 2D-культурой клеток. Так, 3D-модели культуры клеток более точно отражают патофизиологическую микросреду, позволяющую опухолевым клеткам агрегировать, размножаться и проявлять фенотипы, как они это делают внутри организма [13]. Сложные клеточные взаимодействия между другими клетками и трёхмерной матрицей имеют решающее значение для поддержания структуры, функции и подвижности опухолевых клеток. Поскольку миграция клеток происходит в трёх измерениях, матрица обеспечивает топологию, имитирующую трёхмерную архитектуру ткани, позволяя клеткам прикрепляться и взаимодействовать с окружающей средой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

3D-культуры являются более релевантной моделью для тестирования противоопухолевых препаратов в сравнении с адгезивными моделями. Более того, переход к 3D-доклиническим моделям стал более привлекательным, поскольку совершенствование технологий тканевой инженерии сделало 3D-культуру клеток более адаптируемой и настраиваемой в зависимости от факторов микроокружения, чтобы лучше отражать функциональную па-

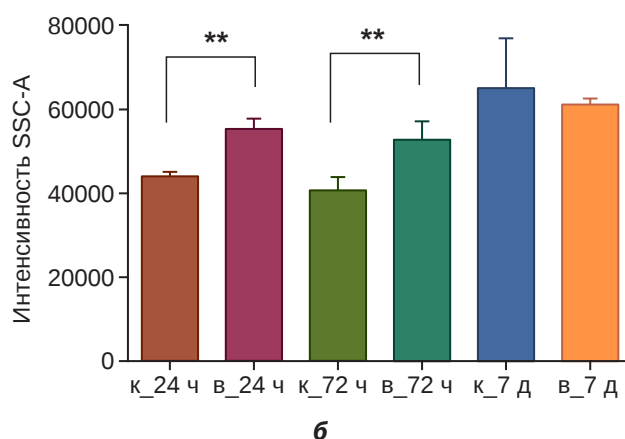


FIG. 2.

а – distribution of cells in 3D cultures by the intensity of side scattering; flow cytometry. **б** – the average intensity of side scattering of cells in 3D cultures treated with the virus (v_24 ч, v_72 ч, v_7 д) compared to the cells of the control group (к_24 ч, к_72 ч, к_7 д)

тологию опухолей *in vivo*. Использование 3D-культур позволяет в том числе оценить способность онколитических препаратов проникать в опухоль и воздействовать на её внутренние структуры. В то же время формирование некротического ядра опухоли затрудняет анализ онколитического действия вируса с помощью цитометрии. Таким образом, необходимо использовать несколько аналитических методов для оценки противоопухолевой эффективности терапевтических препаратов.

В дальнейшем для тестирования цитотоксического действия VV-GMCSF-Lact планируется использовать не только 3D-культуры глиобластомы человека, но и химерные церебральные органоиды, полученные в процессе сокультивирования опухолевых клеток и церебральных органоидов человека [14]. Такая клеточная модель позволяет воссоздать трёхмерную цитоархитектонику некоторых отделов мозга, что открывает уникальные возможности исследования взаимодействия опухолевых клеток и клеток головного мозга, а также влияния онколитического препарата на здоровую нервную ткань и микроокружение глиальной опухоли [15].

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-64-00041 (https://rscf.ru/prjcard_int?22-64-00041).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tykocki T, Eltayeb M. Ten-year survival in glioblastoma. A systematic review. *J Clin Neurosci*. 2018; 54: 7-13. doi: 10.1016/j.jocn.2018.05.002
2. Koval O, Kochneva G, Tkachenko A, Troitskaya O, Sivolobova G, Grazhdantseva A, et al. Recombinant vaccinia viruses coding transgenes of apoptosis-inducing proteins enhance apoptosis but not immunogenicity of infected tumor cells. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 3620510. doi: 10.1155/2017/3620510
3. Vasileva N, Ageenko A, Dmitrieva M, Nushtaeva A, Mishinov S, Kochneva G, et al. Double recombinant vaccinia virus: A candidate drug against human glioblastoma. *Life (Basel)*. 2021; 11(10): 1084. doi: 10.3390/life11101084

4. Vasileva NS, Ageenko AB, Richter VA, Kuligina EV. The signaling pathways controlling the efficacy of glioblastoma therapy. *Acta Naturae*. 2022; 14(2): 62-70. doi: 10.32607/actanaturae.11623
5. Banijamali RS, Soleimanjahi H, Soudi S, Karimi H, Abdoli A, Seyed Khorrami SM, et al. Kinetics of oncolytic reovirus T3D replication and growth pattern in mesenchymal stem cells. *Cell J*. 2020; 22(3): 283-292. doi: 10.22074/cellj.2020.6686
6. O'Leary MP, Warner SG, Kim SI, Chaurasiya S, Lu J, Choi AH, et al. A novel oncolytic chimeric orthopoxvirus encoding luciferase enables real-time view of colorectal cancer cell infection. *Mol Ther Oncolytics*. 2018; 9: 13-21. doi: 10.1016/j.omto.2018.03.001
7. Huang Y, Wang S, Guo Q, Kessel S, Rubinoff I, Chan LL, et al. Optical coherence tomography detects necrotic regions and volumetrically quantifies multicellular tumor spheroids. *Cancer Res*. 2017; 77(21): 6011-6020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0821
8. Langhans SA. Three-dimensional *in vitro* cell culture models in drug discovery and drug repositioning. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 6. doi: 10.3389/fphar.2018.00006
9. Xin X, Wang H, Han L, Wang M, Fang H, Hao Y, et al. Single-cell analysis of the impact of host cell heterogeneity on infection with foot-and-mouth disease virus. *J Virol*. 2018; 92(9): e00179-18. doi: 10.1128/JVI.00179-18
10. Novoa RR, Calderita G, Arranz R, Fontana J, Granzow H, Risco C. Virus factories: Associations of cell organelles for viral replication and morphogenesis. *Biol Cell*. 2005; 97(2): 147-172. doi: 10.1042/BC20040058
11. Kochneva G, Sivolobova G, Tkacheva A, Grazhdantseva A, Troitskaya O, Nushtaeva A. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. *Oncotarget*. 2016; 7(45): 74171-74188. doi: 10.18632/oncotarget.12367
12. Law AMK, Rodriguez de la Fuente L, Grundy TJ, Fang G, Valdes-Mora F, Gallego-Ortega D. Advancements in 3D cell culture systems for personalizing anti-cancer therapies. *Front Oncol*. 2021; 11: 782766. doi: 10.3389/fonc.2021.782766
13. Gjorevski N, Piotrowski AS, Varner VD, Nelson CM. Dynamic tensile forces drive collective cell migration through three-dimensional extracellular matrices. *Sci Rep*. 2015; 5: 11458. doi: 10.1038/srep11458
14. Lancaster MA, Renner M, Martin CA, Wenzel D, Bicknell LS, Hurler ME, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*. 2013; 501(7467): 373-379. doi: 10.1038/nature12517
15. Ogawa J, Pao GM, Shokhirev MN, Verma IM. Glioblastoma model using human cerebral organoids. *Cell Rep*. 2018; 23(4): 1220-1229. doi: 10.1016/j.celrep.2018.03.105

Сведения об авторах

Дымова Майя Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: maya.a.rot@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7281-9096>

Шнайдер Татьяна Александровна – младший научный сотрудник сектора геномных механизмов онтогенеза, ФГБУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: shnyder.t@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7452-8372>

Чечёткина Софья Александровна – студентка, ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет», e-mail: s.tschetschekina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0656-5806>

Петров Глеб Олегович – старший лаборант лаборатории биотехнологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: petrov.olegovich@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2924-5920>

Малышева Дарья Олеговна – лаборант лаборатории биотехнологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: d.malysheva@ngsu.ru, <https://orcid.org/0009-0005-1210-1815>

Дроков Данил Валерьевич – студент, ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет», e-mail: d.drokov@ngsu.ru, <https://orcid.org/0009-0001-7343-4438>

Агеенко Алиса Борисовна – инженер первой категории лаборатории биотехнологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: a.ageenko@alumni.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6909-7301>

Васильева Наталья Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории геномного редактирования, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: nataly_vas@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0392-794X>

Рихтер Владимир Александрович – заведующий лабораторией биотехнологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: richter@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5849-5892>

Кулигина Елена Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: kuligina@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3145-1878>

Information about the authors

Maya A. Dymova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Biotechnology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: maya.a.rot@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7281-9096>

Tatiana A. Shnaider – Junior Research Officer at the Department of Genomic Mechanisms of Ontogenesis, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shnayder.t@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7452-8372>

Sophia A. Chechetkina – student, Novosibirsk State University, e-mail: s.tschetschekina@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0656-5806>

Gleb O. Petrov – Senior Clinical Research Assistant at the Laboratory of Biotechnology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: petrov.olegovich@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2924-5920>

Daria O. Malysheva – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Biotechnology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: d.malysheva@g.nsu.ru, <https://orcid.org/0009-0005-1210-1815>

Danil V. Drovkov – student, Novosibirsk State University, e-mail: d.drovkov@g.nsu.ru, <https://orcid.org/0009-0001-7343-4438>

Alisa B. Ageenko – Engineer of the First Category at the Laboratory of Biotechnology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: a.ageenko@alumni.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6909-7301>

Natalia S. Vasileva – Junior Research Officer at the Laboratory of Genomic Editing, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: nataly_vas@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0392-794X>

Vladimir A. Richter – Head of the Laboratory of Biotechnology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: richter@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5849-5892>

Elena V. Kuligina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Biotechnology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: kuligina@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3145-1878>

Статья опубликована в рамках IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Развитие физико-химической биологии, биотехнологии и биоинформатики на современном этапе».

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ КОМБИНИРОВАННОГО СПОСОБА КОРРЕКЦИИ ПОСТКЕРАТОПЛАСТИЧЕСКОГО АСТИГМАТИЗМА ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ У ПАЦИЕНТА С КАТАРАКТОЙ

Синицын М.В.,
Поздеева Н.А.

Чебоксарский филиал ФГАУ
«НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (428028, г. Чебоксары,
просп. Тракторостроителей, 10, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Синицын Максим Владимирович,
e-mail: mntksinycin@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Выполнение сквозной кератопластики (СКП) приводит в 100 % случаев к возникновению индуцированного посткератопластического астигматизма (ПА), который может быть более 12 дптр. При возникновении у данной категории пациентов катаракты выполнение факоэмульсификации катаракты (ФЭК) с имплантацией торической интраокулярной линзы (тИОЛ) не позволяет полностью решить проблему. Применение метода имплантации интрастромальных роговичных сегментов (ИРС) на I этапе до ФЭК позволяет снизить степень ПА и создать оптимальные условия для докоррекции остаточного ПА за счёт имплантации тИОЛ во время ФЭК.

Цель исследования. Провести анализ клинико-функциональных показателей коррекции регулярного посткератопластического астигматизма высокой степени у пациента с катарактой комбинированным способом, включающим вначале имплантацию интрастромальных роговичных сегментов и последующее выполнение факоэмульсификации катаракты с имплантацией торической интраокулярной линзы, на примере клинического случая.

Материал и методы. К нам обратился пациент 55 лет с катарактой, в анамнезе у которого была выполнена сквозная кератопластика. По данным кератотопограммы был диагностирован регулярный ПА 18,68 дптр. Пациенту был выполнен комбинированный метод. На I этапе в роговичный трансплантат были имплантированы ИРС, затем через 6 мес. был выполнен II этап – ФЭК с имплантацией тИОЛ.

Результаты. Через 6 мес. после имплантации ИРС у пациента произошла стабилизация кератометрических данных, роговичный астигматизм снизился до 8,98 дптр. Затем пациенту была выполнена ФЭК с имплантацией тИОЛ. Через 1 мес. сферический компонент рефракции составил 0,5 дптр, цилиндрический компонент рефракции –0,5 дптр, острота зрения повысилась до 1,0.

Заключение. Комбинированный способ коррекции регулярного ПА высокой степени у пациента с катарактой показал высокий рефракционный результат, стабильность и безопасность в отдалённом послеоперационном периоде.

Ключевые слова: посткератопластический астигматизм, интрастромальные роговичные сегменты, катаракта

Для цитирования: Синицын М.В., Поздеева Н.А. Клинический случай комбинированного способа коррекции посткератопластического астигматизма высокой степени у пациента с катарактой. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 170-177. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.16

Статья поступила: 07.01.2023
Статья принята: 15.11.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

A CLINICAL CASE OF A COMBINED METHOD FOR CORRECTING POSTKERATOPLASTIC ASTIGMATISM OF A HIGH DEGREE IN A PATIENT WITH CATARACT

Sinitsyn M.V.,
Pozdeyeva N.A.

Cheboksary Branch of the S. Fyodorov
Eye Microsurgery Federal State
Institution (Traktorstroiteley ave. 10,
Cheboksary 428028, Russian Federation)

Corresponding author:
Maxim V. Sinitsyn,
e-mail: mntksinichin@mail.ru

ABSTRACT

Background. Performing penetrating keratoplasty in 100 % of cases leads to the occurrence of induced postkeratoplasty astigmatism, which can be more than 12,0 D. If cataracts occur in this category of patients, performing cataract phacoemulsification with implantation of a toric intraocular lens (tIOL) does not completely solve the problem. The use of the method of implantation of intrastromal corneal segments at stage I before cataract phacoemulsification makes it possible to reduce the degree of postkeratoplasty astigmatism and create optimal conditions for additional correction of residual postkeratoplasty astigmatism due to the implantation of tIOL during cataract phacoemulsification.

The aim. To analyze the clinical and functional indicators of correction of regular high-grade postkeratoplasty astigmatism in a patient with cataracts using a combined method, including first implantation of intrastromal corneal segments and subsequent cataract phacoemulsification with implantation of toric intraocular lens using the example of a clinical case.

Material and methods. A 55-year-old patient with cataracts, who had a history of undergoing penetrating keratoplasty, contacted us. According to the keratogram data, a regular postkeratoplasty astigmatism of 18.68 D was diagnosed. The patient underwent a combined method. At stage I, intrastromal corneal segments were implanted into the corneal graft, then after 6 months stage II was performed – cataract phacoemulsification with implantation of tIOL.

Results. Six months after intrastromal corneal segments implantation, the patient's keratometric data stabilized, and corneal astigmatism decreased to 8.98 D. Then the patient underwent cataract phacoemulsification with tIOL implantation. After 1 month, the spherical component of refraction was 0.5 D, the cylindrical component of refraction was –0.5 D, visual acuity increased to 1.0.

Conclusions. A combined method for correcting regular high-grade postkeratoplasty astigmatism in a patient with cataracts showed high refractive results, stability and safety in the long-term postoperative period.

Key words: postkeratoplastic astigmatism, intrastromal corneal segments, cataract

Received: 07.01.2023
Accepted: 15.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Sinitsyn M.V., Pozdeyeva N.A. A clinical case of a combined method for correcting postkeratoplastic astigmatism of a high degree in a patient with cataract. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 170-177. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.16

АКТУАЛЬНОСТЬ

Возникновение катаракты у пациентов после сквозной кератопластики (СКП) снижает их остроту зрения и требует её хирургического лечения [1]. С другой стороны, после СКП в каждом случае диагностируется индуцированный посткератопластический астигматизм (ПА), который может быть высокой степени и иррегулярной формы [2]. Это в свою очередь приводит к повышению роговичных aberrаций, особенно высших порядков, снижающих остроту зрения и приводящих к неудовлетворённости пациента оптическим результатом операции [3]. Выполнение фактоэмульсификации катаракты (ФЭК) с имплантацией торической интраокулярной линзы (тиОЛ) позволяет одновременно избавить пациента от катаракты и компенсировать роговичный астигматизм при его регулярной форме [4, 5]. Однако данная методика ограничена значением торического компонента выпускаемых тиОЛ до 12 дптр включительно. Таким образом, коррекция регулярного ПА более 12 дптр у пациента с катарактой требует применения дополнительного метода коррекции. В настоящее время всё большую популярность для увеличения регулярности роговичного трансплантата и снижения степени ПА получает имплантация интрастромальных роговичных сегментов (ИРС) в роговичный трансплантат в связи с отсутствием регресса ПА спустя годы после операции по сравнению с рефракционной лазерной хирургией [6, 7]. В связи с вышесказанным метод имплантации ИРС может быть использован в комбинированном лечении таких пациентов с катарактой при ПА более 12 дптр.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ клинико-функциональных показателей коррекции регулярного посткератопластического астигматизма высокой степени у пациента с катарактой комбинированным способом, включающим вначале имплантацию интрастромальных роговичных сегментов с применением фемтосекундного лазера и последующим выполнением фактоэмульсификации катаракты с имплантацией торической интраокулярной линзы на примере клинического случая.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пациент Н., 55 лет, обратился в филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России с жалобами на низкое зрение и туман перед левым глазом в течение последних 2 лет. Офтальмологический анамнез: в 2002 г. на правом глазу была выполнена сквозная кератопластика (СКП) по поводу кератоконуса IV стадии. При поступлении некорригированная острота зрения (НКОЗ) составила 0,03 н/к, внутриглазное давление – 15 мм рт. ст. по Маклакову, переднезадняя ось глаза –

23,54 мм. При биомикроскопии роговичный трансплантат был прозрачный, имел диаметр 8,0 мм; передняя камера имела среднюю глубину; зрачок – 3,5 мм, фото-реакция III степени; радужка спокойная, без структурных изменений; в хрусталике визуализировались заднекапсулярные помутнения, глубже лежащие среды чётко не просматривались из-за помутнения хрусталика. По данным кератотопограммы на аппарате TMS-4 (Tomey, Япония) визуализировался регулярный ПА высокой степени 18,68 дптр (рис. 1).

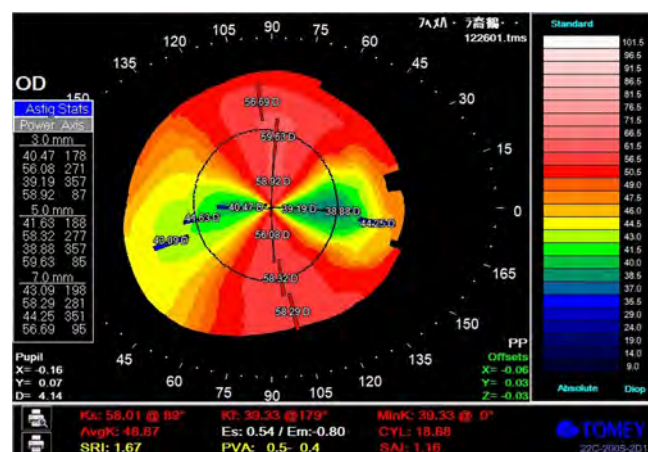


РИС. 1.

Кератотопограмма пациента Н. с индуцированным регулярным посткератопластическим астигматизмом высокой степени

FIG. 1.

Keratotopogram of patient N. with high degree induced regular postkeratoplastic astigmatism

По результатам оптической когерентной томографии (ОКТ) роговицы на аппарате OCT Casia 2 (Tomey, Германия), минимальная толщина роговичного трансплантата в центре составила 457 мкм. Плотность эндотелиальных клеток (ПЭК), измеренная на приборе Confoscan-4 (Nidek, Япония), – 1925 кл/мм². По данным электрофизиологического исследования на аппарате Diopsys (NOVA, США), лабильность зрительного нерва левого глаза была в пределах нормы. По данным ультразвукового В-сканирования на аппарате Tomey UD-8000 (Tomey, Германия), оболочки прилежат. По результатам обследования был выставлен диагноз на левый глаз: Регулярный посткератопластический астигматизм высокой степени, состояние после сквозной кератопластики, заднекапсулярная катаракта.

Коррекция регулярного ПА проводилась в 2 этапа. 1-м этапом была выполнена имплантация двух ИРС в сквозной роговичный трансплантат с применением фемтосекундного лазера (ФСЛ) для снижения степени ПА менее 12 дптр. Пациенту были имплантированы два одинаковых ИРС (ООО «Научно-экспериментальное производство Микрохирургия глаза», Россия), изготовленные из полиметилметакрилата, имеющие на поперечном срезе форму полусферы; внутренний ради-

ус – 5,0 мм, наружный – 6,2 мм, высота – 350 мкм, длина дуги – 90°. Расчёт параметров ИРС для имплантации в роговичный трансплантат производился согласно существующим номограммам [8]. Затем 2-м этапом, через 6 мес. после стабилизации клинко-функциональных показателей, была проведена ФЭК с имплантацией тИОЛ для докоррекции остаточного ПА. Такая последовательность была выбрана не только для снижения значения роговичного астигматизма (РА) на 1-м этапе за счёт имплантации ИРС в роговичный трансплантат, но в основном – для создания оптимальных условий для точного расчёта тИОЛ и её центрации на 2-м этапе благодаря увеличению сферичности и регулярности роговичного трансплантата.

Имплантация ИРС в сквозной роговичный трансплантат была выполнена с помощью российского ФСЛ «ФемтоВизум» 1 МГц (Троицк, Россия). Перед операцией пациенту была произведена разметка расположения интрастромального тоннеля симметрично относительно зрительной оси пациента, которая определялась по световому рефлексу Пуркинье, когда пациент смотрел на фиксационную метку операционного микроскопа. Операция проходила в два этапа. На первом этапе при помощи ФСЛ был сформирован интрастромальный тоннель в роговичном трансплантате с внутренним диаметром резекции 5,0 мм и наружным 6,2 мм, на глубине 385 мкм. На втором этапе через входной вертикальный рез в сформированный интрастромальный тоннель имплантировали два ИРС высотой 350 мкм, с длиной дуги 90° и располагали их параллельно относительно сильной оси ПА по данным кератотопограммы с целью её уплощения между имплантированными ИРС.

Спустя 6 мес. после имплантации ИРС в сквозной роговичный трансплантат пациенту была проведена ФЭК с имплантацией тИОЛ AT Torbi 709M (Carl Zeiss, Германия) оптической силой 16 дптр с торическим компонентом 8,0 дптр для докоррекции остаточного роговичного астигматизма. Для расчёта оптической силы тИОЛ использовали кератотопографические данные, данные оптической биометрии и online-калькуляторы расчёта ИОЛ (Kane Formula, Barrett Universal II Formula). Перед операцией пациенту за щелевой лампой проводили разметку горизонтальной оси роговичного трансплантата. Во время предоперационной подготовки пациент получал инстилляцию нестероидного противовоспалительного препарата, а утром в день операции – дополнительно инстилляцию мидриатика по одной капле трёхкратно за 30 мин до операции. ФЭК с имплантацией тИОЛ выполнялась на аппарате Infinity (Alcon, США) по стандартной методике. При помощи кольца Мендеса на операционном столе пациенту была выполнена разметка сильной оси кератометрии роговичного трансплантата, по которой выполнялся основной тоннельный разрез длиной 1,8–2,2 мм, парацентезы были расположены на 3 и 9 часах. Глубина передней камеры поддерживалась на этапе капсулорексиса введением в неё вискоэластика. Капсулорексис выполнялся изогнутой инсулиновой иглой. Удаление ядра хрусталика

выполнялось при помощи фактоэмульсификатора. Кортикальные массы и эпинуклиус удалялись при помощи коаксиального ирригационно-аспирационного накопника. тИОЛ имплантировалась инъектором, и затем метки цилиндрического компонента тИОЛ были отцентрированы по меткам, нанесённым на роговичный трансплантат перед операцией, соответствующим сильной оси ПА, согласно данным кератотопограммы. В конце операции вымывался вискоэластик из передней камеры при помощи канюли Симко. Основной разрез и парацентезы герметизировались стерильным физиологическим раствором. По завершении операции выполнялась субконъюнктивная инъекция антибиотика и кортикостероида.

Пациенту, кроме стандартных методов обследования, были проведены: оптическая биометрия с определением длины глаза, глубины передней камеры, толщины хрусталика на аппарате A-Scan Plus (Stormoff NRW GmbH, Германия); кератотопография на кератотопографе Tomey 4 (Tomey, Япония); подсчёт ПЭК на приборе Confoscan-4 (Nidek, Япония); кератопахиметрия на OCT Casia 2 (Tomey, Германия); оценка вязко-эластических свойств роговичного трансплантата на приборе ORA (Reichert, США); подсчёт потока белка и количества клеток во влаге передней камеры при помощи прибора FC-2000 (Kowa, Япония). Срок наблюдения после ФЭК составил 6 мес.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При выполнении имплантации ИРС в сквозной роговичный трансплантат с применением ФСЛ интра- и послеоперационных осложнений отмечено не было. При биомикроскопии в первый день после операции сквозной роговичный трансплантат был прозрачный, ИРС центрированы, в хрусталике визуализировались заднекапсулярные помутнения, глубже лежащие среды чётко не просматривались из-за помутнения хрусталика.

При осмотре на следующий день после имплантации ИРС НКОЗ пациента увеличилась на 0,02, корригированная острота зрения (КОЗ) – на 0,07, и данные показатели больше не менялись в течение 6 мес. (табл. 1).

Сферический компонент рефракции (СКР) не удалось измерить из-за помутнения хрусталика. Роговичный астигматизм (РА) снизился на 10,58 дптр; среднее значение кератометрии (Кср.) – на 1,42 дптр и больше не менялось; индекс регулярности роговичной поверхности (SRI, Surface Regularity Index) – на 0,39; индекс асимметрии роговичной поверхности (SAI, Surface Asymmetry Index) – на 0,3; фактор резистентности роговицы (ФРР) повысился на 0,5 мм рт. ст.; корнеальный гиостерезис (КГ) – на 0,3 мм рт. ст.

Через 1 мес. после операции РА повысился на 0,45 дптр, SRI понизился ещё на 0,06, SAI – ещё на 0,09, ФРР увеличился ещё на 0,2 мм рт. ст., КГ – на 0,4 мм рт. ст.

Через 6 мес. после операции РА повысился ещё на 0,43 дптр, SRI понизился ещё на 0,12, SAI –

ТАБЛИЦА 1

ДАННЫЕ КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДО И В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ ИНТРАСТРОМАЛЬНЫХ РОГОВИЧНЫХ СЕГМЕНТОВ В СКВОЗНОЙ РОГОВИЧНЫЙ ТРАНСПЛАНТАТ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА

TABLE 1

CLINICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS BEFORE AND WITHIN DIFFERENT TIMEFRAMES AFTER INTRASTROMAL CORNEAL SEGMENTS IMPLANTATION INTO PENETRATING CORNEAL GRAFT USING FEMTOSECOND LASER

Параметры	До операции	1-й день после операции	1 мес. после операции	6 мес. после операции
НКОЗ	0,03	0,05	0,05	0,05
КОЗ	0,03	0,1	0,1	0,1
СКР, дптр	не измерить	не измерить	не измерить	не измерить
РА, дптр	-18,68	-8,1	-8,55	-8,98
Кср., дптр	48,67	47,25	47,25	47,25
SRI	1,67	1,28	1,22	1,1
SAI	1,16	0,84	0,75	0,5
КГ, мм рт. ст.	8,1	8,4	8,8	9,1
ФРР, мм рт. ст.	8,4	8,9	9,1	9,6
Минимальное значение пахиметрии сквозного роговичного трансплантата в центре, мкм	457	462	459	458
ПЭК, кл/мм ²	1925	1925	1921	1906
Поток белка во влаге передней камеры, ф/мс	2,3	3,15	2,3	2,3
Количество клеток во влаге передней камеры, кл/мм ³	1,55	2,3	1,6	1,63

Примечание. СКР – сферический компонент рефракции; Кср. – среднее значение кератометрии; SRI – индекс регулярности роговичной поверхности (Surface Regularity Index); SAI – индекс асимметрии роговичной поверхности (Surface Asymmetry Index); КГ – корнеальный гистерезис; ФРР – фактор резистентности роговицы

ещё на 0,25, ФРР увеличился ещё на 0,5 мм рт.ст., КГ – на 0,3 мм рт. ст. [2].

Таким образом, имплантация ИРС в роговичный трансплантат не только значительно снизила значение ПА, но и увеличила сферичность и регулярность роговичного трансплантата, что подтверждалось снижением РА, индексов SRI и SAI. Это в свою очередь создало оптимальные условия для полной докоррекции остаточного РА при ФЭК с имплантацией тИОЛ за счёт повышения точности расчёта и центрации ИОЛ, т. к. более симметрично стало меняться значение кератометрии вдоль главных меридианов, что подтверждалось достижением показателей нормы индекса SAI. С другой стороны, имплантированные в роговичный трансплантат ИРС создали в нём дополнительный «каркас жёсткости», что повысило его биомеханические свойства. По литературным данным, именно повышение биомеханических свойств роговичного трансплантата позволяет сохранить полученный рефракционный результат в отдалённом послеоперационном периоде, в отличие от рефракционных лазерных операций, при которых биомеханические свойства роговичного трансплантата ослабевают при уменьшении его толщины, что в свою очередь вызывает регресс рефракционного результата с годами [7].

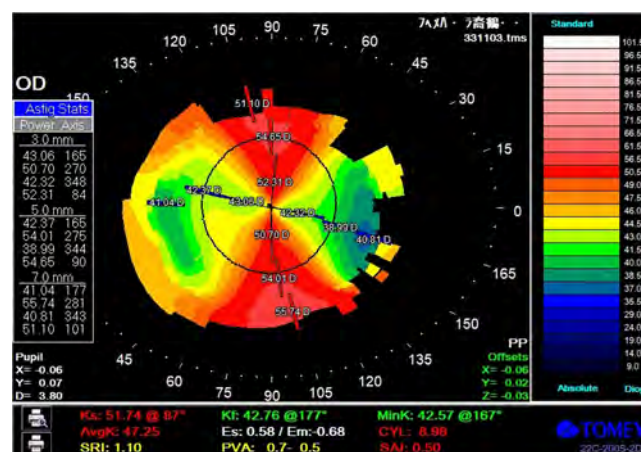


РИС. 2.

Кератотопограмма пациента Н. через 6 мес. после имплантации интрастромальных роговичных сегментов в сквозной роговичный трансплантат с применением фемтосекундного лазера: отмечается увеличение регулярности и сферичности роговичного трансплантата со снижением степени роговичного астигматизма на 9,7 дптр

FIG. 2.

Keratotopogram of patient N. 6 months after intrastromal corneal segments implantation into penetrating corneal graft using femtosecond laser: an increase in the regularity and sphericity of the corneal graft with a decrease in the degree of corneal astigmatism by 9.7 D

Правильное положение ИРС подтверждалось данными ОКТ роговичного трансплантата (рис. 3).

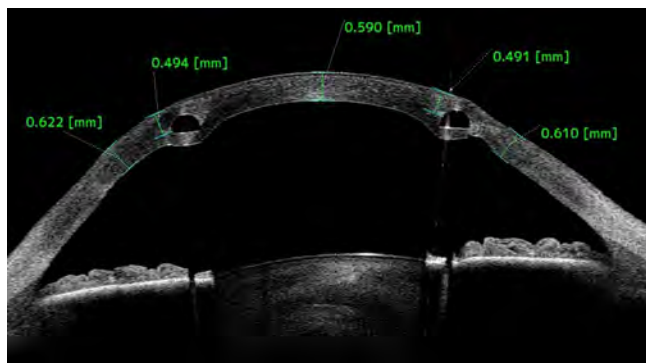


РИС. 3.

Оптическая когерентная томограмма сквозного роговичного трансплантата пациента Н. после имплантации интрастромальных роговичных сегментов с применением фемтосекундного лазера: визуализируется профиль интрастромальных роговичных сегментов, расположенных на глубине 385 мкм

FIG. 3.

Optical coherence tomogram of penetrating corneal graft of patient N. after intrastromal corneal segments implantation using femtosecond laser: the profile of intrastromal corneal segments which are located at a depth of 385 μm is visualized

В послеоперационном периоде по данным ОКТ роговицы не было отмечено изменения толщины роговичного трансплантата в центре.

Потеря ПЭК через 6 мес. после имплантации ИРС в сквозной роговичный трансплантат с применением ФСЛ составила 1,0 %, что не превышает физиологической потери. По данным прибора FC-2000, количество клеток и поток белка во влаге передней камеры на следующий день после операции незначительно увеличились, однако не превышали пределов нормы. Показатели лазерной тиндалеметрии достигли дооперационных значений в течение 1 месяца после операции и больше не повышались.

Спустя 6 мес. после имплантации ИРС в роговичный трансплантат пациенту была проведена ФЭК с имплантацией тИОЛ для одномоментной докоррекции остаточного роговичного астигматизма.

Интра- и послеоперационных осложнений отмечено не было. Пациент после операции отмечал субъективно значительное повышение остроты зрения. При биомикроскопии оптические среды были прозрачные, два имплантированных ИРС и тИОЛ центрированы (рис. 4).

При осмотре на следующий день после ФЭК НКОЗ увеличилась на 0,85, КОЗ – на 0,8. РА снизился на –0,48 дптр. СКР составил 1,0 дптр, цилиндрический компонент рефракции (ЦКР) составил –1,0 дптр (табл. 2).

Через 1 мес. после операции НКОЗ и КОЗ повысились ещё на 0,1; РА снизился ещё на –0,25 дптр, СКР – на 0,5 дптр, ЦКР – на –0,5 дптр, и данные параметры больше не менялись.



РИС. 4.

Внешний вид глаза пациента Н. на следующий день после факэмульсификации катаракты с имплантацией торической ИОЛ после ранее выполненной имплантации интрастромальных роговичных сегментов в роговичный трансплантат с применением фемтосекундного лазера: визуализируются симметрично расположенные относительно сильного вертикального меридиана роговичного трансплантата интрастромальные роговичные сегменты, в проекции зрачка – торическая ИОЛ

FIG. 4.

The appearance of the eye of the patient N the next day after cataract phacoemulsification with implantation of toric intraocular lens and after implantation of intrastromal corneal segments into corneal graft using femtosecond laser: intrastromal corneal segments are symmetrically located relative to the strong vertical meridian of the corneal graft, a toric intraocular lens is visualized in the projection of the pupil

При хирургическом лечении катаракты у пациентов после СКП большое значение имеет исходный дооперационный показатель ПЭК, а также степень его потери после ФЭК. В описанном клиническом случае дооперационное значение ПЭК 1906 кл/мм² является достаточным для проведения ФЭК. При измерении ПЭК на следующий день после ФЭК было отмечено его снижение на 5,5 % до значения 1801 кл/мм², что практически в 3 раза выше критического его значения в 500–700 кл/мм² [9]. Таким образом, операция прошла безопасно в плане риска развития болезни трансплантата. По литературным данным, применение во время хирургии катаракты у пациентов после СКП современных вискоэластиков приводит к потере ПЭК в пределах 5–8 %, что соответствует результатам нашего исследования [10]. Потеря ПЭК к 6 мес. после операции увеличилась ещё на 1,1 %, что не превышает физиологической потери в пределах 2,5 % за полгода после СКП [11].

На следующий день после ФЭК при подсчёте потока белка в передней камере на приборе FC-2000 было отмечено его увеличение в 5,4 раза, а количество клеток во влаге передней камеры – в 6,8 раза. Спустя 1 мес. после ФЭК значения данных показателей соответствовали дооперационным и больше не менялись.

ТАБЛИЦА 2

ДАННЫЕ КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДО И В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ФАКОЭМУЛЬСИФИКАЦИИ КАТАРАКТЫ С ИМПЛАНТАЦИЕЙ ТОРИЧЕСКОЙ ИОЛ У ПАЦИЕНТА ПОСЛЕ РАНЕЕ ВЫПОЛНЕННОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ИРС В РОГОВИЧНЫЙ ТРАНСПЛАНТАТ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА

TABLE 2

CLINICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS BEFORE AND WITHIN DIFFERENT TIMEFRAMES AFTER CATARACT PHACOEMULSIFICATION WITH TORIC INTRAOCULAR LENS IMPLANTATION IN A PATIENT AFTER INTRASTROMAL CORNEAL SEGMENTS IMPLANTATION INTO CORNEAL GRAFT USING FEMTOSECOND LASER

Параметры	До операции	1-й день после операции	Через 1 мес. после операции	Через 6 мес. после операции
НКОЗ	0,05	0,9	1,0	1,0
КОЗ	0,1	0,9	1,0	1,0
РА, дптр	-8,98	-8,5	-8,25	-8,25
СКР, дптр	не измерить	1,0	0,5	0,5
ЦКР, дптр	не измерить	-1,0	-0,5	-0,5
ПЭК, кл/мм ²	1906	1801	1797	1781
Поток белка во влаге передней камеры, ф/мс	2,3	12,4	2,2	2,3
Количество клеток во влаге передней камеры, кл/мм ³	1,63	11,1	1,68	1,65

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинированный способ коррекции регулярного ПА высокой степени у пациента с катарактой методами имплантации ИРС в роговичный трансплантат с последующей ФЭК с имплантацией ТИОЛ показал высокий рефракционный результат, стабильность и безопасность в отдалённом послеоперационном периоде.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Jusufovic V, Cabric E, Vodencarevic AN. Simultaneous penetrating keratoplasty, cataract removal and intraocular lens implantation in Tuzla, Bosnia and Herzegovina. *Med Arch*. 2019; 73(2): 123-125. doi: 10.5455/medarh.2019.73.123-125
2. Penbe A, Kanar HS, Simsek S. Efficiency and safety of scleral lenses in rehabilitation of refractive errors and high order aberrations after penetrating keratoplasty. *Eye Contact Lens*. 2021; 47(5): 301-307. doi: 10.1097/ICL.0000000000000755
3. Kumar M, Shetty R, Lalgudi VG, Vincent SJ. Scleral lens wear following penetrating keratoplasty: Changes in corneal curvature and optics. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2020; 40(4): 502-509. doi: 10.1111/opo.12693
4. Pellegrini M, Furiosi L, Yu AC, Giannaccare G, Scuteri G, Gardeli I, et al. Outcomes of cataract surgery with toric intraocular lens implantation after keratoplasty. *J Cataract Refract Surg*. 2022; 48(2): 157-161. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000000730

5. Синицын М.В., Поздеева Н.А. Коррекция посткератопластической аметропии у пациентов с катарактой. *Офтальмологические ведомости*. 2022; 15(2): 27-33. [Sinitsyn MV, Pozdeyeva NA. Correction of postkeratoplastic ametropia in patients with cataract. *Ophthalmology Reports*. 2022; 15(2): 27-33. (In Russ.)]. doi: 10.17816/OV109153

6. Синицын М.В., Терентьева А.Е., Толмачева Т.Г., Поздеева Н.А. Коррекция астигматизма после сквозной кератопластики методом имплантации интрастромальных роговичных сегментов с применением фемтосекундного лазера. *Офтальмохирургия*. 2022; 1: 20-25. [Sinitsyn MV, Terent'eva AE, Tolmacheva TG, Pozdeyeva NA. Astigmatism correction after penetrating keratoplasty by intrastromal corneal segments implantation using a femtosecond laser. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2022; 1: 20-25. (In Russ.)].

7. Малукин Б.Э., Токмакова А.Н., Каримова А.Н. Отдаленные результаты лазерной коррекции астигматизма после сквозной кератопластики у пациентов с кератоконусом. *Практическая медицина*. 2017; 9: 128-131. [Malyugin BE, Tokmakova AN, Karimova AN. Long-term results of laser correction of astigmatism after penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *Practical Medicine*. 2017; 9: 128-131. (In Russ.)].

8. Токмакова А.Н. Клинико-теоретическое обоснование имплантации интрастромальных роговичных сегментов с целью коррекции астигматизма после сквозной кератопластики у пациентов с кератоконусом: дис. ... канд. мед. наук. М.; 2017. [Tokmakova AN. *Clinical and theoretical rationale for implantation of intrastromal corneal segments to correct astigmatism after penetrating keratoplasty in patients with keratoconus*: Dissertation of Cand. Sc. (Med.). Moscow; 2017. (In Russ.)].

9. Vaiciulienė R, Rylskyte N, Baguzyte G, Jasinskas V. Risk factors for fluctuations in corneal endothelial cell density (Review). *Exp Ther Med*. 2022; 23(2): 129. doi: 10.3892/etm.2021.11052

10. Bourne WM, Carey BE, Kaufman HE. Clinical specular microscopy. *Trans Amer Acad Ophthalmol Otolaring*. 1976; 81: 743-753.

11. Измайлова С.Б. *Медико-технологическая система хирургического лечения прогрессирующий кератэктазий различного генеза*: дис. ... докт. мед. наук. М.; 2014. [Izmailova SB. *Medical and technological system for surgical treatment of progressive keratectasia of various origins*: Dissertation of Cand. Sc. (Med.). Moscow; 2014. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Синицын Максим Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий детским отделением, Чебоксарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: mntksinichin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7285-1782>

Поздеева Надежда Александровна – доктор медицинских наук, директор, Чебоксарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: mntksinichin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3637-3645>

Information about the authors

Maxim V. Sinitsyn – Cand. Sc. (Med), Head of the Pediatric Department, Cheboksary Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: mntksinichin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7285-1782>

Nadezhda A. Pozdeyeva – Dr. Sc. (Med.), Director, Cheboksary Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: mntksinichin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3637-3645>

ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

ATTITUDE AND AWARENESS OF INDIAN PARENTS FROM KERALA STATE TOWARDS CHILDREN'S VACCINATION AT THE COVID-19 PANDEMIC BACKGROUND

Aaromal Ajitha Sureshkumar ¹,
Novikova E.A. ²,
Abhiramy Suprasannan ²,
Manu Krishna Maniyan Girija ³,
Vanyarkina A.S. ²,
Moskaleva E.V. ²,
Kazantseva E.D. ²,
Petrova A.G. ²,
Rychkova L.V. ²

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

² Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

³ University of Barcelona
(Gran Via de les Corts Catalanes 585,
Barcelona, Spain)

Corresponding author:
Evgenia A. Novikova,
e-mail: europe411@mail.ru

ABSTRACT

Background. Vaccination coverage of children in India is not sufficient since the COVID-19 pandemic (less than 90 %). This may lead to low adherence of parents to children's vaccination.

The aim. To study parental attitudes and awareness towards children vaccination programs in India at the COVID-19 pandemic background.

Methods. Two hundred and fourteen participants from Kerala state (India) took part in the descriptive cross-sectional study via survey method. The survey was prepared with Google form according the principles of anonymity.

Results. Indian parents demonstrated good adherence towards children's vaccination, 98.6 % (95% confidence interval (CI): 95.9–99.5) of them vaccinated their child, and if vaccination appointment had to be rescheduled 84.6 % (95% CI: 79.1–88.8) of them vaccinated children after. Most of Indians (68.7 %; 95% CI: 62.1–74.5) preferred to vaccinate children in state clinics, however, 28.5 % (95% CI: 22.8–34.8) chose private clinics. Information about diseases that vaccines can prevent, vaccine safety, and side effects 47.2 % (95% CI: 40.6–53.8) of parents got from public pediatricians, 50.9 % (95% CI: 44.2–57.5) – from private pediatricians, and 10.3 % (95% CI: 6.8–15.0) – from complementary and alternative medicine practitioners. Over 80 % of Indians were informed about vaccination through mass media (83.6%; 95% CI: 78.1–87.9). Indian parents showed low awareness about vaccination, because 63.1 % (95% CI: 56.4–69.2) of parents wanted to know more about vaccination. Moreover, before vaccination 21.5 % (95% CI: 16.5–27.4) of them were not informed by a doctor about health benefits and possible risks for their children.

Conclusion. In the COVID-19 pandemic Indian parents showed good attitude towards vaccination and low awareness in vaccination questions.

Key words: vaccination, vaccine prevention, children, parents, vaccine attitude, vaccine awareness, COVID-19

For citation: Aaromal Ajitha Sureshkumar, Novikova E.A., Abhiramy Suprasannan, Manu Krishna Maniyan Girija, Vanyarkina A.S., Moskaleva E.V., Kazantseva E.D., Petrova A.G., Rychkova L.V. Attitude and awareness of Indian parents from Kerala state towards children's vaccination at the COVID-19 pandemic background. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 178–185. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.17

Received: 05.09.2023
Accepted: 01.12.2023
Published: 29.12.2023

ОТНОШЕНИЕ И ОСВЕДОМЛЁННОСТЬ ИНДИЙСКИХ РОДИТЕЛЕЙ ИЗ ШТАТА КЕРАЛА О ВАКЦИНАЦИИ ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19

Ааромал Сурешкумар¹,
Новикова Е.А.²,
Абхирами Супрасаннан²,
Ману Кришна³,
Ваняркина А.С.²,
Москалева Е.В.²,
Казанцева Е.Д.²,
Петрова А.Г.²,
Рычкова Л.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

³ Университет Барселоны (г. Барселона, ул. Gran Via de les Corts Catalanes, 585, Испания)

Автор, ответственный за переписку:
Новикова Евгения Анатольевна,
e-mail: europe411@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. С начала пандемии COVID-19 в Индии наблюдается снижение охвата вакцинацией детей (менее 90 %), что может привести к снижению приверженности родителей вакцинации.

Цель. Оценить отношение родителей из Индии к вакцинации детей в условиях пандемии COVID-19 и их осведомлённость в вопросах вакцинации.

Методы. В описательном поперечном исследовании методом опроса с помощью Google Форм приняли участие 214 родителей из штата Керала, Индия.

Результаты. Родители из Индии продемонстрировали хорошую приверженность вакцинации, поскольку 98,6 % родителей (95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 95,9–99,5) вакцинируют своего ребёнка, а в случаях нарушения графика иммунопрофилактики 84,6 % (95% ДИ: 79,1–88,8) родителей стараются наверстать пропущенную прививку как можно скорее. Большинство индийцев – 68,7 % (95% ДИ: 62,1–74,5) – проводят вакцинацию ребёнка в государственных клиниках, однако 28,5 % (95% ДИ: 22,8–34,8) родителей предпочитают частные медицинские учреждения. Информацию о вакциноуправляемых инфекциях, безопасности вакцин и побочных эффектах большая часть родителей получает от специалистов здравоохранения: 47,2 % (95% ДИ: 40,6–53,8) – от педиатров из государственных учреждений здравоохранения; 50,9 % (95% ДИ: 44,2–57,5) – от педиатров из частных клиник; 10,3 % (95% ДИ: 6,8–15,0) – от врачей альтернативной медицины. Примечательно, что более 80 % индийцев информированы о пользе вакцинопрофилактики через средства массовой информации (83,6 %; 95% ДИ: 78,1–87,9). На фоне хорошего отношения к иммунопрофилактике индийские родители хотят знать больше о вакцинации (63,1 %; 95% ДИ: 56,4–69,2). На недостаточную осведомлённость в вопросах вакцинации также указывает то, что перед вакцинацией ребёнка 21,5 % (95% ДИ: 16,5–27,4) из них не были проинформированы врачом о пользе вакцины для здоровья и возможных рисках.

Выводы. В условиях пандемии COVID-19 родители из Индии (штат Керала) продемонстрировали позитивное отношение к вакцинации детей и недостаточную осведомлённость в вопросах вакцинации.

Ключевые слова: вакцинация, вакцинопрофилактика, дети, родители, отношение к вакцинации, приверженность вакцинации, COVID-19

Для цитирования: Ааромал Сурешкумар, Новикова Е.А., Абхирами Супрасаннан, Ману Кришна, Ваняркина А.С., Москалева Е.В., Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Рычкова Л.В. Отношение и осведомлённость индийских родителей из штата Керала о вакцинации детей в условиях пандемии COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 178-185. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.17

Статья получена: 05.09.2023

Статья принята: 01.12.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

INTRODUCTION

Vaccines help protecting children from vaccine-preventable diseases and improve child survival and reduce morbidity. To this day the coverage for many essential vaccines is higher than 80 % [1]. The triple vaccine against diphtheria, tetanus and pertussis (DTP3) is used as the key metric for global vaccination coverage, because it is a good indicator for access to routine immunization services [1]. Global target coverage of children according to the World Health Organization (WHO) should be not less than 90 % with three doses of DTP3 [2]. In conformity with WHO the health Mission Indradhanush of Indian Government has an aim to increase full immunization coverage to 90 % through focus on unvaccinated and partially vaccinated children in pockets of low immunization coverage in high risk and hard-to-reach areas [3].

The rates of vaccination of children around the world and in India inter alia are not sufficient. According to recent reports in 2022 the global vaccination coverage was 84 %, in 2021 – 81 %, in 2020 – 83 % [4], and such low coverage may be explained by impacts of the COVID-19 pandemic. India has not achieved 90 % coverage during the COVID-19 pandemic showing 85 % in 2020 and 2021, in comparison with 91 % in 2019 [1]. Interestingly, at the same time attitude to vaccination remains positive, because 92 % people in the world, and 98 % of Indians think that it is important for children to be vaccinated [1]. Besides 98 % Indian

parents think vaccines are safe, and 78.9 % trust healthcare specialists (Fig. 1).

The Universal Immunization Program in India is provided free of cost by Ministry of Health and Family Welfare. National Immunization Schedule includes 11 vaccines against diphtheria; pertussis; tetanus; polio; measles; tuberculosis; hepatitis; meningitis and pneumonia caused by Haemophilus influenza type B; rubella and rotavirus diarrhea in selected states and Japanese encephalitis in endemic districts [3].

India does not have mandatory vaccination on a national basis; however, vaccination policies differ across states [5]. Even though vaccination policies in India is recommended, not mandatory, because of rumors about health risks on social media, in 2018 Kerala state required schools to submit students' annual vaccination records as a response to a poor turnout for a new measles-rubella vaccine [6]. India puts efforts for creating awareness and community engagement via engagement with key media houses, advocacy with important opinion makers including religious leaders and local influencers, development of a pictorial National Immunization Schedule [3].

This work is a part of the survey of the Laboratory of Infectiology and Immunoprophylaxis in Pediatrics (The Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia) about attitudes towards children's vaccination of parents from Russia (Irkutsk region) and India (Kerala state) [7–10]. Since we already made in-depth study

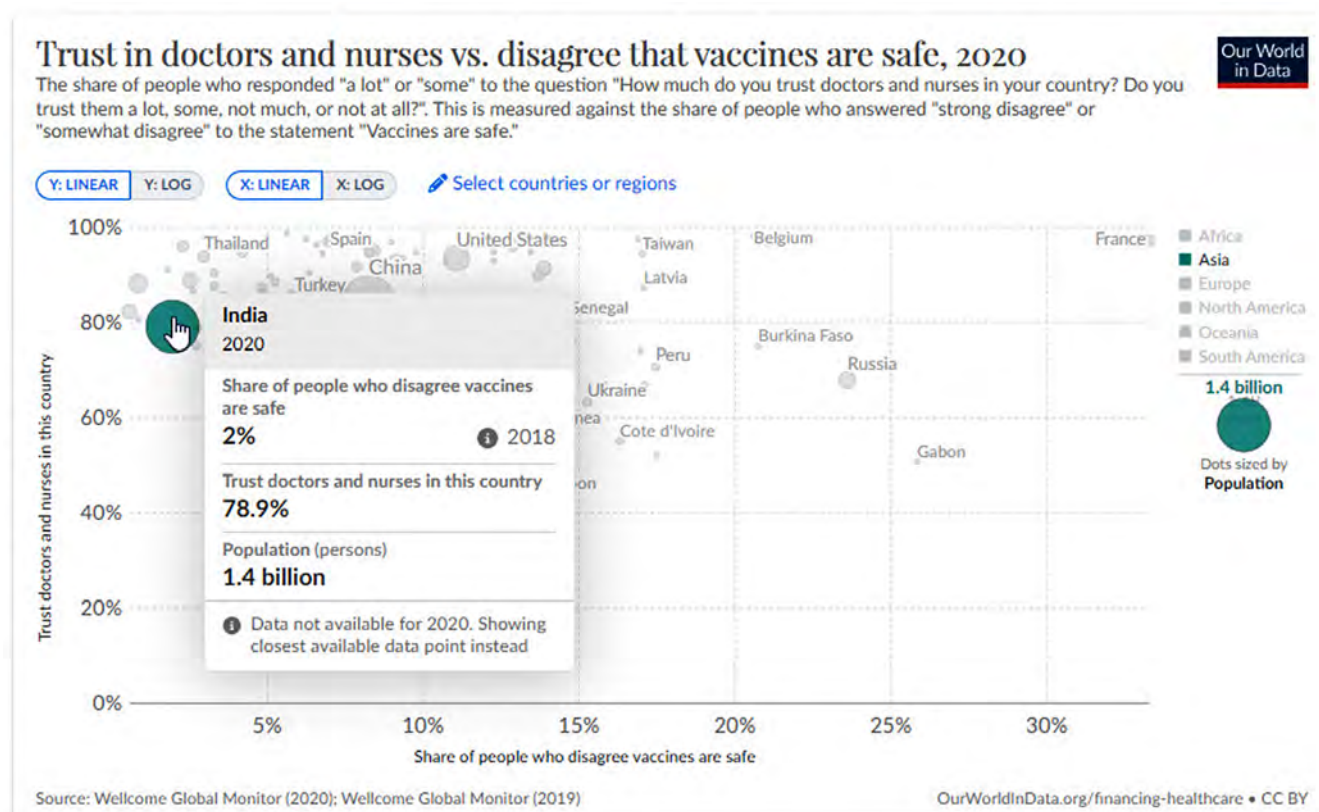


FIG. 1.

The opinion of people in India about vaccine safety and their trust in healthcare specialists (The Wellcome Global Monitor, 2020) [1]

that involved Russian parents [7] a purpose of this work was to describe in detail the attitude and awareness of parents from India towards children's vaccination on the background of COVID-19 pandemic.

METHODS

Two hundred and fourteen participants from India (Kerala state) took part in the descriptive cross-sectional study. The survey was prepared with Google form according to the principles of anonymity. Data were collected during the COVID-19 pandemic from April 1 to July 6, 2020. The questionnaire contained 17 questions with multiple choice options including age (< 20 y.o., 21–30 y.o., 31–40 y.o., > 40 y.o.) and gender of participants, their educational stage (school, college, university), financial situation (lower middle class, middle class, upper middle class, wealthy), occupational status of family members (health worker, teacher, kindergarten worker), number of children (one, two, three, four or more); and questions about awareness and attitude towards vaccination. The link was sent to the heads of the universities and via social media. We obtained 214 responses, and a total of 214 participants were included for final statistical analysis, so the effective response rate was 100 %. There were no responses missing data and responses with obviously false answers.

The study protocol, questionnaire and consent form were approved by the ethics committee of the "Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems". Qualitative data were reported as absolute values and percentages. 95 % confidence interval (95% CI) was calculated using the website for statistical computation "VassarStats" [11].

RESULTS AND DISCUSSION

Sociodemographic characteristics of participants are presented in the Table 1. Most of them were women (68.2 %; 95% CI: 61.7–74) and young adults aged 21 to 40 y. o. (79.9 %; 95% CI: 74.0–84.7), university graduates (61.7 %; 95% CI: 55–67.9), belonging to the middle class 66.8 % (95% CI: 60.2–72.7) with one child (65.9 %; 95% CI: 59.3–71.9). Family members of respondents had high education, were health workers (44.9 %; 95% CI: 38.3–51.5), teachers (57.9 %; 95% CI: 51.2–64.3) or kindergarten workers (30.4 %; 95% CI: 0.16–0.24).

Attitude and awareness of Indian parents towards vaccination is shown in the Table 2. Parents' attitude towards vaccinations during the COVID-19 pandemic was positive. Almost all Indians in Kerala state supported children's vaccination and vaccinated their children ($n = 211$; 98.6 %; 95% CI: 95.9–99.5), and only 1.4 % ($n = 3$; 95% CI: 0.48–4.04) of parents did not. This data exceeds official numbers of vaccination coverage date cross the country in 2020 (85 %) [1].

TABLE 1
SOCIODEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS
OF PARTICIPANTS

Variables	N = 214	%	95% CI
Gender			
Male	68	31.8	25.9–38.9
Female	146	68.2	61.7–74
Age			
< 20 y. o.	3	1.4	0.5–4.0
21–30 y. o.	85	39.7	33.4–46.4
31–40 y. o.	86	40.2	33.8–46.8
> 40 y. o.	40	18.7	14.0–24.4
Educational stage			
School	17	7.9	5.0–12.3
College	65	30.4	24.6–36.8
University	132	61.7	55–67.9
Financial situation			
Poverty	1	0.5	0.08–2
Lower middle class	7	3.3	1.5–6.6
Middle class	143	66.8	60.2–72.7
Upper middle class	47	22	16.9–27.9
Wealthy	16	7.5	4.6–11.8
Occupational status of family members			
Health workers	96	44.9	38.3–51.5
Teachers	124	57.9	51.2–64.3
Kindergarten workers	65	30.4	0.16–0.24
None of these	37	17.3	24.6–36.8
Number of children			
One	141	65.9	59.3–71.9
Two	56	26.2	20.7–32.4
Three	15	7	4.2–11.2
Four and more	2	0.9	0.2–3.3

Note. y. o. – years old; 95% CI – 95 % confidence interval; N – number of participants.

TABLE 2

ATTITUDE AND AWARENESS OF INDIAN PARENTS TOWARDS VACCINATION

Variables	N	%	95% CI
Describe your attitude towards vaccinations.			
I follow Immunization Schedule and know about the time of vaccinations	198	92.5	88.2–95.3
I don't follow Immunization Schedule and don't know about the time of vaccinations, our doctor cares about the Immunization Schedule	13	6.1	3.5–10.1
I don't vaccinate my child	3	1.4	0.48–4.04
If you ever rescheduled vaccinations, have you vaccinated children after resolving conditions?			
Yes, I try to vaccinate my child as soon as possible	181	84.6	79.1–88.8
No, I don't want to overload the child's immune system	12	5.6	3.2–9.5
No, I never reschedule vaccinations	21	9.8	6.5–14.5
Where do you go to get vaccinated your child?			
State clinics without a fee	147	68.7	62.1–74.5
Private clinics with a fee for getting vaccinated	61	28.5	22.8–34.8
Other	6	2.8	1.2–5.9
Before vaccination			
A doctor informs about the disease that can be prevented by the vaccine, about vaccine safety, and side effects	140	65.4	58.8–71.4
A doctor informs only about the disease that can be prevented by the vaccine	28	13.1	9.2–18.2
A doctor gives no information	46	21.5	16.5–27.4
Where do you get information about vaccinations?			
From a pediatrician working in a private clinic	109	50.9	44.2–57.5
From a pediatrician working in the public health system	101	47.2	40.6–53.8
From doctors of other specialty	62	29.0	23.3–35.3
From a homeopath	22	10.3	6.8–15.0
From friends/relatives with a medical background	129	60.3	53.6–66.6
From friends/relatives without a medical background	18	8.4	5.3–12.9
From mass-media (television, radio, newspapers, and magazines)	179	83.6	78.1–87.9
From Internet/social network	113	52.8	46.1–59.3
From Flyers and disk	2	0.9	0.25–3.3
Do you want to know more about vaccination?			
Yes	135	63.1	56.4–69.2
No	79	36.9	30.7–43.5

Note. y. o. – years old; 95% CI – 95 % confidence interval; N – number of participants.

Among those parents who vaccinated children ($n = 211$) 92.5 % (95% CI: 88.2–95.3) followed the Indian Immunization Schedule and knew about the time of vaccinations, but 6.1 % (95% CI: 3.5–10.1) preferred not to care about the schedule. If vaccination appointment had to be rescheduled 84.6 % (95% CI: 79.1–88.8) of Indians vaccinated children later, and just 5.6 % (95% CI: 3.2–9.5) did not want to overload the child's immune system and cancelled vaccine intake.

The sources of information about vaccination for Indians were numerous. Pediatricians provided parents with all necessary information (98.1 %; 95% CI: 95.2–99.2). Among these 47.2 % pediatricians worked in the public health system (95% CI: 40.6–53.8), and 50.9 % (95% CI: 44.2–57.5) – in private clinics. According to The Wellcome Global Monitor, Indians consider healthcare specialists as a reliable source of information (Fig. 1), and our results confirm this. Besides, it is worth noting that 10.3 % (95% CI: 6.8–15.0) of parents got informed about vaccination from homeopaths as complementary and alternative medicine practitioners. Homeopathy is included in the six Indian systems of medicine prevalent and practiced in India that is called AYUSH (Ayurveda, Yoga and Naturopathy, Unani, Siddha, and Homeopathy) [12]. Positive attitude towards vaccination from the alternative medicine specialists whom people trust besides healthcare professionals provides adherence to national immunization in India.

Along with this most of Indians got informed about vaccinations through mass-media (83.6 %; 95% CI: 78.1–87.9), especially Internet/online social media (52.8 %; 95% CI: 46.1–59.3). There is a global trend when people are asking questions about vaccines and are looking for answers online [1]. Since India has high immunization coverage our data demonstrates excellent work of mass communication in India during the COVID-19 pandemic.

All vaccines are given free of charge under the National Immunization Schedule, and so most of Indians (68.7 %; 95% CI: 62.1–74.5) preferred to vaccinate children in state clinics without a fee, however, some of them chose private-pay clinics 28.5 % (95% CI: 22.8–34.8). Private clinics provide around 21 % of vaccinations in urban centers of India and are important partners in achieving high vaccination coverage [13]. Meanwhile private physicians may contribute to the low vaccination coverage, because they do not strictly follow vaccination schedules if there are concerns about parents' ability to pay (45 % of physicians), and do not administer more than two injections in the same visit (60 %) [13].

Before vaccination 65.4 % (95% CI: 58.8–71.4) of parents had been warned by a doctor about diseases that can be prevented by vaccines and risks of vaccinating kids; 13.1 % (95% CI: 9.2–18.2) of parents were informed only about diseases that vaccines can prevent; 21.5 % (95% CI: 16.5–27.4) of parents were not informed by a doctor at all. Getting no information from doctors in turn leads to poor parental awareness. Reasonably 63.1 % (95% CI: 56.4–69.2) of Indian parents in our survey wanted to know more about vaccination. It may be ex-

plained by low awareness of doctors themselves about vaccination health benefits. Multicenter cross-sectional survey revealing awareness and attitude of Indian healthcare providers towards annual influenza vaccination showed that 42.95 % of physicians had low level of awareness about influenza vaccination ($n = 780$) [14]. Physicians did not prescribe influenza vaccines to patients due to fear of side effects (16.54 %), cost (15.64 %), lack of awareness about availability (15.38 %), absence of belief that it is beneficial (14.36 %), history of side effects (13.46 %), and patients' fear of needles (11.28 %) [14]. This indicates the need to expand vaccine awareness campaigns in India and pay attention to educational strategies among physicians. From the experience of Russian colleagues (S.D. Timoshkova et al.), the immunization training course for doctors not only raises their vaccination awareness but improves vaccination coverage [15]. After two years training of pediatricians at the Moscow Outpatient Department immunization coverage of children attached to this department increased for whooping cough and measles by 11 % and for rubella by 4 %.

When analyzing sociodemographic characteristics of participants, their attitude and awareness towards vaccination we have found some studies demonstrating that younger and more educated parents are less positive about vaccination [16], but we did not find any confirmation of that. In our study, most parents (more than 60 %) were young and well educated, however they had good adherence to children vaccination.

CONCLUSION

Indian parents supported children vaccination and had good attitude towards vaccines of the National Immunization Schedule in the COVID-19 pandemic. Mass media along with healthcare specialists promoted adherence to childhood immunization for Indians. However, parents consider their awareness about children's vaccination as poor, which may be explained by insufficient knowledge of doctors in vaccination questions. Increasing vaccination compliance of Indian healthcare specialists will provide better awareness and vaccination coverage in India.

Acknowledgments

We thank the Clinic of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk, Russian Federation) for the assistance.

Disclosure and conflict of interest

The authors declare no potential conflicts of interest.

REFERENCES

1. *Our world in data. Vaccination*. URL: <https://ourworldindata.org/vaccination> [date of access: 05.09.2023].

2. World Health Organization. *Global vaccine action plan 2011–2020*. URL: <https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals/strategies/global-vaccine-action-plan> [date of access: 05.09.2023].
3. Ministry Of Health and Family Welfare of India. *Universal Immunization Programme (UIP)*. URL: <https://main.mohfw.gov.in/Major-Programmes/universal-immunization-programme-uiip> [date of access: 05.09.2023].
4. Pan American Health Organization. WHO/UNICEF estimate of national immunization coverage 2022: Factsheet. URL: <https://www.paho.org/en/documents/factsheet-whounicef-estimate-national-immunization-coverage-2022> [date of access: 05.09.2023].
5. Vanderslott S, Marks T. Charting mandatory childhood vaccination policies worldwide. *Vaccine*. 2021; 39(30): 4054-4062. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.04.065
6. Kerala government makes vaccination compulsory for admissions to Class 1. 2018. URL: <https://scroll.in/latest/869483/kerala-government-makes-vaccination-compulsory-for-admissions-to-class-1> [date of access: 05.09.2023].
7. Vanyarkina AS, Petrova AG, Bayanova TA, Kazantseva ED, Krivolapova OA, Bugun OV, et al. Preventive vaccination in children: Parents' knowledge or physician's competence. *Pacific Medical Journal*. 2019; 3: 23-28. (In Russ.). doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-23-28
8. Novikova EA, Krishna M, Sureshkumar Aaromal A, Suprasannan A, Vanyarkina AS, Moskaleva EV, et al. Comparison of attitude of Indian and Russian parents to children's vaccination. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 12-18. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.2
9. Bayanova TA, Petrova AG, Vanyarkina AS, Kupriyanova NYu, GavriloVA TA. Adherence population to vaccination of influenza: Survey results. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021; 20(1): 69-75. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-1-69-75
10. Kazantseva ED, Petrova AG, Vanyarkina AS, Bayanova TA, Novikova EA. Commitment of parents and doctors of Irkutsk city to vaccination against tick-borne encephalitis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 286-291. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.39
11. VassarStats: Website for Statistical Computation. URL: <http://vassarstats.net> [date of access: 9.10.2023].
12. Kaur H, Chalia DS, Manchanda RK. Homeopathy in public health in India. *Homeopathy*. 2019; 108(2): 76-87. doi: 10.1055/s-0038-1673710
13. Hagan JE, Gaonkar N, Doshi V, Patni A, Vyas S, Mazumdar V, et al. Knowledge, attitudes, and practices of private sector immunization service providers in Gujarat, India. *Vaccine*. 2018; 36(1): 36-42. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.11.046
14. Vora A, Shaikh A. Awareness, attitude, and current practices toward influenza vaccination among physicians in India: A multicenter, cross-sectional study. *Front Public Health*. 2021; 9: 642636. doi: 10.3389/fpubh.2021.642636
15. Timoshkova SD, Rusinova DS, Elagina TN, Glazkova GP, Fedoseenko MV, Namazova-Baranova LS. Changes in the preventive vaccination procedures in children's city outpatient's clinic and its efficacy. *Current Pediatrics*. 2023; 22(2): 207-214. (In Russ.). doi: 10.15690/vsp.v22i2.2563
16. Jones AM, Omer SB, Bednarczyk RA, Halsey NA, Moulton LH, Salmon DA. Parents' source of vaccine information and impact on vaccine attitudes, beliefs, and non-medical exemptions. *Adv Prev Med*. 2012; 2012: 932741. doi: 10.1155/2012/932741

Information about the authors

Ajitha Sureshkumar Aaromal – MD, Resident at the Department of Neurosurgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: aaromalas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8655-1780>
Evgenia A. Novikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: europe411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>
Suprasannan Abhiramy – MD, Volunteer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: abhiramyroses@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5343-3019>
Maniyan Girija Manu Krishna – MD, Student of the Master Global Health, University of Barcelona, e-mail: manumedic27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4843-6538>
Anastasiya S. Vanyarkina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>
Ekaterina V. Moskaleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mkatena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>
Ekaterina D. Kazantseva – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>
Alla G. Petrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>
Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Сведения об авторах

Сурешкумар Ааромал – MD, ординатор кафедры нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: aaromalas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8655-1780>
Новикова Евгения Анатольевна – младший научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: europe411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>
Супрасаннан Абхирами – MD, волонтер лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: abhiramyroses@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5343-3019>
Кришна Ману – MD, студент магистратуры по глобальному здравоохранению, Университет Барселоны, e-mail: manumedic27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4843-6538>

Ваняркина Анастасия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>

Москалева Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mkatena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

Казанцева Екатерина Дмитриевна – лаборант-исследователь лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Петрова Алла Германовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

ОСОБЕННОСТИ РЕЖИМА И КАЧЕСТВА СНА ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ ГОРОДА ИРКУТСКА

Большакова С.Е.,
Мадаева И.М.,
Бердина О.Н.,
Храмова Е.Е.,
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:
Большакова Светлана Евгеньевна,
e-mail: sebol@bk.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Полноценный сон обеспечивает физическое и психоэмоциональное благополучие человека. Подростковый возраст является одним из критических этапов жизни. Исключительное внимание специалистов и нивелирование воздействия неблагоприятных факторов на организм в этот период является залогом правильного развития и сохранения здоровья подростков. Тем временем проблемы со сном у девочек-подростков остаются малоизученными.

Цель исследования. Изучить особенности режима и качества сна девочек-подростков города Иркутска.

Материалы и методы. Проведено анкетирование 422 девочек-подростков города Иркутска с использованием переводной версии опросника о привычках сна подростков для субъективной оценки своего сна и бодрствования. Сформированы две группы: I группа – девочки, имеющие проблемы со сном ($n = 171$); II группа – девочки, не имеющие проблем со сном ($n = 251$).

Результаты. О проблемах со сном сообщили 40,52 % опрошенных. Выявлено комплексное воздействие различных неблагоприятных факторов на качество сна. Отражены особенности гигиены сна девочек-подростков. Для группы девочек, имеющих проблемы со сном, было характерно повышение показателей латентности сна, более позднее время отхождения ко сну, более раннее пробуждение, сокращение времени сна, а также увеличение сдвига сна.

Заключение. Проведённый опрос позволяет сделать вывод о том, что вопросы режима и качества сна девочек-подростков города Иркутска актуальны и должны быть подвергнуты более детальному комплексному изучению. Учитывая потенциальную опасность для формирования здоровья, в том числе репродуктивной функции, девочек-подростков, следует уделять больше внимания активному выявлению у них проблем, связанных со сном, и своевременно проводить мероприятия по их устранению.

Ключевые слова: девочки-подростки, расстройства сна, нарушение цикла «сон-бодрствование», репродуктивное здоровье

Статья поступила: 07.11.2023
Статья принята: 04.12.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Большакова С.Е., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Храмова Е.Е., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Особенности режима и качества сна девочек-подростков города Иркутска. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 186-193. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.18

PREVALENCE OF SLEEP DISORDERS IN TEENAGE GIRLS IN IRKUTSK (QUESTIONNAIRE DATA)

**Bolshakova S.E.,
Madaeva I.M.,
Berdina O.N.,
Khramova E.E.,
Bugun O.V.,
Rychkova L.V.**

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

Corresponding author:
Svetlana E. Bolshakova,
e-mail: sebol@bk.ru

ABSTRACT

Background. Adequate sleep ensures a person's physical and psycho-emotional well-being. Adolescence is one of the critical stages of life. The exclusive attention of specialists and leveling the impact of adverse factors on the body during this period is the key to the proper development and preservation of the health of adolescents. Meanwhile, sleep problems in teenage girls remain poorly understood.

The aim. To study the features of the sleep regime and quality of sleep of teenage girls in the city of Irkutsk.

Materials and methods. A survey of 422 teenage girls in the city of Irkutsk was conducted using a translated version of a questionnaire about adolescent sleep habits to subjectively assess their sleep and wakefulness. Two groups were formed: group I – girls with sleep problems ($n = 171$); group II – girls without sleep problems ($n = 251$).

Results. Sleep disorders among teenage girls in the city of Irkutsk occurred with a frequency of 40.52 %. In most cases, a complex effect of various unfavorable factors on the sleep process has been identified. The adolescents with sleep disorders we examined were characterized by higher rates of sleep latency, later bedtime, earlier awakening, decreased time of night sleep, as well as changes in the sleep shift indicator towards its increase. These violations were noted both on weekdays and on weekends.

Conclusions. Sleep problems were reported in 40.52 % of respondents. The complex impact of various unfavorable factors on sleep quality has been revealed. The features of sleep hygiene of teenage girls are reflected. The group of girls with sleep problems was characterized by increased sleep latency, later bedtime, earlier awakening, reduced sleep time, and an increase in sleep shift.

Key words: adolescent girls, sleep disorders, sleep-wake cycle disorders, reproductive health

Статья поступила: 07.11.2023
Статья принята: 04.12.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

For citation: Bolshakova S.E., Madaeva I.M., Berdina O.N., Khramova E.E., Bugun O.V., Rychkova L.V. Prevalence of sleep disorders in teenage girls in Irkutsk (questionnaire data). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 186-193. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.18

ОБОСНОВАНИЕ

Сон – одна из основных составляющих здоровья любого человека. Невозможно переоценить роль сна в обеспечении жизнедеятельности организма человека в любом возрасте [1, 2]. Особое значение это имеет в детском и подростковом возрасте, когда происходит интенсивное формирование организма, физическое и психоэмоциональное созревание [3, 4]. В настоящее время расстройства сна у подростков достаточно широко распространены, встречаются примерно у половины обследованных и имеют тенденцию к увеличению, что не может не вызывать опасения по поводу дальнейшего их развития и сохранения здоровья, так как неблагоприятные последствия могут быть весьма серьёзными [5–7]. Формирование многих патологических процессов связано со снижением качества сна. Так, доказано, что расстройства сна могут вызывать когнитивные нарушения, социальную дезадаптацию, возникновение острых и обострение хронических заболеваний [8, 9]. Многочисленные исследования показали, что в любые возрастные периоды частота встречаемости различных расстройств сна выше среди представителей женского пола по сравнению с мужчинами, что связано с активностью и гендерными различиями функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы в разные периоды жизни и её подчинением циркадным ритмам [6, 10]. Поэтому активное выявление проблем, связанных со сном, среди девочек подросткового возраста чрезвычайно важно и необходимо для своевременного проведения комплекса мероприятий по предупреждению развития неблагоприятных последствий для формирующегося женского организма.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности режима и качества сна девочек-подростков, проживающих на территории города Иркутска.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено анкетирование 422 девочек-подростков 15–17 лет, учащихся 9–11-х классов 16 школ города Иркутска, в период с января по март 2023 года.

Критерии включения в исследование: женский пол; возраст 15–17 лет; добровольное информированное согласие на участие в исследовании; проживание на территории города Иркутска. Критерии исключения из исследования: мужской пол; возраст менее 15 лет и более 17 лет; отказ от участия в исследовании.

Для оценки качества сна нами использована переводная русская версия опросника о привычках сна подростков (Adolescent Sleep Habits Survey) [11]. Опросник был разработан и валидирован A.R. Wolfson и соавт. [12] специально для изучения гигиены сна у подростков в возрасте от 12 до 18 лет. Он содержит вопросы

по самооценке гигиены сна в течение последнего месяца, на которые можно дать один или несколько ответов. Заполнение опросника осуществлялось в спокойной обстановке, в домашних условиях, в удобное для ребёнка время, без ограничения по времени. В ходе опроса девочки давали субъективную оценку своего сна и бодрствования в выходные и будние дни за последний месяц.

По результатам анкетирования все девочки-подростки были разделены на 2 группы: I группа – девочки, имеющие проблемы со сном ($n = 171$); II группа – девочки, не имеющие проблем со сном ($n = 251$).

Исследование было проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., редакция 2013 г.) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2 от 08.06.2022). Все девочки подписывали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью электронных таблиц Excel (Microsoft Corp., США) и пакета прикладных программ Statistica, версия 6.1 (StatSoft Inc., США) (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»). Определение типа распределения признака осуществлялась с помощью критериев Шапиро – Уилка, Лиллиефорса и Колмогорова – Смирнова. Для количественных признаков рассчитывали медиану (Me) и 25-й и 75-й квартили. Статистически значимые различия между двумя не связанными между собой группами по количественным признакам определяли с помощью параметрического t -критерия Стьюдента в случае нормального распределения признака и непараметрического U -критерия Манна – Уитни при распределении признака, отличном от нормального. Определение различий между несвязанными группами по качественным признакам проводили с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность и точного критерия Фишера при численности хотя бы в одной из групп менее 5. Все различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наличие проблем со сном среди опрошенных было выявлено у 171 девочки-подростка, что составило 40,52 %. Среди них 16,96 % девочек отметили наличие у них данных нарушений длительностью менее 1 месяца, 33,33 % – от 1 до 6 месяцев, 19,88 % – от 6 до 12 месяцев, 20,47 % – от 1 до 5 лет, 9,36 % – более 5 лет. При этом 36,84 % респондентов заявили об ухудшении проблем со сном в последние 2 недели, 31,58 % не имели ухудшения, а 31,58 % затруднились с ответом.

Одновременно несколько причин появления расстройств сна указали 73,10 % подростков, и лишь 26,90 % назвали одну определённую причину ($\chi^2 = 44,62$; $p < 0,0001$). Наиболее часто девочки отмечали наличие стрессовых ситуаций (77,78 %), несоблюдение режима

сна и бодрствования (67,84 %), проблемы в отношениях с одноклассниками (46,78 %) и родителями (19,88 %), несоблюдение режима приёма пищи (31,58 %), наличие проблем со здоровьем (15,20 %).

В подавляющем большинстве случаев девочки из обеих групп исследования спали в комнате одни (77,78 % – в I группе, 84,46 % – во II группе). При этом выявлена тенденция к тому, что в группе лиц с расстройствами сна девочки спали с кем-либо из членов семьи – 22,22 % и 15,54 % соответственно ($\chi^2 = 3,05$; $p = 0,08$).

В I группе 77,78 % подростков каждую ночь спали в одной и той же кровати, почти каждую ночь – 18,13 %, немало ночей – 3,51 %, постоянно в разных кроватях – 0,58 %. Во II группе эти показатели составили 84,46 %, 11,16 %, 3,59 % и 0,79 % соответственно. Таким образом, выявлена тенденция к большей частоте встречаемости сна в одной и той же кровати среди девочек без нарушений сна.

В обеих группах исследования главную причину отхода ко сну в будние дни девочки обозначили как «хочу спать» (52,05 % в I группе и 68,13 % во II группе; $p = 0,0009$), на втором месте по частоте – «заканчиваю выполнение домашней работы» (28,07 % и 18,73 % соответственно; $p = 0,02$), на третьем месте – «заканчиваю общение в социальных сетях» (16,96 % и 7,57 % соответственно; $p = 0,003$). Таким образом, мы можем предположить, что девочки с нарушением сна чаще осуществляют умственную деятельность непосредственно перед отходом ко сну, что негативно сказывается на процессе сна.

В выходные дни также основной причиной оказалось желание заснуть (57,89 % в I группе и 74,50 % во II группе; $p = 0,0003$), на втором месте – «заканчиваю общение в социальных сетях» (18,13 % и 13,15 % соответственно; $p = 0,16$), на третьем – «заканчиваю выполнение домашней работы» (9,94 % и 4,78 % соответственно; $p = 0,04$). Кроме того, 4,60 % подростков I группы отметили, что непосредственно перед сном заканчивают просмотр телепередач, а во II группе так ответили лишь 2,79 % опрошенных ($p = 0,02$).

Оценка показателей латентности сна позволила выявить статистически значимо более длительный процесс засыпания у девочек с нарушениями сна в сравнении с подростками без данных нарушений (табл. 1).

Анализ временных показателей ночного сна в период учебной недели позволил установить, что девочки с нарушениями сна обычно ложились спать позже, чем девочки без таких нарушений ($p < 0,0001$). Кроме того, максимальное время отхода ко сну у них было также значительно позднее ($p < 0,0001$). Показатели времени утреннего пробуждения также имели статистически значимые различия между группами: подростки из I группы исследования имели статистически значимо более раннее время пробуждения ($p = 0,02$). В выходные дни, когда не нужно было посещать занятия в школе, также были выявлены различия: девочки, предъявляющие жалобы на нарушения сна, ложились спать позже ($p < 0,0001$) и просыпались позже ($p = 0,02$ для обычного времени и $p < 0,0001$ для самого позднего времени), чем лица без данных жалоб. Показатели средней и мини-

мальной продолжительности сна в течение учебной недели в обеих группах исследования оказались ниже рекомендованных нормативов, при этом в группе девочек с нарушениями сна они оказались статистически значимо ниже, чем у девочек с нормальным сном ($p < 0,0001$ и $p < 0,0001$ соответственно). В выходные дни сон в обеих группах длился ожидаемо дольше и укладывался в диапазон нормативных значений для данной возрастной группы – 8–10 часов, однако минимальная его продолжительность имела тенденцию к снижению у подростков с нарушением сна ($p = 0,08$), а максимальная длительность у этой группы была статистически значимо выше, чем у девочек без расстройств сна ($p < 0,0001$). Показатели сдвига сна в группах также имели статистически значимые различия в сторону его увеличения у лиц с нарушением сна ($p < 0,0001$) (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отмечаемое на протяжении последних лет увеличение количества людей, имеющих проблемы со сном, в том числе и в детском и подростковом возрасте, требует более внимательного отношения врачей различных специальностей, в первую очередь педиатров, к данной проблеме [13, 14]. Чрезвычайно важно помнить, что подростковый возраст является одним из критических этапов жизни человека, когда протекают ключевые процессы созревания и перестройки всех систем организма, сопровождающиеся различными гормональными сдвигами. Особое значение имеет тесная взаимосвязь цикла «сон – бодрствование» и менструального цикла, в том числе через систему «гипоталамус – гипофиз – гонады», активность которой становится более выраженной в период полового созревания подростков и обуславливает гендерные различия в характеристиках сна в данный период жизни. Этот этап характеризуется в частности волнообразной секрецией лютеинизирующего гормона с увеличением как амплитуды, так и частоты импульсов его секреции во время ночного сна, что приводит к повышению уровня эстрадиола и прогестерона у девочек в утренние часы. Мелатонин, секретируемый во время сна, оказывает прямое подавляющее действие на секрецию лютеинизирующего гормона, а изменение его концентрации у девочек-подростков может вызвать как расстройства сна, так и нарушения механизмов функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы [15]. Исключительное внимание специалистов и нивелирование воздействия различных неблагоприятных факторов на организм в этот период жизни является залогом правильного развития и сохранения здоровья девочек-подростков, в том числе репродуктивного потенциала [16].

Подростковый период является критическим и в процессе формирования сна ребёнка. В настоящее время значительная часть подростков имеют проблемы, связанные с нарушением сна – как кратковременные, так и на протяжении длительного периода [3, 7]. Выявленная нами частота встречаемости расстройств сна

ТАБЛИЦА 1

ОСОБЕННОСТИ РЕЖИМА СНА ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ
В БУДНИЕ И ВЫХОДНЫЕ ДНИ

TABLE 1

FEATURES OF THE SLEEP PATTERNS OF TEENAGE GIRLS
ON WEEKDAYS AND WEEKENDS

Показатели	I группа (n = 171)	II группа (n = 251)	p
Латентность сна в течение учебной недели (мин)			
Средняя	30,00 (15,00; 60,00)	15,00 (10,00; 30,00)	0,0001*
Минимальная	10,00 (5,00; 30,00)	10,00 (5,00; 15,00)	0,0001*
Максимальная	60,00 (30,00; 120,00)	40,00 (20,00; 60,00)	0,0001*
Латентность сна в выходные дни (мин)			
Средняя	30,00 (12,00; 60,00)	15,00 (10,00; 30,00)	0,0001*
Минимальная	10,00 (5,00; 30,00)	10,00 (5,00; 15,00)	0,0004*
Максимальная	60,00 (30,00; 120,00)	60,00 (20,00; 60,00)	0,0001*
Время отхода ко сну в течение учебной недели			
Обычное	23:40 (23:00; 00:30)	23:00 (22:30; 24:00)	0,0001*
Самое раннее	22:00 (21:00; 23:00)	22:00 (21:05; 22:40)	0,81
Самое позднее	02:00 (01:00; 03:30)	01:00 (23:40; 02:00)	0,0001*
Время пробуждения в течение учебной недели			
Обычное	06:30 (06:00; 07:00)	06:30 (06:05; 07:00)	0,93
Самое раннее	06:00 (05:30; 06:30)	06:00 (05:40; 06:30)	0,02*
Самое позднее	07:00 (06:40; 07:30)	07:00 (06:40; 07:30)	0,45
Время отхода ко сну в выходные дни			
Обычное	00:00 (23:00; 01:30)	00:00 (23:00; 01:00)	0,18
Самое раннее	22:30 (22:00; 23:00)	22:30 (22:00; 23:00)	0,76
Самое позднее	03:00 (01:00; 04:00)	02:00 (00:00; 03:00)	0,0001*
Время пробуждения в выходные дни			
Обычное	10:00 (09:10; 11:30)	10:00 (09:00; 11:00)	0,02*
Самое раннее	08:40 (07:30; 09:30)	08:30 (08:00; 09:00)	0,93
Самое позднее	12:30 (11:30; 14:00)	12:00 (10:30; 13:00)	0,0001*
Продолжительность ночного сна в течение учебной недели (ч)			
Среднее	6,00 (5,50; 7,00)	7,00 (6,20; 8,00)	0,0001*
Минимальное	4,00 (3,00; 5,50)	6,00 (5,00; 7,00)	0,0001*
Максимальное	8,00 (7,50; 10,00)	8,40 (8,00; 9,00)	0,86
Продолжительность ночного сна в выходные дни (ч)			
Среднее	9,00 (8,00; 10,00)	9,00 (8,00; 10,00)	0,62
Минимальное	8,00 (6,00; 8,00)	8,00 (7,00; 9,00)	0,08*
Максимальное	12,00 (10,00; 12,00)	10,00 (10,00; 12,00)	0,0001*
Сдвиг сна, мин	150,00 (90,00; 240,00)	120,00 (60,00; 180,00)	0,0001*

Примечание. Время отхода ко сну и время пробуждения представлены в 24-часовом формате; данные представлены в виде Ме (25-й; 75-й квартили); * – статистически значимые различия между группами $p < 0,05$.

имела достаточно высокий уровень и была сопоставима с показателями, полученными ранее в аналогичных исследованиях. Так, по данным различных источников, нарушения сна среди подростков встречаются с частотой от 7 до 40 % [13, 17]. В ряде исследований отмечены более высокие показатели. Так, в работе К.А. Газенкампа и соавт. (2019) нарушения ночного сна были зарегистрированы у 52 % школьников старших классов [18], а по данным F. Brooks и соавт. (2015), среди девочек-подростков в Англии 49 % отмечали проблемы со сном [19]. Следует отметить, что обследованные нами девочки-подростки чаще отмечали проблемы со сном на протяжении достаточно продолжительного времени, а именно от 1 до 6 месяцев, что позволяет предположить длительное влияние неблагоприятных условий на развитие организма. При этом отмечена тенденция к ухудшению проблем со сном с течением времени, что, вероятно, свидетельствует о возникновении каких-либо функциональных нарушений организма.

Известно, что важными факторами, оказывающими влияние на качество сна, являются соблюдение режима сна и бодрствования, суточное время сна, температурный режим в помещении во время сна, освещение и уровень шума в помещении во время сна, воздействие так называемого синего излучения (пользование социальными сетями непосредственно перед сном, просмотр телевизора, занятия за компьютером), психоэмоциональное стрессовое воздействие, уровень физической активности, характер питания, употребление тонизирующих напитков, алкоголя, курение [4, 20]. Изучив привычки сна обследованных девочек, мы пришли к выводу, что в подавляющем большинстве случаев имело место комплексное воздействие различных неблагоприятных факторов на процесс сна, которые зачастую есть возможность нивелировать. Следует особо отметить, что наше исследование продемонстрировало более активное общение в социальных сетях с использованием смартфона девочками, имеющими проблемы со сном, непосредственно перед отходом ко сну, что способствует увеличению латентности сна и уменьшению его продолжительности. Во избежание негативного влияния на качество сна рекомендуется избегать любого использования экранов в течение 1 часа до отхождения ко сну. Предпринимаемые меры по коррекции гигиены сна, по нашему мнению, способны обеспечить снижение уровня распространённости нарушений сна у девочек-подростков, снизив тем самым риск развития неблагоприятных последствий для организма. Наши результаты согласуются с данными, полученными в других исследованиях. Так, О.П. Грицина и соавт. (2019) в ходе недавнего исследования определили, что большинство учащихся не соблюдают режим и гигиену сна, что отражается на его качественных характеристиках [2].

Современные условия жизни и развитие новых технологий вносят коррективы в организацию режима дня и образа жизни как взрослых, так и детей, зачастую приводя к укорочению суточного времени сна. Помимо занятий в школе, подростки нагружены внеучебной дея-

тельностью, спортивными занятиями. Кроме того, в настоящее время отмечается повышение длительности пребывания детей за компьютером, просмотром телевизора, выполнением школьного домашнего задания [2, 18, 20]. Выявленная в ходе нашего исследования более активная умственная деятельность непосредственно перед отходом ко сну у девочек с нарушением сна может выступать в качестве одного из факторов, провоцирующих развитие проблем, связанных со сном, а также может приводить к усилению дневной сонливости, эмоциональным и поведенческим нарушениям, повышенной утомляемости, снижению внимания и другим последствиям.

Определено, что средняя продолжительность сна, необходимая в подростковом возрасте, составляет от 8 до 10 часов [21]. Кроме того, известно о большей продолжительности сна в выходные дни, чем в будние, что обусловлено необходимостью раннего пробуждения в связи с началом школьных занятий [22]. При этом сон в подростковом периоде характеризуется рядом особенностей, такими как задержка начала сна, большая латентность сна и большая продолжительность бодрствования. Они обусловлены более поздней секрецией мелатонина и более медленным накоплением гомеостатического влечения ко сну [4]. Таким образом, у подростков формируется «вечерний» хронотип со склонностью к более позднему отхождению ко сну и более позднему пробуждению [23]. Следует учитывать, что увлечение в поздние вечерние часы различными гаджетами, продуцирующими синее излучение, ещё более негативно влияет на процессы засыпания и приводит к укорочению времени ночного сна. Наше исследование также подтвердило снижение показателей длительности сна девочек-подростков, однако наиболее выражены эти изменения были в группе с расстройствами сна. Эти девочки имели более высокие показатели латентности сна и более позднее время отхода ко сну как в течение учебной недели, так и в выходные дни, что привело к сокращению у них продолжительности сна. Кроме того, за счёт более позднего времени пробуждения отмечены большие значения сдвига сна у данной группы обследованных, отражающие неравномерность распределения времени сна в течение недели. Полученные нами данные свидетельствуют о выраженных изменениях цикла «сон – бодрствование» у девочек-подростков с нарушениями сна, что увеличивает риск развития у них неблагоприятных последствий. Результаты нашего исследования согласуются с работами других авторов [2, 13]. Так, ранее было установлено, что около 60–70 % подростков спят менее 8 часов в будние дни, а в работе К.А. Газенкампа и соавт. (2017) этот показатель достиг уровня 87 % [18]. Снижение продолжительности сна у подростков отражено и в работе С.Н. Коломейчук и Л.И. Тепловой (2019), где были обследованы подростки, проживающие в Карелии. При этом выявлены были и гендерные особенности в виде более неблагоприятных качественных и количественных характеристик сна у девочек по сравнению с мальчиками [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на все достижения последних десятилетий в вопросах изучения проблем, связанных со сном, расстройства сна всё чаще встречаются среди подростков и особенно среди девочек. Проведённый нами опрос позволяет сделать вывод о том, что вопросы режима и качества сна девочек-подростков города Иркутска важны и должны быть подвергнуты более детальному комплексному изучению. Учитывая потенциальную опасность для здоровья растущего организма подростка, в частности негативное влияние на формирование репродуктивной функции девочек-подростков, следует уделять больше внимания активному выявлению проблем, связанных со сном, у девочек подросткового возраста и своевременно проводить комплекс мероприятий по их устранению. По нашему мнению, нормализация продолжительности сна, повышение качества сна и улучшение условий сна могут оказать значительное положительное влияние на здоровье девочек-подростков.

Ограничения нашего исследования могут заключаться в небольшом размере выборки, а также субъективной оценкой сна опрошенных девочек-подростков. В этой связи мы считаем, что необходимо продолжить изучение данной проблемы и дополнительно применять методы объективного изучения сна девочек-подростков.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Matricciani L, Paquet C, Galland B, Short M, Olds T. Children's sleep and health: A meta-review. *Sleep Med Rev.* 2019; 46: 136-150. doi: 10.1016/j.smrv.2019.04.011
2. Грицина О.П., Транковская Л.В., Лисецкая Е.А., Тарасенко Г.А. Особенности режима и качества сна современных школьников. *Здоровье. Медицинская экология. Наука.* 2019; 2(78): 13-16. [Gritsina OP, Trankovskaya LV, Lisetskaya EA, Tarasenko GA. Features of the mode and quality of sleep of modern children. *Health. Medical ecology. Science.* 2019; 2(78): 13-16. (In Russ.).] doi: 10.5281/zenodo.3262052019
3. Рычкова Л.В., Погодина А.В., Долгих О.А., Астахова Т.А., Петраш М.А., Лебедева Л.Н. Некоторые детерминанты связанного со здоровьем качества жизни подростков-учащихся школ: одномоментное исследование. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского.* 2022; 101(5): 135-143. [Rychkova LV, Pogodina AV, Dolgikh OA, Astakhova TA, Petrash MA, Lebedeva LN. Some determinants of health-related quality of life in school-age adolescents: A single-stage study. *Pediatrics n.a. G.N. Speransky.* 2022; 101(5): 135-143. (In Russ.).] doi: 10.24110/0031-403X-2022-101-5-135-143
4. Kansagra S. Sleep disorders in adolescents. *Pediatrics.* 2020; 145(2): 204-209. doi: 10.1542/peds.2019-20561
5. Бердина О.Н., Мадаева И.М., Рычкова Л.В. Ожирение и нарушения циркадных ритмов сна и бодрствования: точки соприкосновения и перспективы терапии. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(1): 21-30. [Berdina ON, Madaeva IM, Rychkova LV. Obesity and disturbances of circadian rhythms of sleep and wakefulness: Points of contact and prospects for therapy. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(1): 21-30. (In Russ.).] doi: 10.29413/ABS.2020-5.1.3

6. Sivertsen B, Pallesen S, Friborg O, Nilsen KB, Bakke ØK, Goll JB, et al. Sleep patterns and insomnia in a large population-based study of middle-aged and older adults: The Tromsø study 2015–2016. *J Sleep Res.* 2021; 30(1): e13095. doi: 10.1111/jsr.13095

7. Коломейчук С.Н., Теплова Л.И. Качество и параметры сна у школьников. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Korsakova.* 2017; 11(2): 92-96. (In Russ.). doi: 10.17116/jnevro2017111711292-96

8. Бердина О.Н., Мадаева И.М., Большакова С.Е., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Полисомнографическая картина ночного сна у старших подростков с избыточной массой тела или ожирением: одномоментное исследование. *Якутский медицинский журнал.* 2021; 1(73): 46-50. [Berdina ON, Madaeva IM, Bolshakova SE, Bugun OV, Rychkova LV. Polygraphic picture of night sleep in older adolescents with overweight or obesity: A one-step study. *Yakut Medical Journal.* 2021; 1(73): 46-50. (In Russ.).] doi: 10.25789/YMJ.2021.73.13

9. Винокуров Е.В., Собенников В.С., Рычкова Л.В., Погодина А.В., Храмова Е.Е., Долгих О.А. Психические расстройства у девушек-подростков с нарушением менструального цикла – пациенток педиатрического гинекологического стационара. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2017; 4(97): 49-56. [Vinokurov EV, Sobennikov VS, Rychkova LV, Pogodina AV, Khranova EE, Dolgikh OA. Mental health problems among adolescent inpatients with menstrual cycle irregularity. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2017; 4(97): 49-56. (In Russ.).] doi: 10.26617/1810-3111-2017-4(97)-49-56

10. Пизова Н.В., Пизов А.В. Особенности бессонницы у мужчин и женщин в разные возрастные периоды. *Медицинский совет.* 2022; 21: 112-118. [Pizova NV, Pizov AV. Peculiarities of insomnia in men and women at different age periods. *Medical Council.* 2022; (21): 112-118. (In Russ.).] doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-21-112-118

11. Berdina O, Madaeva I, Bolshakova S, Tsykunova M, Bugun O, Rychkova L. Applying a translated version of the adolescent sleep habits survey in russian high school children with obesity. *Int J Biomed.* 2020; 10(1): 61-65. doi: 10.21103/Article10(1)_OA10

12. Wolfson AR, Carskadon MA, Acebo C, Seifer R, Fallone G, Labyak SE, et al. Evidence for the validity of a sleep habits survey for adolescents. *Sleep.* 2003; 26(2): 213-216. doi: 10.1093/sleep/26.2.213

13. Wheaton AG, Jones SE, Cooper AC, Croft JB. Short sleep duration among middle school and high school students – United States, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2018; 67(3): 85-90. doi: 10.15585/mmwr.mm6703a1

14. Hysing M, Pallesen S, Stormark KM, Lundervold AJ, Sivertsen B. Sleep patterns and insomnia among adolescents: A population-based study. *J Sleep Res.* 2013; 22(5): 549-556. doi: 10.1111/jsr.12055

15. Кельмансон И.А. Сон ребенка в онтогенезе и использование стандартизованного опросника для оценки поведения детей во время сна. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2017; 62(3): 37-52. [Kelmanson IA. Child sleep ontogeny

and application of the standardized questionnaire for the evaluation of child behaviour during sleep. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2017; 62(3): 37-52. (In Russ.]. doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-37-52

16. Pogodina A, Dolgikh O, Astakhova T, Klimkina J, Khramova E, Rychkova L. Health-related quality of life and menstrual problems in adolescents. *J Paediatr Child Health*. 2022; 58(6): 1028-1032. doi: 10.1111/jpc.15895

17. Dohnt H, Gradisar M, Short MA. Insomnia and its symptoms in adolescents: Comparing DSM-IV and ICSD-II diagnostic criteria. *J Clin Sleep Med*. 2012; 8(3): 295-299. doi: 10.5664/jcsm.1918

18. Газенкамф К.А., Омеленчук Р.К., Емельянова В.Н., Шнайдер Н.А., Алексеева А.Н., Алексеева О.В., и др. Циркадные нарушения сна у школьников старших классов сельской местности района Сибири. *Русский журнал детской неврологии*. 2017; 12(2): 40-42. [Gazenkampf KA, Omelenchuk RK, Emelyanova VN, Shnayder NA, Alekseeva AN, Alekseeva OV, et al. Circadian sleep disorders in schoolchildren of countryside Siberia. *Russian Journal of Child Neurology*. 2017; 12(2): 40-42. (In Russ.]. doi: 10.17650/2073-8803-2017-12-2-40-42

19. Brooks F, Magnusson J, Klemmer E, Spencer N, Smeeton N. HBSC England National Report: Health behaviour in school-aged chil-

dren (HBSC): World Health Organization Collaborative Cross National Study. Hatfield, UK: University of Hertfordshire; 2015.

20. Хорсева Н.И., Григорьев П.Е. Электромагнитные поля сотовой связи как фактор риска для здоровья детей и подростков (обзор). *Анализ риска здоровью*. 2023; 2: 186-193. [Khorseva NI, Grigoriev PE. Electromagnetic fields of cellular communication as a health risk factor for children and adolescents (review). *Health Risk Analysis*. 2023; 2: 186-193. (In Russ.]. doi: 10.21668/health.risk/2023.2.18.eng

21. Paruthi S, Brooks LJ, D'Ambrosio C, Hall WA, Kotagal S, Lloyd RM. Consensus statement of the American Academy of Sleep Medicine on the recommended amount of sleep for healthy children: Methodology and discussion. *J Clin Sleep Med*. 2016; 12(11): 1549-1561. doi: 10.5664/jcsm.6288

22. Grasaas E, Rohde G, Haraldstad K, Helseth S, Småstuen MC, Skarstein S, et al. Sleep duration in schooldays is associated with health-related quality of life in Norwegian adolescents: A cross-sectional study. *BMC Pediatrics*. 2023; 23(1): 473. doi: 10.1186/s12887-023-04306-5

23. Carskadon MA, Acebo C, Jenni OG. Regulation of adolescent sleep: implications for behavior. *Ann N Y Acad Sci*. 2004; 1021: 276-291. doi: 10.1196/annals.1308.032

Сведения об авторах

Большакова Светлана Евгеньевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sebol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3104-4212>

Мадаева Ирина Михайловна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Бердина Ольга Николаевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: goodnight_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0930-6543>

Храмова Елена Евгеньевна – кандидат медицинских наук, главный внештатный специалист по детской и подростковой гинекологии Минздрава Иркутской области, заведующая отделением подростковой гинекологии клиники, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: aelita-82@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8042-6276>

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

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Information about the authors

Svetlana E. Bolshakova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sebol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3104-4212>

Irina M. Madaeva – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Olga N. Berdina – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: goodnight_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0930-6543>

Elena E. Khramova – Cand. Sc. (Med.), Chief External Expert on Pediatric and Adolescent Gynecology of the Ministry of Health of the Irkutsk region, Head of the Department of Adolescent Gynecology of the Clinic, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: aelita-82@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8042-6276>

Olga V. Bugun – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Clinical Affairs, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

ОЦЕНКА ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ СЕЛЬСКИХ ПОДРОСТКОВ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ В СВЯЗИ С ПЕРЕСМОТРОМ НОРМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОТРЕБНОСТЕЙ В ЭНЕРГИИ И ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВАХ

Рычкова Л.В.,
Погодина А.В.,
Астахова Т.А.,
Лебедева Л.Н.

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

Автор, ответственный за переписку:
Астахова Татьяна Александровна,
e-mail: tatjana_astahova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Рациональному питанию детского населения придаётся огромное практическое значение как основному фактору укрепления здоровья и полноценного развития подрастающего поколения. Полноценное и сбалансированное по содержанию основных пищевых веществ питание обеспечивает нормальный рост и развитие детского организма.

Цель исследования. Анализ фактического питания подростков, проживающих в сельской местности Иркутской области.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 69 сельских подростков 11–17 лет (34 мальчика, 35 девочек). Фактическое питание было изучено методом 24-часового воспроизведения питания. Определена энергетическая ценность рациона, изучен характер обеспеченности рациона основными макро- и микроэлементами. Полученные значения сравнивали с нормами физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах 2008 и 2021 гг.

Результаты. Анализ фактического питания выявил отклонения от принципов здорового питания: недостаточная энергетическая ценность рациона, дефицит белков и жиров. Рацион подростков характеризуется недостаточным содержанием основных групп макро- и микронутриентов – витаминов А, С и D, эссенциальных микроэлементов, дефицитом пищевых волокон. Рацион подростков характеризуется повышенным потреблением натрия. Расчётное соотношение белков, жиров, углеводов свидетельствует об углеводном типе питания.

Заключение. Несмотря на большое внимание к проблеме сбалансированного питания подростков, вопрос о влиянии питания на состояние здоровья подростка с учётом регионального фактора остаётся открытым. Большое практическое значение приобретают рекомендации для разработки региональной программы по организации правильного питания детей школьного возраста.

Ключевые слова: сельские подростки, фактическое питание, потребление нутриентов

Статья поступила: 10.11.2023
Статья принята: 08.12.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Рычкова Л.В., Погодина А.В., Астахова Т.А., Лебедева Л.Н. Оценка фактического питания сельских подростков Иркутской области в связи с пересмотром норм физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 194–203. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.19

ASSESSMENT OF THE ACTUAL NUTRITION OF RURAL ADOLESCENTS OF THE IRKUTSK REGION BECAUSE OF REVISION OF THE NORMS OF PHYSIOLOGICAL NEEDS FOR ENERGY AND NUTRIENTS

Rychkova L.V.,
Pogodina A.V.,
Astakhova T.A.,
Lebedeva L.N.

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

Corresponding author:
Tatyana A. Astakhova,
e-mail: tatjana_astahova@mail.ru

ABSTRACT

Background. The rational nutrition of the child population is given great medical importance as a factor in preserving the health and development of the child. A complete and balanced diet in terms of the content of basic nutrients ensures the normal growth and development of the child's body.

The aim. To analyze of the actual nutrition of adolescents living in rural areas of the Irkutsk region.

Materials and methods. The study involved 69 rural adolescents aged 11–17 years (34 boys, 35 girls). The actual nutrition was studied by the method of 24-hour nutrition reproduction. The energy value of the diet was determined, the nature of the provision of the diet with basic macro- and microelements was studied. The obtained values were compared with the norms of physiological needs for energy and nutrients in 2008 and 2021.

Results. The analysis of actual nutrition revealed deviations from the principles of healthy nutrition: insufficient energy value of the diet, deficiency of proteins and fats. The diet of adolescents was characterized by an insufficient content of the main groups of macro- and micronutrients – vitamins A, C and D, essential trace elements, and a deficiency of dietary fiber. The diet of adolescents was characterized by increased sodium intake. The calculated ratio of proteins, fats, carbohydrates indicated a carbohydrate type of diet.

Conclusion. Despite the great attention to the problem of balanced nutrition of adolescents, the question of the impact of nutrition on the health of a teenager, considering the regional factor, remains open. Recommendations for the development of a regional program for the organization of proper nutrition for school-age children are of great practical importance.

Key words: rural adolescents, actual nutrition, nutrient intake

Received: 10.11.2023
Accepted: 08.12.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Rychkova L.V., Pogodina A.V., Astakhova T.A., Lebedeva L.N. Assessment of the actual nutrition of rural adolescents of the Irkutsk region because of revision of the norms of physiological needs for energy and nutrients. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 194-203. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.19

ВВЕДЕНИЕ

Сбалансированное питание является одним из главных факторов поддержания здоровья подрастающего поколения. В последнее десятилетие изменилась структура питания населения: резко сократились энерготраты, снизилось потребление основных макро- и микроэлементов [1]. Россияне стали потреблять меньше мясных, молочных продуктов, овощей и фруктов, больше хлебобулочных изделий, рафинированных продуктов. Всё это привело к росту числа алиментарно-зависимых заболеваний [2].

Оценка фактического питания в большинстве случаев проводится среди жителей крупных промышленных центров, в то время как исследование фактического питания сельских жителей носит фрагментарный характер. Результаты исследований фактического питания городских подростков различных регионов России выявили негативную тенденцию снижения потребления школьниками эссенциальных нутриентов – пищевых волокон, витаминов [3]. Аналогичные изменения выявлены и у подростков, проживающих в сельской местности. Пищевые привычки формируются под влиянием ближайшего окружения ребёнка. Большое значение в этот процесс привносят этнические особенности питания, степень достатка семьи, наличие у родителей достаточных знаний о сбалансированном питании.

При оценке фактического питания используют величины среднесуточного потребления энергии и пищевых веществ, которые сравнивают с Нормами физиологических потребностей (НФП), принятыми в России. НФП, утверждённые в 1951, 1968, 1987, 1991 и 2008 гг., периодически проходит процедуру пересмотра, что обусловлено изменениями в структуре заболеваемости как взрослого, так и детского населения, изменениями в социально-экономической структуре общества и другими факторами [4, 5].

Изучение региональных особенностей фактического питания детей и подростков, основанных на учёте места проживания, этнических особенностях, совместно с анализом заболеваемости является актуальной задачей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка фактического питания подростков сельской местности.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования: одномоментное сплошное поперечное исследование.

Критерии включения в исследуемую группу:

- возраст 11–17 лет;
- постоянное с момента рождения проживание ребёнка на территории данного поселения;
- наличие информированного добровольного согласия родителей/законных представителей и подростков старше 15 лет на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследуемую группу:

- возраст менее 11 лет и старше 17 лет;

- задержка физического развития (коэффициент стандартного отклонения (SDS, standard deviation score) < 2 для данного возраста и пола по референсным таблицам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ));
- дефицит веса (SDS индекса массы тела (ИМТ) < 5-го перцентиля).

Условия проведения. Исследование проведено в ноябре 2020 г. на территории п. Баяндай Иркутской области. В исследовании приняли участие подростки, присутствовавшие в школе в дни проведения исследования. Информированное добровольное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных получено от законных представителей пациентов (родители или опекуны) и от детей старше 15 лет.

Продолжительность исследования: с 1 ноября 2020 г. по 1 декабря 2020 г.

Исходы исследования: оценивали рацион питания – энергетическую ценность, химический состав (белки, жиры, углеводы, витамины, микроэлементы, пищевые волокна).

Этическая экспертиза. Проведение исследования было одобрено Этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2 от 18.02.2020).

Оценка фактического питания

Оценка фактического питания проведена методом 24-часового воспроизведения питания [6]. Опросы подростков были проведены врачами. Согласно полученным инструкциям, врач заполнял дневники питания, в которых фиксировались блюда и продукты, которые подросток употребил в основные и дополнительные приёмы пищи в течение 2 дней (1 учебный день и 1 выходной). Оценку величины потребляемой порции пищи проводили с помощью инструмента «Альбом порций продуктов и блюд», который показывали подростку во время опроса [7].

Результаты, полученные при суммировании данных из двухдневных записей, усредняли. Для анализа полученной информации об энергетической ценности, количественном составе каждого блюда использовали данные о химическом составе российских пищевых продуктов [8] в информационном приложении «Мой здоровый рацион» [9]. Данные, представленные на интернет-сервисе «Мой здоровый рацион» относительно состава продуктов основываются на справочнике И.М. Скурихина и В.А. Тутельяна [8].

Полученные в ходе исследования данные проверяли на предмет правдоподобности. Для определения правдоподобности предоставленной информации о фактическом рационе рассчитывали пороговые значения, соответствующие одному стандартному отклонению отношения энергопотребления, рассчитанного по анкетам, к должествующим энерготратам в процентах для данного пола и возраста по формуле:

$$\pm 1SD = \frac{\sqrt{CV_{rel}^2}}{d} + CV_{per}^2 + CV_{mTEE}^2,$$

где CV_{rel} – коэффициент вариации фактического энергопотребления; CV_{per} – коэффициент вариации должествующих энерготрат для данного возраста, пола и соответствующей физической активности; CV_{mTEE} – коэффициент вариации погрешности ежедневных биологических

изменений общих энерготрат, измеренных водным методом [10]. Если процентное соотношение фактического потребления энергии к должествующим энерготратам находилось в области одного стандартного отклонения, такие данные считались правдоподобными.

В исследование включены 75 дневников питания, в которых была представлена информация о рационе подростка. В дальнейшую работу были взяты 69 дневников с предоставленной правдоподобной информацией.

Данные об энергетической ценности и химическом составе оценивали с учётом методических рекомендаций (МР) 2.3.1.2432-08 и 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» [4, 5].

Статистический анализ

Анализ данных проведён с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 21 (IBM Corp., США). Для сравнения суточного потребления энергии и нутриентов между сформированными группами и общей популяцией вычисляли медиану (Me) и 95%-й доверительный интервал (95% ДИ). О статистически значимых различиях говорили, если вычисленный 95% ДИ не включал в себя популяционное среднее.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика выборки исследования

В исследовании приняли участие 69 подростков сельской местности, которые предоставили полную и правдоподобную информацию о рационе питания: 50,7 % девочек, 49,3 % мальчиков (табл. 1). Подростки были разделены на возрастные группы: младшие школьники – 11–14 лет; старшие школьники – 15–17 лет [5].

ТАБЛИЦА 1

ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 1

CHARACTERISTICS OF THE STUDY PARTICIPANTS

Параметры	Подростки (n = 69)
Мужской пол, n (%)	34 (49,3)
Женский пол, n (%)	25 (50,7)
Возраст, лет	15,1 ± 0,8
Занятия в спортивных секциях, n (%)	16 (23,2)
УФА, n (%)	
низкий	13 (18,8)
средний	39 (56,5)
высокий	16 (23,2)
Масса тела, кг	60,6 ± 9,0
ИМТ, кг/м ²	21,9 ± 2,8
SDS ИМТ	0,3 ± 0,9
Ожирение, n (%)	5 (7,2)
ОТ, см	73,9 ± 6,8
SDS ОТ	0,3 ± 0,8

Примечание. УФА – уровень физической активности; ОТ – окружность талии.

Фактическое потребление пищевых веществ и энергии

Результаты исследования фактического питания подростков представлены в таблицах 2, 3.

Результаты проведённого исследования показали, что энергетическая ценность рационов питания, содержание белков, жиров и углеводов не соответствуют НФП у всех подростков, за исключением мальчиков 11–14 лет. В этой группе медианные значения калорийности рациона, а также белков и жиров были выше физиологической потребности.

Медианные значения потребления витаминов были ниже рекомендуемых норм как у мальчиков, так и у девочек: отмечается дефицит витамина А (в пересчёте на ретинол – на 41,5–50,2 %), витамина С (на 41,2–68,6 %). Принимая во внимание тот факт, что среди детского населения Российской Федерации (РФ) высока частота распространённости дефицита витамина D с целью снижения риска развития ряда неинфекционных заболеваний, величина физиологической потребности в МР нового пересмотра (2021) [5] в данном витамине была увеличена с 10 до 15 мкг/сут.; таким образом, медианные значения потребления витамина D в нашем исследовании – 0,7–2,9 мкг/сут., что составляет 4,6–9,3 % от НФП. Средние значения витамина Е были в норме только у мальчиков во всех возрастных группах.

Рядом исследований показана связь недостаточного содержания калия в рационе детского населения и повышенного риска развития сердечно-сосудистой патологии во взрослом возрасте [11–13]. В связи с этим величина физиологической потребности калия была увеличена с 1500 до 2500 мг/сут. для подростков в возрастной группе 11–14 лет [5] и с 2500 до 3200 мг/сут. – для подростков 15–17 лет; таким образом, рацион исследуемых подростков характеризовался дефицитом данного элемента на 18,6–34,1 %. Для оптимизации соотношения кальция : фосфор физиологическая потребность в фосфоре в МР нового пересмотра была увеличена до 900 мг/сут. для всех возрастных и гендерных групп [5]. Учитывая эти изменения, медианные значения потребления данного микроэлемента были ниже НФП в рационе исследуемых школьников.

По результатам исследования потребления минеральных веществ выявлен значительный дефицит кальция и йода во всех возрастных и гендерных группах. Отклонения от НФП в большей степени наблюдаются у девочек в старшей возрастной группе. Обращает на себя внимание значительное превышение потребления натрия во всех возрастных группах подростков.

В последнее время большое внимание врачами уделяется пищевым волокнам как одному из важных компонентов питания, который способствует нормализации функции желудочно-кишечного тракта, снижению риска патологии сердечно-сосудистой системы во взрослом возрасте, поэтому в МР 2021 г. НФП пищевых волокон составляет 22 г/сут. в возрастной группе 15–17 лет [5]. В нашем исследовании медианные значения потребления пищевых волокон составляют 13,0–16,4 г/сут.

ТАБЛИЦА 2
ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ
РАЦИОНОВ ПИТАНИЯ ПОДРОСТКОВ-МАЛЬЧИКОВ

TABLE 2
ENERGY VALUE AND CHEMICAL COMPOSITION OF DIETS
OF ADOLESCENT BOYS

Показатели	Мальчики 11–14 лет (n = 9)				Мальчики 15–17 лет (n = 25)			
	НФП-2021/НФП-2008	Me	95% ДИ		НФП-2021/НФП-2008	Me	95% ДИ	
Энергетическая ценность, ккал	2500,0/2500	2615,5	2289,1	2941,8	2900,0/2900,0	2714,4	2608,2	2820,7
Белки, г	75,0/75,0	79,1	69,6	88,6	87,0/87,0	77,0	68,9	85,2
Жиры, г	83,0/83,0	85,5	74,6	96,4	97,0/97,0	91,1	83,5	98,8
Углеводы, г	363,0/363,0	324,2	280,5	367,8	421,0/421,0	355,7	330,2	381,2
Б : Ж : У	1 : 1,2 : 4,2				1 : 1,2 : 4,6			
Пищевые волокна, г	20,0/20,0	13,0	10,7	15,3	22,0/ 20,0	16,4	14,6	18,3
Витамин А (РЭ), мкг	1000,0/1000,0	433,1	122,4	743,8	1000,0/1000,0	568,1	416,0	720,1
Витамин В1, мг	1,3/1,3	0,8	0,6	0,9	1,5/1,5	1,1	0,8	1,5
Витамин В2, мг	1,5/1,5	0,9	0,7	1,0	1,8/1,8	1,1	0,9	1,3
Витамин В5, мг	3,5/3,5	2,0	1,5	2,4	5,0/5,0	2,6	2,0	3,2
Витамин В6, мг	1,7/1,7	1,1	0,8	1,3	2,0/2,0	1,3	1,1	1,5
Витамин В9, мкг	300,0/300,0	62,8	48,3	77,3	400,0/400,0	123,4	73,1	173,8
Витамин В12, мкг	3,0/3,0	3,1	1,6	4,6	3,0/3,0	3,1	2,4	3,9
Витамин С, мг	70,0/70,0	35,7	11,5	59,9	90,0/90,0	37,1	25,7	48,6
Витамин D, мкг	15,0/10,0	0,7	0,1	1,3	15,0/10,0	0,7	0,4	1,1
Витамин Е (ТЭ), мг	12,0/12,0	12,2	8,3	16,2	15,0/15,0	15,1	11,6	18,6
Калий, мг	2500,0/1500,0	2013,9	1586,5	2441,4	3200,0/2500,0	2342,4	2039,3	2645,4
Кальций, мг	1200,0/1200,0	494,3	363,7	624,8	1200,0/1200,0	612,4	518,9	706,0
Магний, мг	300,0/300,0	222,3	182,7	261,9	400,0/400,0	318,5	263,4	373,7
Натрий, мг	1100,0/1100,0	2481,2	1716,4	3245,9	1300,0/1300,0	2588,6	2278,9	2898,3
Фосфор, мг	900,0/1200,0	856,7	680,5	1032,9	900,0/1200,0	1131,4	1001,4	1261,4
Железо, мг	12,0/12,0	17,9	13,3	22,6	15,0/15,0	20,1	16,4	23,7
Йод, мкг	130,0/130,0	25,7	19,0	32,4	150,0/150,0	41,9	28,1	55,6

Примечание. НФП-2021 и НФП-2008 – нормы физиологических потребностей (табличные данные по «Нормам физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации») по состоянию на 2021 и 2008 гг. соответственно; Me – медиана; 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал для медианы по выборке; Б : Ж : У – соотношение белков, жиров и углеводов.

ТАБЛИЦА 3
ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ
РАЦИОНОВ ПИТАНИЯ ПОДРОСТКОВ-ДЕВОЧЕК

TABLE 3
ENERGY VALUE AND CHEMICAL COMPOSITION OF DIETS
OF ADOLESCENT GIRLS

Показатели	Девочки 11–14 лет (n = 13)				Девочки 15–17 лет (n = 22)			
	НФП-2021/НФП-2008	Me	95% ДИ		НФП-2021/НФП-2008	Me	95% ДИ	
Энергетическая ценность, ккал	2300,0/2300,0	2275,7	2077,7	2473,8	2500,0/2500,0	2373,6	2230,6	2516,7
Белки, г	69,0/69,0	68,9	64,0	73,8	75,0/75,0	72,2	66,8	77,7
Жиры, г	77,0/77,0	74,6	66,0	83,1	83,0/83,0	79,3	73,2	85,4
Углеводы, г	334,0/334,0	311,4	282,1	340,7	363,0	315,0	293,0	337,0
Б : Ж : У	1 : 1,1 : 5,1				1 : 1,2 : 4,9			
Пищевые волокна, г	20,0/20,0	13,5	11,1	16,0	22,0/20,0	14,5	12,9	16,2
Витамин А (РЭ), мкг	800,0/800,0	332,1	244,9	419,3	800,0/800,0	401,3	282,4	520,2
Витамин В1, мг	1,3/1,3	0,7	0,6	0,8	1,3/1,3	1,3	0,3	2,4
Витамин В2, мг	1,5/1,5	0,9	0,7	1,1	1,5/1,5	0,9	0,8	1,0
Витамин В5, мг	3,5/3,5	1,9	1,6	2,3	4,0/4,0	4,7	-1,3	10,8
Витамин В6, мг	1,6/1,6	2,7	-1,0	6,4	1,6/1,6	1,1	0,9	1,3
Витамин В9, мкг	300,0/300,0	69,7	47,6	91,8	400,0/400,0	86,8	59,1	114,5
Витамин В12, мкг	3,0/3,0	3,1	1,4	4,7	3,0/3,0	4,7	0,1	9,3
Витамин С, мг	60,0/60,0	41,2	10,0	72,4	70,0/70,0	36,3	26,2	46,5
Витамин D, мкг	15,0/10,0	1,4	0,7	3,5	15,0/10,0	1,0	0,3	2,3
Витамин Е (ТЭ), мг	12,0/12,0	10,0	7,7	12,4	15,0/15,0	12,5	9,2	15,8
Калий, мг	2500,0/1500,0	2037,6	1643,6	2431,6	3200,0/2500,0	2131,7	1849,9	2413,6
Кальций, мг	1200,0/1200,0	625,0	436,8	813,2	1200,0/1200,0	561,5	454,0	669,0
Магний, мг	300,0/300,0	267,7	222,6	312,8	400,0/400,0	250,9	208,2	293,7
Натрий, мг	1100,0/1100,0	1799,8	1379,7	2219,9	1300,0/1300,0	2064,7	1746,7	2382,8
Фосфор, мг	900,0/1200,0	914,7	800,4	1029,0	900,0/1200,0	902,9	799,4	1006,3
Железо, мг	15,0/15,0	14,5	12,6	16,4	18,0/18,0	17,8	14,2	21,3
Йод, мкг	130,0/130,0	41,0	15,4	66,7	150,0/150,0	29,0	21,2	36,8

Примечание. НФП-2021 и НФП-2008 – нормы физиологических потребностей (табличные данные по «Нормам физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации») по состоянию на 2021 и 2008 гг. соответственно; Me – медиана; 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал для медианы по выборке; Б : Ж : У – соотношение белков, жиров и углеводов.

При сбалансированном питании расчётное соотношение белки : жиры : углеводы (Б : Ж : У) должно составлять 1 : 1 : 4. В нашем исследовании это соотношение указывало на преобладание углеводного компонента в питании подростков, особенно у девочек 11–14 лет.

Анализ потребления отдельных продуктов показал, что продукты, богатые белком (мясо, рыба, птица), употребляют незначительное количество подростков. Так, рыба присутствует в рационе у 8,8 % исследуемых подростков, мясо птицы – у 17,5 % (табл. 4).

ТАБЛИЦА 4

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕЖЕДНЕВНОГО РАЦИОНА ИССЛЕДУЕМЫХ ПОДРОСТКОВ

TABLE 4

CHARACTERISTICS OF THE DAILY DIET OF THE STUDIED ADOLESCENTS

Показатели	Подростки (n = 69)
Употребление 1 порции овощей/фруктов, n (%)	42 (60,1)
Употребление 1 порции рыбы, n (%)	5 (7,2)
Употребление 1 порции красного постного мяса, n (%)	33 (47,8)
Употребление 1 порции молочных продуктов, n (%)	13 (18,8)
Употребление 1 порции мяса птицы, n (%)	15 (21,7)
Употребление 1 порции сладости и подслащённых напитков, n (%)	63 (91,3)

Лидирующие позиции занимают сладости и подслащённые напитки – 91,3 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование ряда авторов указывают на наличие изменений в структуре и характере питания детского населения в различных регионах России [14, 15] что выражается в неадекватном поступлении энергии, макро- и микроэлементов. Результаты нашего исследования подтверждают этот факт. Так, по данным И.И. Салдана и соавт., среди подростков Алтайского края отмечается снижение энергетической ценности рациона совместно с низким потреблением белков и жиров [16]. Аналогичные изменения характеризуют рацион подростков Томской, Саратовской областей и Республики Саха (Якутия) [17, 18].

Одной из причин ухудшения состояния здоровья детского населения является дефицит витаминов, следствием которого является нарушенный обмен веществ, снижение физической и умственной работоспособности. По данным ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», среди населения РФ отмечается всё нарастающий дефи-

цит витаминов и микроэлементов. Так, дефицит витаминов группы В выявляется у 30–40 %, бета-каротина – более чем у 40 %, витамина С – у 70–90 % обследуемых детей и подростков [19]. По результатам нашего исследования выявлен наибольший дефицит по витаминам А, С и D среди сельских подростков. Аналогичные данные показаны и другими исследователями. Н. Wang и соавт. указывают на дефицит витаминов А и С у китайских подростков – 36,1 % и 75,5 % соответственно [20]. По результатам Национального обследования здоровья и питания (NHANES, National Health and Nutrition Examination Survey), у 95 % исследуемых подростков выявлен дефицит витамина D [21].

Низкая обеспеченность витамином D среди детского населения – это «глобальная, немая, неинфекционная пандемия». Результаты российских и международных эпидемиологических исследований убедительно доказывают, что частота низкой концентрации витамина D составляет не менее 70 % (50–90 %) как среди взрослого, так и среди детского населения [15, 22]. Так, по данным D. Wahl и соавт., дефицит витамина D встречался у 23,3 % подростков в возрасте до 18 лет, проживающих в Юго-Восточном Китае [22]. Исследование, проведённое в Великобритании, показало, что 70 % подростков в возрасте от 14,7 до 16,6 лет имели дефицит витамина D [15, 23]. Недостаточное употребление жирных сортов рыбы и морепродуктов является одной из причин дефицита данного витамина.

Дефицит микронутриентов в рационе современного подростка – это объективная реальность настоящего времени. Организация рационального питания, ориентированного на индивидуальные особенности здоровья подростка, – это фундамент, позволяющий добиться снижения дефицита в незаменимых пищевых веществах.

Оценка микронутриентного состава рациона сельских подростков выявила повышенное потребление натрия. Среди сельских подростков Приморского края избыток натрия значительно превосходил НФП; у 72 % омских подростков выявлено превышение рекомендуемых норм потребления натрия; около 30 % подростков Республики Беларусь предпочитают досаливать пищу [24]. Доля среднесуточного потребления натрия у китайских подростков 12–17 лет превышала соответствующую норму потребления на 94,4 % [25]. Норма потребления соли подростками, рекомендуемая экспертами ВОЗ, должна составлять не более 5 г/сут., что эквивалентно 2 г Na [5].

Доказано, что избыточное поступление соли с пищей является одним из ведущих детерминант формирования повышенного артериального давления и риска развития сердечно-сосудистых заболеваний во взрослом возрасте [26, 27]. Рядом исследователей доказана опосредованная связь избыточного потребления соли на развитие избыточной массы тела: каждый дополнительный 1 г соли повышал объём выпитой жидкости, а также приводил к увеличению объёма съеденных порций [27]. В ряде стран потребление соли в несколько раз превышает рекомендуемые нормы, при этом досаливание приготовленной пищи – это часть семейной традиции, нежели физиологическая необходимость [28].

Потребление кальция исследуемыми подростками было ниже НФП, что может объясняться недостаточным употреблением молока и молочных продуктов. Низкое потребление кальция отмечается среди подростков Пензы и Республики Адыгея [29]; среди подростков Иркутской области содержание кальция в 2 раза ниже НФП у подростков младшего школьного возраста [18].

Одним из основных природных источников йода для человека являются продукты растительного и животного происхождения – молоко, яйца, мясо, зерновые, овощи. Иркутская область относится к йоддефицитной территории, и местные продукты не могут в полной мере служить источником достаточного поступления данного микроэлемента в организм. По рекомендации ВОЗ, для массовой профилактики йоддефицитных состояний используется йодированная соль, но несмотря на эти меры, повсеместно среди детского и взрослого населения определяется значительный дефицит этого важнейшего эссенциального микроэлемента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ фактического питания детей школьного возраста остаётся актуальной темой и в настоящее время. Результаты проведённого исследования свидетельствуют о том, что в условиях села рацион подростков характеризуется несбалансированностью по основным макро- и микроэлементам. Отмечаются низкая энергетическая ценность, преобладание углеводного типа питания. Выявлен дефицит важнейших витаминов А, С, D, а также микроэлементов – кальция, йода. Особую тревогу вызывает избыточное потребление натрия. Данные по фактическому рациону сельских подростков могут стать важной составляющей для разработки методических рекомендаций по совершенствованию организации питания детей и подростков с последующим проведением санитарно-просветительской работы среди детского населения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Колесников С.И., Колесникова Л.И., Долгих В.В., Бугун О.В., Королева Н.В., Михнович В.И., и др. *Функциональная активность мозга и процессы перекисного окисления липидов у детей при формировании психосоматических расстройств*. Новосибирск; 2008. [Kolesnikov SI, Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Bugun OV, Koroleva NV, Mikhnovich VI, et al. *Functional activity of the brain and processes of lipid peroxidation in children in the formation of psychosomatic disorders*. Novosibirsk; 2008. (In Russ.)].
2. Есауленко И.Э., Настаушева Т.Л., Жданова О.А., Минакова О.В. Характеристика физического развития и режима питания школьников Воронежа. *Вопросы питания*. 2017; 86(4): 85-92. [Esaulenko IE, Nastaushcheva TL, Zhdanova OA, Minakova OV. Characteristics of Voronezh schoolchildren physical development

and nutrition behavior. *Problems of Nutrition*. 2017; 86(4): 85-92.]. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00063

3. Важенина А.А., Петров В.А., Иванова И.Л. Особенности домашних рационов выходного дня у дошкольников – воспитанников дошкольных образовательных организаций. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016; 61(3): 45-48. [Vazhenina AA, Petrov VA, Ivanova IL. Home diet during weekends of preschool children. *Pacific Medical Journal*. 2016; 61(3): 45-48. (In Russ.)]. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2016.3.45-48

4. *Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации: Методические рекомендации МР 2.3.1.2432-08*. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2009. [Norms of physiological needs for energy and nutrients for various groups of the population of the Russian Federation: Methodological recommendations MR 2.3.1.2432-08. Moscow; 200. (In Russ.)].

5. *Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации: Методические рекомендации МР 2.3.1.0253-21*. М.; 2021. [Norms of physiological needs for energy and nutrients for various groups of the population of the Russian Federation: Methodological recommendations MR 2.3.1.0253-21. Moscow; 2021. (In Russ.)].

6. Сорвачева Т.Н., Мартинчик А.Н., Пырьева Е.А. *Комплексная оценка фактического питания и пищевого статуса детей и подростков*. М.; 2014. [Sorvacheva TN, Martinchik AN, Pyryeva EA. *Comprehensive assessment of actual nutrition and nutritional status of children and adolescents*. Moscow; 2014. (In Russ.)].

7. Мартинчик А.Н., Батурин А.К., Баева В.С., Пескова Е.В. *Альбом порций продуктов и блюд*. М.: Институт питания РАМН; 1995. [Martinchik AN, Baturin AK, Baeva VS, Peskova EV. *Album of portions of food and dishes*. Moscow; 1995. (In Russ.)].

8. Скурихин И.М., Тутельян В.А. (ред.). *Химический состав российских пищевых продуктов*. М.: ДеЛи принт; 2002. [Skurikhin IM, Tutelyan VA (eds). *Chemical composition of Russian food products*. Moscow; 2002. (In Russ.)].

9. *Таблицы калорийности продуктов*. [Tables of calorie content of foods] URL: <https://health-diet.ru/> [дата доступа: 9.11.2023].

10. McCrory MA, Hajduk CL, Roberts SB. Procedures for screening out inaccurate reports of dietary energy intake. *Public Health Nutr*. 2002; (5): 873-882. doi: 10.1079/PHN2002387

11. Даренская М.А., Рычкова Л.В., Астахова Т.А., Погодина А.В., Долгих О.Н., Климкина Ю.Н., и др. Взаимосвязь показателей фактического питания и параметров системы липопероксидации и антиоксидантной защиты крови у подростков 14–17 лет, проживающих в сельской местности. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022; 42(5): 25-36. [Darenskaya MA, Rychkova LV, Astakhova TA, Pogodina AV, Dolgikh ON, Klimkina YuN, et al. Correlation between actual nutrition and lipid peroxidation and antioxidant defense parameters in aged 14–17 years adolescents living in rural area. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022; 42(5): 25-36. (In Russ.)]. doi: 10.18699/SSMJ20220504

12. Погожева А.В. Роль калия и магния в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний. *Consilium Medicum*. 2020; 22(10): 76-79. [Pogozheva AV. The role of potassium and magnesium for prevention and treatment of cardiovascular disease. *Consilium Medicum*. 2020; 22(10): 76-79. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20751753.2020.10.200336

13. Бугун О.В., Рычкова Л.В., Долгих В.В. Двадцатичетырех-часовое мониторирование артериального давления в диагностике эссенциальной артериальной гипертензии в детском возрасте. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2003; 23(2): 49-53. [Bugun OV, Rychkova LV, Dolgikh VV. Twenty-four-hour blood pressure monitoring in the diagnosis of essential arterial hypertension in childhood. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2003; 23(2): 49-53. (In Russ.)].
14. Рычкова Л.В., Долгих О.А., Погодина А.В., Астахова Т.А., Аюрова Ж.Г. Питание подростков – жителей сельских районов Республики Бурятия. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 160-172. [Rychkova LV, Dolgikh OA, Pogodina AV, Astakhova TA, Ayurova ZhG. Dietary intake in indigenous adolescents in rural Buryatia, Russia. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 160-172. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.14
15. Назарова Л.Ш., Даукаев Р.А., Каримов Д.О., Мусаби-ров Д.Э., Смолянкин Д.А., Зиятдинова М.М., и др. Мониторинг состояния питания подростков и их родителей в г. Уфе и Уфимском районе Республики Башкортостан. *Медицина труда и экология человека*. 2022; (1): 206-219. [Nazarova LSh, Daukaev RA, Karimov DO, Musabirov DE, Smolyankin DA, Ziatdinova MM, et al. Monitoring the nutritional status of adolescents and older parents in Ufa and Ufa district of the Republic of Bashkortostan. *Occupational Medicine and Human Ecology*. 2022; (1): 206-219. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2411-3794-2022-10114
16. Салдан И.П., Филиппова С.П., Турчанинов Д.В., Околева О.В., Вильмс Е.А. Гигиеническая оценка эффективности региональной программы модернизации школьного питания в Алтайском крае. *Гигиена и санитария*. 2014; 93(4): 95-100. [Saldan IP, Filippova SP, Turchaninov DV, Okolelova OV, Vilms EA. Hygienic evaluation of the efficacy of the regional program of the modernization of school meals (on the example of Altai Krai). *Hygiene and Sanitation*. 2014; 93(4): 95-100. (In Russ.)].
17. Евсеева С.А., Егорова А.Г., Саввина М.С., Бурцева Т.Е., Слободчикова М.П. Особенности питания детей школьного возраста в сельской местности РС (Я). *Якутский медицинский журнал*. 2019; (4): 78-81. [Evseeva SA, Egorova AG, Savvina MS, Burtseva TE, Slobodchikova MP. Features of nutrition of school-age children in rural areas of the Republic of Sakha (Yakutia). *Yakut Medical Journal*. 2019; (4): 78-81. (In Russ.)]. doi: 10.25789/YMJ.2019.68.22
18. Ефимова Н.В., Мыльникова И.В., Туров В.М. Питание школьников, проживающих на городских и сельских территориях Иркутской области. *Экология человека*. 2020; (3): 23-30. [Efimova NV, Myl'nikova IV, Turov VM. Hygienic conditions of supplementary educational organizations and health of children. *Human Ecology*. 2020; (3): 23-30. (In Russ.)]. doi: 10.33396/1728-0869-2020-3-23-30
19. Reider CA, Chung RY, Devarshi PP, Grant RW, Hazels Mitmesser S. Inadequacy of immune health nutrients: Intakes in US adults, the 2005–2016 NHANES. *Nutrients*. 2020; 12(6): 1735. doi: 10.3390/nu12061735
20. Wang H, Wang D, Ouyang Y, Huang F, Ding G, Zhang B. Do Chinese children get enough micronutrients? *Nutrients*. 2017; 9(4): 397. doi: 10.3390/nu9040397
21. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone*. 2002; 30(5): 771-777. doi: 10.1016/s8756-3282(02)00692-0
22. Wahl DA, Cooper C, Ebeling PR, Eggersdorfer M, Hilger J, Hoffmann K, et al. A global representation of vitamin D status in healthy populations. *Arch Osteoporos*. 2012; 7: 155-172. doi: 10.1007/s11657-012-0093-0
23. Van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011; 25(4): 671-680. doi: 10.1016/j.beem.2011.06.007
24. Grimes CA, Campbell K, Riddell L, Nowson CA. Sources of sodium in Australian children's diets and the effect of the application of sodium targets to food products to reduce sodium intake. *Br J Nutr*. 2011; 105(3): 468-477. doi: 10.1017/S0007114510003673
25. Ковальчук В.К., Ямилова О.Ю., Саенко А.Г., Семанев Е.В., Переломова О.В. Территориальный анализ фактического питания подростков в Приморском крае. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016; 4(66): 40-45. [Koval'chuk VK, Yamilova OYu, Saenko AG, Semaniv EV, Perelomova OV. Territorial analysis of the actual nutrition of adolescents in Primorsky territory. *Pacific Medical Journal*. 2016; 4(66): 40-45. (In Russ.)]. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2016.4.40-45
26. Погодина А.В., Долгих В.В., Рычкова Л.В. Эпидемиологические аспекты артериальной гипертензии у детей и подростков. *Кардиология 2006: Материалы Всероссийского научно-образовательного форума*. 2006; 111-112. [Pogodina AV, Dolgikh VV, Rychkova LV. Epidemiological aspects of arterial hypertension in children and adolescents. *Kardiologiya 2006: Materialy Vserossiyskogo nauchno-obrazovatel'nogo foruma*. 2006; 111-112. (In Russ.)].
27. World Health Organization. *Effect reduced sodium intake on cardiovascular disease, coronary heart disease, and stroke*. Geneva: World Health Organization; 2012.
28. Bouhlal S, Issanchou S, Nicklaus S. The impact of salt, fat and sugar levels on toddler food intake. *Br J Nutr*. 2011; 105(4): 645-653. doi: 10.1017/S0007114510003752
29. Кисельникова Л.П., Алексеева И.А., Щеплягина Л.А. Оценка обеспеченности кальцием детей подросткового возраста с высокой активностью кариеса. *Российская стоматология*. 2013; 6(2): 3134. [Kisel'nikova LP, Alekseeva IA, Shchepliagina LA. The estimation of calcium availability for the adolescent children with high caries activity. *Russian Stomatology*. 2013; 6(2): 31-34. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Погодина Анна Валерьевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории 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>

Астахова Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tatjana_astakhova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1427-4734>

Лебедева Людмила Николаевна – лаборант лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: leb_46@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7289-6024>

Information about the authors

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Anna V. Pogodina – Dr. Sc. (Med.), Chief 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>

Tatyana A. Astakhova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tatjana_astahova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1427-4734>

Lyudmila N. Lebedeva – Clinical Laboratory Assistant at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: leb_46@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-7289-6024>

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА PREVENTIVE MEDICINE

ПОЛОВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ОЖИРЕНИЕ (ПО ДАННЫМ ПРОСПЕКТИВНОГО ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

Цыганкова Д.П.,
Баздырев Е.Д.,
Нахратова О.В.,
Центер И.М.,
Газиев Т.Ф.,
Индукеева Е.В.,
Артамонова Г.В.,
Барбараш О.Л.

ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний»
(650002, г. Кемерово,
Сосновый бульвар, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Центер Иосиф Маркович,
e-mail: tsenter1998@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Избыточный вес и ожирение существенно увеличивают риск преждевременной смерти и развития хронических заболеваний. Разработано множество антропометрических индексов, позволяющих верифицировать ожирение, хотя лучший среди них до сих пор остаётся не определённым.

Цель исследования. Определить половозрастные особенности динамики антропометрических показателей, характеризующих ожирение.

Методы. Программа реализовывалась в период с 2015 по 2020 г. и предусматривала выполнение выборочного исследования. В базовое исследование было включено 1124 женщины и 476 мужчин. Средний возраст составлял $54,9 \pm 9,75$ и $52,6 \pm 10,0$ года соответственно ($p < 0,001$). Для выявления особенностей, связанных с полом, все участники были разделены на три возрастные группы: 35–49 лет, 50–59 лет и 60–70 лет. Период наблюдения составлял 3 года.

Для определения уровня висцерального жира использовался анализатор жировой массы BC-532 (Tanita Health Equipment HK Ltd., Гонконг). Также рассчитывались индекс массы тела (ИМТ), индекс «талия – бёдра» (ОТ/ОБ, окружность талии/окружность бёдер), индекс висцерального ожирения (ИВО). Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты. Новые случаи ожирения развились у 30,6 % обследованных. Наблюдалось увеличение распространённости ожирения по критериям ОТ (на 8,9 %) и уровень висцерального жира (УВЖ; на 5,4 %) и снижение числа лиц, имеющих ожирение по ОТ/ОБ, на 4,2 %. Из всех показателей только ИВО продемонстрировал статистически значимое снижение средних значений за наблюдаемый период, в то время как ИМТ, ОТ и УВЖ – увеличение.

Заключение. Необходимо применение различных критериев для диагностики ожирения, так как отдельные индексы не способны в полной мере отразить половозрастные особенности распределения жира в организме.

Ключевые слова: ожирение, антропометрия, эпидемиология, диагностика

Для цитирования: Цыганкова Д.П., Баздырев Е.Д., Нахратова О.В., Центер И.М., Газиев Т.Ф., Индукаева Е.В., Артамонова Г.В., Барбараш О.Л. Половозрастные особенности динамики антропометрических показателей, характеризующих ожирение (по данным проспективного эпидемиологического исследования). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 204–211. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.20

Статья поступила: 04.12.2022
Статья принята: 10.11.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

SEX AND AGE SPECIFICITIES OF THE DYNAMICS OF ANTHROPOMETRIC INDICATORS CHARACTERIZING OBESITY (ACCORDING TO A PROSPECTIVE EPIDEMIOLOGICAL RESEARCH)

Tsygankova D.P.,
Bazdyrev E.D.,
Nakhratova O.V.,
Tsenter I.M.,
Gaziev T.F.,
Indukaeva E.V.,
Artamonova G.V.,
Barbarash O.L.

Research Institute of Complex Problems
of Cardiovascular Diseases (Sosnovy blvd 6,
Kemerovo 650002, Russian Federation)

Corresponding author:
Iosif M. Tsenter,
e-mail: tsenter1998@mail.ru

ABSTRACT

Background. Overweight and obesity significantly increase the risk of premature death and the development of chronic diseases. Many anthropometric indices have been developed to verify obesity, although the best among them still remains undetermined.

The aim. To determine the sex and age specificities of the dynamics of anthropometric indicators characterizing obesity.

Materials and methods. The program was implemented in the period from 2015 to 2020. It provided for the implementation of a sample research. The baseline research included 1,124 women and 476 men. The average age was 54.9 ± 9.75 years and 52.6 ± 10.0 years, respectively. To identify gender specificities, all participants were divided into three age groups: 35–49 years old, 50–59 years old, and 60–70 years old. The observation period was 3 years.

To determine the level of visceral fat, the VS-532 fat mass analyzer (Tanita Health Equipment HK Ltd., Hong Kong) was used. Body mass index (BMI), waist-hip index (WV/HV), visceral obesity index (VOI) were also calculated. Statistical processing of the results was carried out using the program Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA).

Results. New cases of obesity developed in 30.6 % of the surveyed. There was an increase in the prevalence of obesity according to the criteria of WV (by 8.9 %) and VFL (by 5.4 %) and a decrease in the number of people who are obese according to WV/HV – by 4.2 %. Of all the indicators, only VOI showed a statistically significant decrease in the mean values over the observed period, while BMI, WV and VFL showed an increase.

Conclusions. It is necessary to apply various criteria for the diagnosis of obesity, since individual indices are not able to fully reflect the gender and age specificities of the distribution of fat in the body.

Key words: obesity, anthropometry, epidemiology, diagnostics

For citation: Tsygankova D.P., Bazdyrev E.D., Nakhratova O.V., Tsenter I.M., Gaziev T.F., Indukaeva E.V., Artamonova G.V., Barbarash O.L. Sex and age specificities of the dynamics of anthropometric indicators characterizing obesity (according to a prospective epidemiological research). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 204-211. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.20

Received: 04.12.2022
Accepted: 10.11.2023
Published: 29.12.2023

ВВЕДЕНИЕ

Во всём мире распространённость избыточного веса и ожирения высока и продолжает неуклонно расти. Если в 2016 г. примерно 13,0 % (650 млн) взрослых во всём мире имели ожирение [1, 2], то к 2030 г., по оценкам экспертов, этот показатель будет достигать уже 20,0 % [3]. Известно, что данное состояние существенно увеличивает риск развития большого количества хронических заболеваний, включая метаболические, сердечно-сосудистые, скелетно-мышечные, нейродегенеративные и психические, а также несколько видов рака [4]. Абдоминальное ожирение является независимым фактором риска метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний и смертности [5]. На неинфекционные заболевания, связанные с ожирением, ежегодно приходится более 5 млн смертей во всём мире, причём более половины приходится на людей в возрасте до 70 лет [6]. Кроме того, ожирение является основной причиной снижения качества жизни, инвалидности и социального неблагополучия, при этом оно тесно связано с различными социальными факторами [3, 7].

На сегодняшний день индекс массы тела (ИМТ) и окружность талии (ОТ) по-прежнему считаются основными эпидемиологическими показателями общего и абдоминального ожирения [8]. Однако их польза уменьшается из-за невозможности учесть распределение жира в организме [9]. Различия в распределении жировой ткани могут способствовать неоднородности клинических и биологических проявлений ожирения. Некоторые антропометрические индексы были разработаны специально для описания распределения жира, включая отношение талии к росту, ИМТ, индекс висцерального ожирения (ИВО) и процентное содержание жира (УВЖ). В некоторых исследованиях сообщалось, что отношение талии к росту было лучшим предиктором артериальной гипертензии, сахарного диабета и гиперлипидемии, чем ИМТ и ОТ. Индекс формы тела был существенным фактором риска преждевременной смертности в общей популяции. Некоторые работы продемонстрировали, что ИВО превосходит ИМТ и ОТ в прогнозировании артериальной гипертензии [10]. Тем не менее, лучший индекс верификации ожирения, который предсказывал или был тесно связан с метаболическими факторами, до сих пор остаётся спорным и неубедительным [8, 11].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить поло-возрастные особенности динамики антропометрических показателей, характеризующих ожирение.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Программа исследования организована и реализована в период с 2015 по 2020 гг. Она предусматривала выполнение выборочного исследования,

для чего были сформированы группы респондентов в возрасте 35–70 лет. Все обследования проведены с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации». Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол № 7 от 2015 г.). До включения в исследование пациенты подписывали информированное согласие установленной формы. Репрезентативность выборки обеспечивалась случайным отбором в три последовательных этапа по методу Киша. Критерии включения: возраст от 35 до 70 лет включительно; стабильное проживание на выбранной территории в течение последующих 4 лет. Лица моложе 35 и старше 71 года, а также респонденты, планирующие переезд с выбранного места жительства в ближайшие 4 года, отказавшиеся от участия, в исследование не включались.

В базовое исследование были включены 1124 женщины и 476 мужчин. Медиана возраста у мужчин – 53,5 (44–61) года, у женщин – 57,0 (47–63) лет ($p < 0,001$); в связи с этим для выявления поло-возрастных различий все респонденты были разделены на три возрастные группы: 35–49 лет, 50–59 лет, 60–70 лет. Наблюдение длилось 3 года с момента первого визита. Однако во время пандемии COVID-19 в связи с введением ограничений для проведения медицинских профилактических осмотров соблюдение временного диапазона наблюдения не представлялось возможным. В итоге завершением проспективного этапа служило посещение исследовательского центра 60,0 % участников из каждой возрастной группы базового этапа, у которых срок наблюдения составлял не более 3 лет. По ходу реализации проекта было установлено, что у 807 человек сроки наблюдения удовлетворяли вышеуказанным критериям включения (отклик составил 84,1 %). При этом умерло 44 человека, переехали 32, отказались от дальнейшего участия в исследовании 157 человек. 731 человек полностью прошёл весь перечень обследований.

Уровень висцерального жира определялся анализатором жировой массы BC-532 (Tanita Corporation, Япония). Уровень от 1 до 12 условных единиц определялся как здоровый уровень висцерального жира; от 13 до 59 условных единиц – как повышенный. ИМТ, индекс «талия-бёдра» (ОТ/ОБ (окружность бёдер)) определялись по традиционным формулам. Индекс висцерального ожирения (ИВО) рассчитывался по формулам:

$$\text{у мужчин: ИВО} = \text{ОТ} / (39,68 + (1,88 \times \text{ИМТ})) \times (\text{ТГ} / 1,03) \times (1,31 / \text{ЛПВП})$$

$$\text{у женщин: ИВО} = \text{ОТ} / (36,58 + (1,89 \times \text{ИМТ})) \times (\text{ТГ} / 0,81) \times (1,52 / \text{ЛПВП}),$$

где ТГ – триглицериды; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности.

Статистическая обработка полученных данных производилась при помощи программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США) (лицензия № AXXR003E608729FAN10 от 31.03.2010). Количественные переменные представ-

лены в виде медианы (Me) и процентилей (25 %–75 %), качественные признаки – в виде частот (процентов). Для сравнения количественных переменных использовался критерий Вилкоксона (базовые и проспективные показатели); для сравнения качественных переменных – критерий Хи-квадрат Пирсона. Критический уровень значимости $\leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота ожирения среди женщин на базовом этапе исследования изменялась от 20,9 % по УВЖ до 76,5 % по критерию ОТ, среди мужчин – от 33,4 % (ИВО) до 73,9 % (ОТ/ОБ). Более подробно распространённость ожирения в зависимости от выбранных критериев была представлена авторами ранее [12]. Необходимо отметить, что при сравнительном анализе из всех анализируемых параметров, характеризующих наличие ожирения, только ИВО продемонстрировал статистически значимое снижение средних значений за наблюдаемый период, в то время как ИМТ, ОТ/ОБ, ОТ и УВЖ увеличились (табл. 1).

На проспективном этапе исследования было выявлено 247 новых случаев ожирения (30,6 % обследо-

ванных). Половые различия определялись при использовании критериев ОТ/ОБ и УВЖ. Так, у мужчин чаще, чем у женщин, диагностировался прирост данного состояния по ОТ/ОБ (64,9 % против 35,1 % соответственно; $p < 0,001$). А у женщин в большей степени, чем у мужчин, регистрировалось увеличение доли лиц с ожирением по УВЖ (53,7 % и 46,3 % соответственно; $p = 0,003$). По остальным изучаемым параметрам различия не достигали статистической значимости: по ИМТ новые случаи ожирения были определены у 26,8 % мужчин и 73,2 % женщин ($p = 0,617$); по ОТ ожирение почти в 2 раза чаще встречалось у женщин, чем у мужчин (65,4 % и 34,6 % соответственно; $p = 0,382$); новые случаи ожирения по ИВО были зафиксированы у 26,6 % лиц мужского пола и у 73,4 % женщин ($p = 0,494$). Статистически значимые возрастные особенности были выявлены только в случае применения критерия ОТ: максимальный прирост данного показателя наблюдался в группе 50–59 лет – 47,4 %, в младшей возрастной группе он составил 35,9 % и минимальный прирост наблюдался в группе 60–70 лет (16,7 %) ($p = 0,001$). Также было отмечено, что максимальная распространённость ожирения по критериям ИМТ, УВЖ и ИВО приходилась на возрастную группу 60–70 лет (36,6 %, 44,8 % и 40,6 % соответственно), а по критерию ОТ/ОБ – на группу 35–49 лет (40,3 %).

ТАБЛИЦА 1
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОЖИРЕНИЯ ЗА ИЗУЧАЕМЫЙ ПЕРИОД, МЕ (25 %–75 %)

Показатели	Базовый этап	Проспективный этап	p
Индекс массы тела	29,0 (25,2–33,1)	29,3 (25,8–33,2)	$< 0,001$
Индекс «талия-бёдра»	0,88 (0,8–0,9)	0,92 (0,8–1,0)	$< 0,001$
Окружность талии	93,0 (83,0–103,0)	98,0 (88,0–108,0)	$< 0,001$
Уровень висцерального жира	10,0 (7,0–13,0)	11,0 (8,0–14,0)	$< 0,001$
Индекс висцерального ожирения	1,58 (0,9–2,6)	1,47 (0,9–2,4)	0,001

TABLE 1
DYNAMICS OF OBESITY INDICATORS FOR THE STUDIED PERIOD, ME (25 %–75 %)

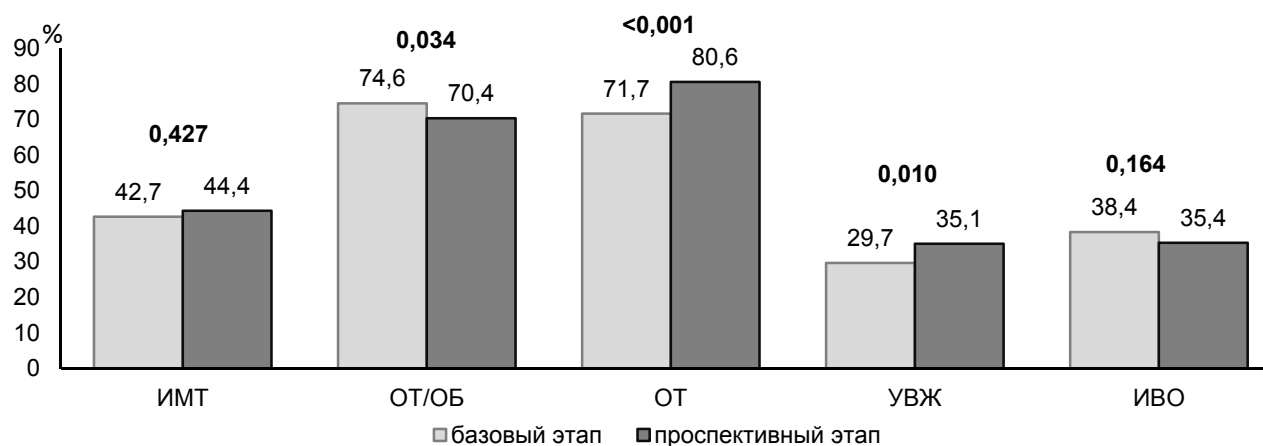


РИС. 1.
Изменение распространённости ожирения, диагностированного различными критериями (2015–2019 гг.)

FIG. 1.
Dynamics of the prevalence of obesity diagnosed by various criteria (2015–2019)

ТАБЛИЦА 2
ПОЛОВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ
ОЖИРЕНИЯ, ОЦЕНЕННОГО ПО РАЗЛИЧНЫМ
АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ (%)

Возраст, лет	Пол	ИМТ			ОТ			ОТ/ОБ			УВЖ			ИВО		
		Б	П	<i>p</i>	Б	П	<i>p</i>	Б	П	<i>p</i>	Б	П	<i>p</i>	Б	П	<i>p</i>
35–49	М	33,7	45,1	0,093	53,9	62,0	0,248	64,0	77,5	0,041	28,6	39,4	0,099	33,1	40,8	0,251
	Ж	27,5	29,9	0,605	55,9	67,7	0,021	53,5	39,4	0,007	3,0	3,1	0,943	27,8	22,8	0,281
50–59	М	37,3	31,3	0,353	60,8	74,7	0,030	76,6	89,2	0,018	51,9	62,6	0,110	39,9	33,7	0,350
	Ж	47,9	49,2	0,775	76,6	88,9	0,001	75,5	63,0	0,002	21,4	23,8	0,530	43,7	42,0	0,704
60–70	М	37,1	38,8	0,817	67,9	70,1	0,740	83,6	91,0	0,056	77,1	80,6	0,573	26,4	14,9	0,065
	Ж	57,2	56,5	0,861	91,9	94,0	0,339	90,3	79,5	0,0002	33,9	37,5	0,381	47,5	43,0	0,288

Примечание. Б – базовый этап; П – проспективный этап.

TABLE 2
AGE AND GENDER SPECIFICITIES OF THE DYNAMICS
OF OBESITY, ASSESSED BY VARIOUS ANTHROPOMETRIC
INDICATORS (%)

За период 2015–2019 гг. было отмечено снижение распространённости ожирения, оцененного по критерию ОТ/ОБ с 74,6 % до 70,4 % ($p = 0,034$) (рис. 1). По критериям ОТ и УВЖ наблюдалось увеличение частоты выявления данной патологии на 8,9 % ($p < 0,001$) и 5,4 % ($p = 0,010$) соответственно.

При анализе половозрастных особенностей динамики ожирения, оцененного по различным критериям, были выявлены статистически значимые различия при изучении параметров ОТ и ОТ/ОБ (табл. 2). Так, распространённость абдоминального ожирения у женщин молодого возраста увеличилась на 11,8 %. Кроме того, у обоих полов в возрасте 50–59 лет также был выявлен рост частоты выявления ожирения по данному критерию (на 13,9 % и 12,3 % соответственно). При изучении тенденций распространённости ожирения по критерию ОТ/ОБ выявлялись интересные закономерности: у лиц женского пола определялось снижение вне зависимости от возрастной группы (на 14,1 %, 12,2 % и 10,8 % соответственно). В то же время у мужчин было выявлено увеличение распространённости ожирения в возрасте 35–49 и 50–59 лет (на 13,5 % и 12,6 % соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведённого одноцентрового трёхлетнего исследования продемонстрировали увеличение распространённости ожирения по критериям ОТ и УВЖ и снижение – по критерию ОТ/ОБ. Половозрастные особенности динамики ожирения по изучаемым критериям заключались в увеличении распространённости абдоминального ожирения у женщин 35–59 лет, но при этом в уменьшении частоты выявления во всех возрастных группах по критерию ОТ/ОБ. У лиц мужского пола был отмечен рост выявления случаев ожирения по ОТ в возрасте 50–59 лет, по ОТ/ОБ – в возрасте 35–59 лет. Однако медианы значений всех изучаемых по-

казателей (за исключением ИВО) статистически значительно увеличились. Данный факт свидетельствует о необходимости применения различных критериев для диагностики ожирения, так как ИМТ, вероятно, не способен в полной мере отражать половозрастные особенности распределения жира в организме [13].

Увеличение распространённости ожирения отмечается в большинстве стран мира в течение последних десятилетий. Так, в исследовании национальной базы данных медицинских осмотров Корейской национальной службы медицинского страхования распространённость ожирения постоянно увеличивалась в течение 10 лет – с 2009 (29,7 %) по 2018 г. (35,7 %) – среди всего населения и во всех возрастных группах. Распространённость абдоминального ожирения также увеличилась: с 19,0 % в 2009 г. до 23,8 % в 2018 г. Рост распространённости абдоминального ожирения был наиболее заметен среди мужчин (с 20,7 % до 28,1 % соответственно). У женщин распространённость абдоминального ожирения в целом увеличилась с 16,2 % до 18,2 %, но снизилась в возрасте 50–60 лет [14].

Среди 20 густонаселённых стран самый высокий уровень ожирения среди взрослых в 2015 г. наблюдался в Египте – 34,9 %, самый низкий – во Вьетнаме (1,6 %). Распространённость ожирения увеличилась более чем в 2 раза в 13 из этих 20 стран в период с 1980 по 2015 г., и только Демократическая Республика Конго не продемонстрировала роста данной патологии [15]. В Африке с 1980 по 2014 г. стандартизированный по возрасту средний ИМТ увеличился с 21,0 кг/м² (95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 20,3–21,7) до 23,0 кг/м² (95% ДИ: 22,7–23,3) у мужчин и с 21,9 до 24,9 кг/м² у женщин [16]. В Российской Федерации крупные эпидемиологические исследования малочисленны. Изучение ожирения в регионах страны по большей части носит односторонний характер и не учитывает весь комплекс факторов, влияющих на частоту выявления данных патологий. В настоящее время наблюдается низкая эффективность диагностики и лечения ожирения [17].

По данным исследования «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в Российской Федерации» (ЭССЕ-РФ), распространённость ожирения достигала 29,7 % [18]. В то же время в различных регионах Российской Федерации данный показатель варьирует от 22,5 % до 44,5 % по ИМТ и от 43,0 % до 67,0 % по ОТ. Абдоминальное ожирение было более тесно связано с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и сахарного диабета и имело значительно большее распространение – 55,0 % против 33,4 % по ИМТ [19].

Если вышеописанные тенденции роста распространённости ожирения сохранятся, то шансы по стабилизации массы тела седи населения равны нулю [20]. По расчётам учёных, в ближайшие пять лет глобальная распространённость ожирения достигнет 18 % и 21 % у мужчин и женщин соответственно [20].

В целом распространённость ожирения и избыточного веса в странах Ближнего Востока оставалась стабильной с 2000 по 2020 г. со средней распространённостью 23 %. Однако распространённость избыточного веса снизилась с 34,8 % (95% ДИ: 32,4–37,4) до 32,8 % (95% ДИ: 31,4–34,4) за эти промежутки времени. При этом у женщин распространённость ожирения и избыточного веса снизилась с 26,6 % (95% ДИ: 22,9–30,9) и 32,3 % (95% ДИ: 29,8–35,0) в период с 2000 по 2006 г. до 23,1 % (95% ДИ: 20,8–25,7) и 32,8 % (95% ДИ: 31,39–34,38) в период с 2014 по 2020 г. соответственно. В то же время распространённость ожирения у мужчин увеличилась с 20,1 % (95% ДИ: 16,24–24,82) с 2000 по 2006 г. до 23,5 % (95% ДИ: 20,3–27,2) с 2014 по 2020 г. Однако распространённость избыточного веса у лиц мужского пола в эти периоды оставалась стабильной (39,0 %) [21].

Динамика роста ожирения в Европе у мужчин выше, чем у женщин (3,1 % против 1,9 % в год). При сохранении темпов роста на расчётном уровне в 2030 г. в Польше, вероятно, будет больше мужчин с ожирением (38,1 %), чем женщин (32,7 %), а в Европе – 36,6 % и 32,0 % соответственно [22].

Согласно этим тенденциям, основной движущей силой эпидемии ожирения, по мнению авторов, является вестернизация образа жизни в странах [23, 24]. Политика, проводимая в обществе, должна способствовать поведенческим изменениям на личном уровне с упором на увеличение потребления здорового питания и физической активности [15]. Между тем неоднородность показателей ожирения между странами может означать, что социальные и другие факторы и их различия связаны со статусом ожирения. Рост ожирения чаще сопровождался улучшением экономики, особенно в ряде развивающихся стран [15].

Приведённые выше данные позволяют предположить, что существуют противоречия в оценке текущих показателей антропометрических индексов и они не могут обеспечить всесторонний прогноз метаболических факторов риска. Соответственно, необходимы дальнейшие исследования для выяснения связи антропометрических параметров с факторами сердечно-сосудистого риска [25, 26].

ВЫВОДЫ

За анализируемый период времени были выявлены новые случаи ожирения у 30,6 % респондентов: увеличение распространённости наблюдалось при использовании критериев ОТ и УВЖ (на 8,9 % и 5,4 % соответственно). В то же время по критерию ОТ/ОБ было определено снижение числа лиц с данной патологией на 4,2 %. Медиана всех изучаемых показателей (за исключением ИВО) статистически значимо увеличилась за три года наблюдения. У мужчин, чаще, чем у женщин, диагностировался прирост данного состояния по ОТ/ОБ (64,9 % против 35,1 % соответственно; $p < 0,001$). А у женщин в большей степени, чем у мужчин, регистрировалось увеличение доли лиц с ожирением по УВЖ (53,7 % и 46,3 % соответственно; $p = 0,003$). Возрастные особенности были выявлены только в случае применения критерия ОТ: максимальный прирост наблюдался в 50–59 лет (47,4 %) и в 35–49 лет (35,9 %), а минимальный – в возрасте 60–70 лет (16,7 %; $p = 0,001$). Максимальная распространённость ожирения по критериям ИМТ, УВЖ и ИВО приходилась на возрастную группу 60–70 лет (36,6 %, 44,8 % и 40,6 % соответственно), а по критерию ОТ/ОБ – на 35–49 лет (40,3 %). Вопрос о выборе лучшего метода измерения ожирения для прогнозирования факторов риска ССЗ остаётся спорным. Необходимы дальнейшие исследования среди групп населения, для которых различные антропометрические показатели не были тщательно проанализированы и сопоставлены. Требуется комплексный подход к диагностике, учитывающий традиционные, социально-экономические и поведенческие факторы, присущие конкретному региону. Направленное снижение риска развития ожирения поможет снизить бремя болезней системы кровообращения в популяции взрослого населения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: A pooled analysis of 2416 population based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017; 390: 2627–2642. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32129-3
2. World Health Organization. Obesity and overweight. Geneva; 2020. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight#:~:text=39%25%20of%20adults%20aged%2018,overweight%20or%20obese%20in%202020> [date of access: 14.06.2022].
3. Dagne S, Menber Y, Petrucka P, Wassihun Y. Prevalence and associated factors of abdominal obesity among the adult population in Woldia town, Northeast Ethiopia, 2020: Community-based cross-sectional study. *PLoS One*. 2021; 16(3): e0247960. doi: 10.1371/journal.pone.0247960

4. Blüher M. Obesity: Global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019; 15: 288-298. doi: 10.1038/s41574-019-0176-8
5. Nam GE, Kim YH, Han K, Jung JH, Park YG, Lee KW, et al. Obesity fact sheet in Korea, 2018: Data focusing on waist circumference and obesity-related comorbidities. *J Obes Metab Syndr.* 2019; 28: 236-245. doi: 10.7570/jomes.2019.28.4.236
6. Okunogbe A, Nugent R, Spencer G, Ralston J, Wilding J. Economic impacts of overweight and obesity: Current and future estimates for eight countries. *BMJ Glob Health.* 2021; 6(10): e006351. doi: 10.1136/bmjgh-2021-006351
7. Nam GE, Kim YH, Han K, Jung JH, Rhee EJ, Lee SS, et al. Obesity fact sheet in Korea, 2019: Prevalence of obesity and abdominal obesity from 2009 to 2018 and social factors. *J Obes Metab Syndr.* 2020; 29(2): 124-132. doi: 10.7570/jomes20058
8. Hu L, Hu G, Huang X, Zhou W, You C, Li J, et al. Different adiposity indices and their associations with hypertension among Chinese population from Jiangxi province. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020; 20(1): 115. doi: 10.1186/s12872-020-01388-2
9. Jiang JC, Deng SY, Chen Y, Liang SY, Ma N, Xu YJ, et al. Comparison of visceral and body fat indices and anthropometric measures in relation to untreated hypertension by age and gender among Chinese. *Int J Cardiol.* 2016; 219: 204-211. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.032
10. Hu L, Huang X, You C, Li JX, Hong K, Li P, et al. Prevalence and risk factors of prehypertension and hypertension in southern China. *PLoS One.* 2017; 12: e170238. doi: 10.1371/journal.pone.0170238
11. Wei J, Liu X, Xue H, Wang Y, Shi Z. Comparisons of visceral adiposity index, body shape index, body mass index and waist circumference and their associations with diabetes mellitus in adults. *Nutrients.* 2019; 11(7): 1580. doi: 10.3390/nu11071580
12. Цыганкова Д.П., Кривошапова К.Е., Максимов С.А., Индукаева Е.В., Шаповалова Э.Б., Артамонова Г.В. Частота выявления ожирения в зависимости от различных критериев в популяции среднего возраста городских и сельских жителей Сибирского региона. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2019; 18(4): 53-61. [Tsygankova DP, Krivoshapova KE, Maksimov SA, Indukaeva EV, Shapovalova EB, Artamonova GV, et al. Obesity prevalence rate, depending on various criteria in the average age population of urban and rural residents of the Siberian region. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2019; 18(4): 53-61. (In Russ.))] doi: 10.15829/1728-8800-2019-4-53-61
13. Cooper AJ, Gupta SR, Moustafa AF, Chao AM. Sex/gender differences in obesity prevalence, comorbidities, and treatment. *Curr Obes Rep.* 2021; 10(4): 458-466. doi: 10.1007/s13679-021-00453-x
14. Silventoinen K, Jelenkovic A, Sund R, Hur YM, Yokoyama Y, Honda C, et al. Genetic and environmental effects on body mass index from infancy to the onset of adulthood: An individual based pooled analysis of 45 twin cohorts participating in the COLaborative project of Development of Anthropometrical measures in Twins (CODATwins) study. *Am J Clin Nutr.* 2016; 104: 371-379. doi: 10.3945/ajcn.116.130252
15. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, Lee A, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med.* 2017; 377: 13-27. doi: 10.1056/NEJMoa1614362
16. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) – Africa Working Group. Trends in obesity and diabetes across Africa from 1980 to 2014: an analysis of pooled population-based studies. *Int J Epidemiol.* 2017; 46(5): 1421-1432. doi: 10.1093/ije/dyx078
17. Гайсёнок О.В., Александрова А.А., Савина Н.М. Выявление распространенности ожирения и оценка его взаимосвязи с сердечно-сосудистым риском по данным скрининговых программ обследования населения. *Социальные аспекты здоровья населения.* 2020; 66(2): 1-18. [Gaisenok OV, Alexandrova AA, Savina NM. Prevalence of obesity and its relationship with cardiovascular risk according to data of population screening programs. *Social Aspects of Population Health.* 2020; 66(2): 1-18. (In Russ.)].
18. Муромцева Г.А., Концевая А.В., Константинов В.В., Артамонова Г.В., Гатагонова Т.М., Дупляков Д.В., и др. Распространенность факторов риска неинфекционных заболеваний в Российской популяции в 2012–2013 гг. результаты исследования ЭССЕ-РФ. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2014; 13(6): 4-11. [Muromtseva GA, Kontsevaya AV, Konstantinov VV, Artamonova GV, Gatagonova TM, Duplyakov DV, et al. The prevalence of non-infectious diseases risk factors in Russian population in 2012–2013 years. The results of ECVD-RF. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2014; 13(6): 4-11. (In Russ.)] doi: 10.15829/1728-8800-2014-6-4-11
19. Жернакова Ю.В., Железнова Е.А., Чазова И.Е., Ощепкова Е.В., Долгушева Ю.А., Яровая Е.Б., и др. Распространенность абдоминального ожирения в субъектах Российской Федерации и его связь с социально-экономическим статусом, результаты эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ. *Терапевтический архив.* 2018; 90(10): 14-22. [Zhernakova YV, Zheleznova EA, Chazova IE, Oshchepkova EV, Dolgusheva YA, Yarovaya EB, et al. The prevalence of abdominal obesity and the association with socioeconomic status in Regions of the Russian Federation, the results of the epidemiological study – ESSE-RF. *Terapevticheskii arkhiv.* 2018; 90(10): 14-22. (In Russ.)].
20. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: A pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19,2 million participants. *Lancet.* 2016; 387(10026): 1377-1396. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30054-X
21. Okati-Aliabad H, Ansari-Moghaddam A, Kargar S, Jabbari N. Prevalence of obesity and overweight among adults in the Middle East countries from 2000 to 2020: A systematic review and meta-analysis. *J Obes.* 2022; 2022: 8074837. doi: 10.1155/2022/8074837
22. Krzysztozek J, Ludańska-Krzemińska I, Bronikowski M. Assessment of epidemiological obesity among adults in EU countries. *Ann Agric Environ Med.* 2019; 26(2): 341-349. doi: 10.26444/aaem/97226
23. Герман А.И., Седых Д.Ю., Хрячкова О.Н., Кашталап В.В. Абдоминальное ожирение и 10-летний прогноз пациентов с инфарктом миокарда. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2021; 10(1): 26-39. [German AI, Sedykh DYU, Hryachkova ON, Kashtalap VV. Abdominal obesity and ten-year prognosis of patients with myocardial infarction. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021; 10(1): 26-39. (In Russ.)]. doi: 10.17802/2306-1278-2021-10-1-26-39
24. Swift DL, McGee JE, Earnest CP, Carlisle E, Nygard M, Johannsen NM. The effects of exercise and physical activity on weight loss and maintenance. *Prog Cardiovasc Dis.* 2018; 61: 206-213. doi: 10.1016/j.pcad.2018.07.014

25. Wang H., Liu A., Zhao T., Gong X., Pang T., Zhou Y, et al. Comparison of anthropometric indices for predicting the risk of metabolic syndrome and its components in Chinese adults: A prospective, longitudinal study. *BMJ Open*. 2017; 7(9): e016062. doi: 10.1136/bmjopen-2017-016062

26. Lam BC, Koh GC, Chen C, Wong MT, Fallows SJ. Comparison of body mass index (BMI), body adiposity index (BAI), waist circumference (WC), waist-to-hip ratio (WHR) and waist-to-height ratio (WHtR) as predictors of cardiovascular disease risk factors in an adult population in Singapore. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0122985. doi: 10.1371/journal.pone.0122985

Сведения об авторах

Цыганкова Дарья Павловна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: cigadp@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6136-0518>

Баздырев Евгений Дмитриевич — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: bazded@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3023-6239>

Нахратова Ольга Владимировна — младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: nahratovao.v@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2778-6926>

Центер Иосиф Маркович — лаборант-исследователь лаборатории эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: tsenter1998@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9048-8294>

Газиев Тимур Фларитович — младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: gaziev.tim@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3840-744X>

Индукеева Елена Владимировна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: indev@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6911-6568>

Артамонова Галина Владимировна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом оптимизации медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: artamonova@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2279-3307>

Барбараш Ольга Леонидовна — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», E-mail: barbol@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4642-3610>

Information about the authors

Daria P. Tsygankova — Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cardiovascular Diseases of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: cigadp@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6136-0518>

Evgeny D. Bazdyrev — Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Cardiovascular Diseases of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: bazded@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3023-6239>

Olga V. Nakhratova — Junior Research Officer at the Laboratory of Cardiovascular Diseases of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: nahratovao.v@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2778-6926>

Iosif M. Tsenter — Clinical Research Assistant at the Laboratory of Cardiovascular Diseases of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: tsenter1998@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9048-8294>

Timur F. Gaziev — Junior Research Officer at the Laboratory of Cardiovascular Diseases of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: gaziev.tim@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3840-744X>

Elena V. Indukaeva — Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cardiovascular Diseases of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: indev@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6911-6568>

Galina V. Artamonova — Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Optimization of Medical Care for Cardiovascular Diseases, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: artamonova@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2279-3307>

Olga L. Barbarash — Dr. Sc. (Med), Professor, Member of the RAS, Director, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, e-mail: barbol@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4642-3610>

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВЫСШИХ ПСИХИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ ДОШКОЛЬНИКОВ В АСПЕКТЕ МАТЕРИАЛЬНОГО ДОСТАТКА СЕМЬИ (НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ)

Неровных М.С.

ФГБОУ ВО «Хакасский государственный
университет им. Н.Ф. Катанова» (655017,
г. Абакан, просп. Ленина, 90, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Неровных Марина Сергеевна,
e-mail: s.mariana@list.ru

РЕЗЮМЕ

Решение проблем индивидуального развития человека требует не просто накопления и обобщения данных, но и уточнения, системного понимания индивидуальной изменчивости высших психических функций в соотношении с факторами среды и учёта рисков, сопутствующих их формированию.

Цель исследования. Выявить системные закономерности соотношений индивидуальной изменчивости высших психических функций детей дошкольного возраста с материальным уровнем их семей.

Методы. Применялись традиционные нейропсихологические пробы, разработанные А.Р. Лурией и прошедшие адаптацию в лаборатории нейропсихологии факультета психологии МГУ им. М.В. Ломоносова. Было обследовано 180 детей дошкольного возраста из семей с высоким, средним и низким уровнем доходов.

Результаты. Наибольшей индивидуальной изменчивостью в период дошкольного возраста в соотношении с материальным уровнем семьи подвержены функции с долгим периодом формирования – это функции III блока мозга, и функции, обеспечиваемые преимущественно левополушарными отделами головного мозга. Дети из наиболее обеспеченных семей имеют самые высокие показатели индексов функций III блока мозга ($p < 0,001$) и левополушарных функций ($p < 0,001$). У дошкольников из семей низкого материального уровня в зоне отрицательных значений оказались индексы функций как передних отделов головного мозга ($p < 0,001$), так и функций левополушарных отделов ($p < 0,001$).

Заключение. Полученные эмпирические результаты исследования позволяют уточнить, что фактор материального достатка семьи – как непосредственно, факторно, так и опосредованно, кумулятивно, через систему проксимальных факторов, – может вносить свой избирательный вклад в изменчивость показателей высших психических функций детей, что проявляется в более интенсивном темпе формирования одних групп функций и менее интенсивном – других, а также в выборе ведущей стратегии обработки информации, опирающейся на активность левого или правого полушария.

Ключевые слова: высшие психические функции, материальный уровень, дошкольники, изменчивость, социально-демографические характеристики, нейропсихологический анализ

Статья поступила: 07.12.2022
Статья принята: 14.12.2023
Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Неровных М.С. Индивидуальная изменчивость высших психических функций дошкольников в аспекте материального достатка семьи (нейропсихологический анализ). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 212-222. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.21

INDIVIDUAL VARIABILITY OF HIGHER MENTAL FUNCTIONS IN PRESCHOOL CHILDREN WITH REGARD TO THE MATERIAL PROSPERITY OF THE FAMILY (NEUROPSYCHOLOGICAL ANALYSIS)

Nerovnykh M.S.

Katanov Khakass State University
(Lenina Ave. 90, Abakan 655017,
Russian Federation)

Corresponding author:
Marina S. Nerovnykh,
e-mail: s.mariana@list.ru

ABSTRACT

The problem of human individual development requires not just the accumulation and generalization of data, but also clarification, a systematic understanding of the individual variability of higher mental functions in relation to environmental factors and taking into account the risks associated with their formation.

The aim: to identify systematic patterns of correlation between individual variability of higher mental functions of preschool children and the material prosperity of their families.

Methods. Traditional neuropsychological tests developed by A.R. Luria and adapted in the neuropsychology laboratory of the Faculty of Psychology at Lomonosov Moscow State University were used. We examined 180 preschool children from families with high, average, and low income.

Results. The greatest individual variability in the period of preschool age in relation to the level of material prosperity of the family, are the functions with a long period of formation, these are functions of block III of the brain, and the functions provided mainly by the left hemispheric parts of the brain. Children from the most affluent families have the highest indices of brain block III functions ($p < 0.001$) and left hemispheric functions ($p < 0.001$). Preschoolers from low-affluence families had indexes of both front brain function ($p < 0.001$) and left hemispheric function ($p < 0.001$) in the zone of negative values.

Conclusion. The empirical results of the study allow us to clarify that the factor of material prosperity of the family, both directly, factor-wise, and indirectly, cumulatively, through the system of proximal factors, can make its selective contribution to the variability of indicators of children's higher mental functions.

Key words: higher mental functions, material prosperity, preschoolers, variability, socio-demographic characteristics, neuropsychological analysis

Received: 07.12.2022
Accepted: 14.12.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Nerovnykh M.S. Individual variability of higher mental functions in preschool children with regard to the material prosperity of the family (neuropsychological analysis). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 212-222. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.21

ОБОСНОВАНИЕ

Со второй половины XIX века в фокусе центральных проблем психологии оказываются вопросы изучения источников индивидуальных вариаций психических процессов. Установлено, что индивидуальные различия находятся в сложной связи комплементарного действия наследственности и среды, а также активности самого субъекта. Наследственность позволяет обеспечивать устойчивость психологических свойств биологического вида, передавать индивидуальные признаки следующему поколению; среда же обеспечивает изменчивость индивидуальных признаков и возможность приспособляться к изменяющимся условиям жизни [1]. Между тем и наследственность допускает очень широкий спектр вариаций пути онтогенетического развития, являющихся результатом разнообразных реакций организма – биохимических, физиологических, психологических [2]. В этом контексте исследований очевидным является понимание того, что меняющаяся среда по-разному разворачивает врождённые программы проявления человека. При этом в процессе развития индивидуальности человека присутствуют области более вариативные и чувствительные к средовому воздействию, и относительно устойчивые.

Одним из важнейших индивидуальных свойств человека, объективно формирующихся на ранних этапах онтогенеза, является функциональная организация работы мозга. Функциональные системы имеют прижизненный путь формирования, трансформируются в процессе реализации той или иной психической деятельности и обусловлены социальным опытом [3]. Именно от раннего опыта во многом зависит то, по какой из возможных траекторий пойдёт путь развития человека. Понятие «афферентное поле», введённое П.К. Анохиным, раскрывает представление о том, что функциональная система, обладающая определённым комплексом афферентных импульсов, имеет значительную степень зрелости уже в период раннего онтогенеза, а для ряда систем – уже в эмбриональном периоде [4]. Наряду с тем афферентации, входящие в работу функциональной системы, не задействованные в процессе реализации той или иной психической деятельности, начинают сужаться и переходить в латентное состояние; при этом актуальным остаётся только небольшой круг действующих афферентаций [5].

Таким образом, в процессе онтогенетического развития функциональные системы претерпевают интенсивные изменения, в результате которых одни и те же задачи начинают реализовываться совершенно различными средствами, а выбор стратегий решения задач обуславливается факторами социального окружения ребёнка.

Принимая во внимание то, что окружающая социальная среда раннего детства – это прежде всего семья, необходимо знать, какие именно переменные семейной среды являются первостепенно значимыми в функциональном становлении ребёнка и каков характер их воздействия на ход развития. Произведённый нами анализ научных текстов позволяет констатировать, что из-

менчивость морфофункционального состояния головного мозга ребёнка имеет значимую взаимосвязь с социально-демографическими характеристиками семьи, в том числе с её неотъемлемой составляющей – социально-экономическим статусом [6, 7].

Рассматривая проблемы, связанные с социально-экономическим статусом семьи, в зарубежных исследованиях можно встретить две противоположенные стратегии его изучения. Первый подход под социально-экономическим статусом понимает совокупность нескольких взаимосвязанных факторов, объединяемых в общий индекс (образование, профессия родителей, материальное благополучие) [6]. Другая стратегия исследования представлена авторами [8], которые настаивают на том, что взаимосвязь между двумя этими переменными (доход и образование), не является жёстко детерминированной. Так, например, более высокий уровень образования ассоциируется с более благоприятными экономическими возможностями, в том числе через более высокий доход, более обширными социальными и психологическими ресурсами (выше социальная поддержка, выше уровень контроля). При всём этом известны примеры образованных, но относительно мало зарабатывающих людей; есть и обратные примеры – люди без образования, достигшие финансового благополучия. Следовательно, разные индикаторы социально-экономического статуса не взаимозаменяемы, поэтому возникает необходимость измерять отдельные компоненты социально-экономического статуса и отдельно оценивать вклад каждого из них – такой подход даёт более детальную картину социального положения конкретного индивида.

На наш взгляд, изучению влияния таких социально-демографических параметров семьи, как её материальный статус, на процесс развития высших психических функций, уделяется недостаточное внимание. Публикуемые данные рассматриваемой проблемы представлены в значительной степени в трудах зарубежных авторов; в российских исследованиях имеется определённый эмпирический дефицит. Важно отметить, что данная зависимость (экономического статуса и индивидуальных различий) носит не прямой, а опосредованный характер. В имеющихся литературных источниках отмечается, что семьи с различающимся материальным уровнем характеризуются специфическими средовыми условиями, что отражается на различных аспектах семейного функционирования и, как следствие, на процессе онтогенетического развития [9]. Определённая часть исследований [10, 11] указывает на неравный доступ к материальным и культурным ресурсам для стимуляции когнитивного развития детей, в том числе и через возможность приобретения разнообразных развивающих игр, книг, совместного проведения досуга (посещение театра, музея, библиотек, выставок, путешествий) и т. д. Кроме того, как отмечают некоторые авторы [12], между семьями с разным экономическим уровнем существуют значительные различия в возможностях дать своим детям длительное и качественное образование. Д.Н. Чернов [13] акцентирует внимание на том, что в случае,

если у родителей возникают сложности в осуществлении воспитательной и развивающей функций, они начинают «включать» в эти процессы такие социальные институты, как система дополнительного образования, кружки по интересам, музыкальные, художественные, спортивные школы, секции и т. д., что, по мнению автора, частично компенсирует недостаток родительского внимания.

Важным аспектом в развитии ребёнка является его языковое окружение. Процесс языковой социализации ребёнка происходит посредством естественного включения его в то сообщество, на котором говорит его ближайшее окружение. Таким образом, ориентируясь на стилевые предпочтения носителей языкового варианта (диалекта), он усваивает социальные эталоны и представления о желательных формах коммуникации [14]. Взаимосвязь между объёмом словаря ребёнка, сложностью грамматического оформления высказывания и различными компонентами социально-демографических параметров семьи, таких как доход, образование родителей, их профессия, качество ухода, была подтверждена эмпирическим материалом многих исследований [15, 16].

Цикл исследований посвящён изучению психологического климата семьи с разными экономическими условиями. Авторы отмечают, что эффект эмоциональной стабильности, чуткость к потребностям ребёнка могут быть обусловлены социальным положением родителей [17]. Так, например, был выявлен эффект эмоционально-психологического напряжения в семьях с низким уровнем дохода вследствие финансовой нестабильности, непостоянной трудовой занятости родителей, что в свою очередь оказывает влияние на качество родительского поведения [18]. В других исследованиях содержатся выводы о том, что низкий социально-экономический статус семьи связан с наличием хронического стресса и сопутствующей ему тревоги [19]. Исследователи пришли к выводам, что в критические периоды созревания мозга стрессогенные условия могут оказывать «программирующее» воздействие и приводить к необратимым и долговременным изменениям [20]. Так, стрессорная реакция, возникающая в ответ на проникновение в организм различных патогенов, приводит к эффекту «программирующего» воздействия на развитие мозга. В частности, выраженная стресс-реакция, возникшая вследствие введения детёнышам крыс бактериального липополисахарида, привела к существенным перестройкам в работе центральной нервной системы. Результатом такого стрессорного воздействия в раннем постнатальном периоде является проявление нарушений поведения у половозрелых особей [21]. К наиболее специфическим последствиям такого воздействия стресса у грызунов можно отнести нарушение стрессоустойчивости, проявления симптомов тревожности, угнетённого состояния, снижения когнитивной активности, расстройства процессов нейропластичности, которые лежат в основе обучения и формирования памяти [22, 23]. Авторы экстраполируют, что к подобного рода стрессорным воздействиям относятся нарушения родительской заботы о потомстве, включая материнскую де-

прессию, изменения структуры питания и эмоциональные потрясения [24].

Накоплены многочисленные данные, позволяющие говорить о сильной корреляции между антропометрическими показателями новорождённого и социально-экономическим положением матери [25]. По данным Ю.Е. Вельтищева [26], отставание антропометрических показателей новорождённых (низкий вес, маленький объём головы) значительно часто встречаются в семьях с недостаточно высоким социально-экономическим уровнем. Низкий вес при рождении имеет отдалённые эффекты на умственное и физическое развитие во всех последующих этапах онтогенеза. Например, в качестве таких следствий выделяются проблемы в формировании пространственных функций и функций программирования и контроля в школьном возрасте [27]. Мнения исследователей сходятся в одном – что не само низкое финансовое положение семьи приводит к ухудшению развития, а ряд сопутствующих тому обстоятельств.

Приведённый анализ источников изучаемой проблемы этим не ограничивается. Кроме того, существуют исследования, рассматривающие в качестве основных механизмов опосредованного воздействия материального благополучия семьи на морфофункциональное развитие детей количество времени, проведённого с ребёнком, и количество прочитанных книг, ценностные ориентации и установки, качество питания, условия проживания [28] и многое другое.

Несмотря на достаточно хорошо разработанную проблему объяснительных механизмов влияния рассматриваемых факторов на интеллектуальное, физическое развитие детей, их успеваемость в школе, исследований, посвящённых нейроркогнитивному развитию детей, в нашей стране ограничено мало. Важным является понимание того, что данная проблема носит междисциплинарный характер: индивидуальные различия детей в соотношении с материальным благополучием семьи признаются остро актуальной проблемой с точки зрения общей психологии, нейропсихологии индивидуальных различий, психофизиологии, педиатрии, социологических и экономических наук.

Таким образом, теоретический анализ проблемы позволил определить **цель исследования** – выявить системные закономерности соотношений индивидуальной изменчивости высших психических функций детей дошкольного возраста с материальным уровнем их семей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании применялись традиционные нейропсихологические пробы, разработанные А.Р. Лурией [29] и прошедшие адаптацию в лаборатории нейропсихологии факультета психологии МГУ им. М.В. Ломоносова. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием однофакторного дисперсионного анализа Analysis of Variance, с попарным множественным сравнением с поправкой Шеффе. Обработка дан-

ных производилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 26 (IBM Corp., США).

Было обследовано 180 детей дошкольного возраста, средний возраст – 6,5 лет. Нейропсихологическая диагностика осуществлялась индивидуально с каждым ребёнком. Длительность обследования составляла 55–70 минут.

Распределение детей по группам осуществлялось посредством стратегии стратометрического моделирования выборки – с помощью специально разработанной анкеты. Стратами выступали: материальный уровень семьи: высокий уровень дохода (более двух прожиточных минимумов на одного члена семьи) – 26 % семей; средний уровень дохода (от одного до двух прожиточных минимумов на одного члена семьи) – 35 % семей; низкий уровень дохода (менее одного прожиточного минимума на одного члена семьи) – 39 % семей.

Методика распределения семей (респондентов) по уровню доходов базируется на нормативном критерии. За основу принята классификация групп населения по доходам, разработанная экспертами Всероссийского центра уровня жизни: наименее обеспеченные (низкообеспеченные), обеспеченные ниже среднего уровня, среднеобеспеченные, высокообеспеченные [30]. В отличие от данной классификации, нами выделены три группы семей по уровню доходов – низкий, средний и высокий. Группа семей со средним уровнем дохода объединила семьи, обеспеченные ниже среднего уровня и среднеобеспеченные.

Критерием отнесения к определённой группе выступают социальные стандарты – прожиточный минимум, социально приемлемый (восстановительный) потребительский бюджет, потребительский бюджет среднего достатка и потребительский бюджет высокого достатка [30]. При отнесении семей к группе с низким уровнем дохода мы придерживаемся абсолютно монетарного подхода (малоимущими признаются домохозяйства со среднедушевыми денежными доходами ниже величины прожиточного минимума). В качестве порогового значения, разделяющего группу семей с низким и средним уровнем дохода, принята величина два прожиточных минимума, так как социально приемлемый (восстановительный) потребительский бюджет составляет не менее 2–2,5 прожиточных минимумов.

Все дети являлись воспитанниками муниципальных бюджетных дошкольных образовательных организаций. Критериями отбора испытуемых явились следующие факты: отсутствие диагностированных неврологических расстройств, церебрально-органической патологии, отклонений в развитии. Все они жили в полной семье, где были единственными детьми (42 %) или имели одного сиблинга (51 %), реже – двух сиблингов (7 %). Выборочная совокупность, выделенная с учётом стратификации материального статуса семьи, была уравновешена по полу детей (50 % мальчиков и, соответственно, 50 % девочек). У 47 % детей матери имеют высшее образование, у 36 % – среднее специальное, у 17 % – среднее. 31 % дошкольников воспитываются отцами с выс-

шим образованием, 26 % – со средним специальным, 42 % – со средним.

Анализ высших психических функций детей осуществлялся в соответствии с подходом, предложенным А.Р. Лурией [3], основанным на представлении о структурно-функциональной модели работы трёх блоков мозга с учётом межполушарной асимметрии. С этой целью в процессе обработки количественных показателей проб была произведена процедура подсчёта обобщённых (укрупнённых) показателей – нейропсихологических индексов, в которые вошли наиболее однозначно интерпретируемые параметры выполненных проб (всего 122 параметра).

Функциональные особенности серийной организации движений и речи, а также программирования, контроля и регуляции произвольных форм деятельности представлены в обобщённом показателе – индексе III блока мозга (передних отделов головного мозга). Данный показатель включает в себя количественную оценку выполнения проб: графомоторной координации, динамического праксиса рук, реципрокной координации, реакции выбора, ритмов по инструкции, слоговой структуры слов, пересказа текста (оценивались критерии программирования и грамматического оформления высказывания, а также смысловой адекватности высказывания).

Индекс функций II блока отражает состояние кинестетических функций (оральный и мануальный праксис), функций переработки зрительно-пространственной, зрительной и слуховой информации.

Поскольку II блок мозга (блок приёма, хранения и обработки информации, задних отделов коры головного мозга) функционально латерализован, то включает в себя два показателя – индекс переработки информации по левополушарному и по правополушарному типу.

Индекс функций левого полушария (левополушарный индекс) представлен количественными оценками проб выполнения орального праксиса, лексических компонентов оформления текста, праксиса позы пальцев правой руки, понимания сложных логико-грамматических конструкций, а также объёма слухоречевой памяти (кратковременной и долговременной).

Индекс функций правого полушария (правополушарный индекс) оценивался показателями выполнения проб праксиса позы пальцев левой руки, копирования стола, узнавания недорисованных изображений, объёма произвольной слухоречевой и зрительно-пространственной памяти.

Полученные значения индексов прошли процедуру стандартизации. Стандартизированные z-оценки подсчитывались по формуле: $z = (x - \mu) / \sigma$. Согласно представленной формуле, из значения индивидуального показателя по параметру вычиталось среднее значение по выборке для этого параметра, и полученный результат делился на стандартное отклонение. Соотношение этих показателей позволило получить нейропсихологические профили, отражающие функциональное состояние высших психических функций детей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представленные стандартизированные показатели позволяют увидеть, насколько и в какую (лучшую или худшую) сторону отклоняется индивидуальное значение индекса функций III или II блоков (левого или правого полушария) мозга дошкольников от среднегруппового значения (рис. 1).

Представленные значения индексов и их отклонения от среднегрупповых показателей указывают на неравномерность в развитии функций III блока мозга, а также левого полушария внутри популяции дошкольников в соотношении с материальным уровнем семьи. Наиболее устойчивые показатели представлены в индексах функций правого полушария.

Существенно снижены показатели функций у дошкольников из семей с низким уровнем дохода (индекс III блока и левого полушария), что может рассматриваться как проявление признака дефицита этих функций. Необходимо подчеркнуть, что относительное снижение

показателей свидетельствует не о фатальном нарушении тех или иных функций, а о признаках парциального дефицита и недостаточности их сформированности к уровню одновозрастной популяции.

Применение однофакторного дисперсионного анализа с попарным множественным сравнением с поправкой Шеффе показало следующие результаты, представленные в таблице 1.

Дошкольники из наиболее обеспеченных семей имеют самые высокие показатели индексов функций III блока мозга (различия со 2-й ($p = 0,046$) и 3-й ($p < 0,001$) группами) и левополушарных функций (различия с 3-й группой; $p < 0,001$). По сравнению с ними дошкольники из семей со средним уровнем дохода имеют равномерно устойчивые показатели всех функций, но при этом значения их индексов ниже, чем у более успешных в функциональном развитии детей. У дошкольников из семей низкого материального уровня в зоне отрицательных значений оказались индексы функций как передних отделов головного мозга (различия с 1-й и 2-й группами;

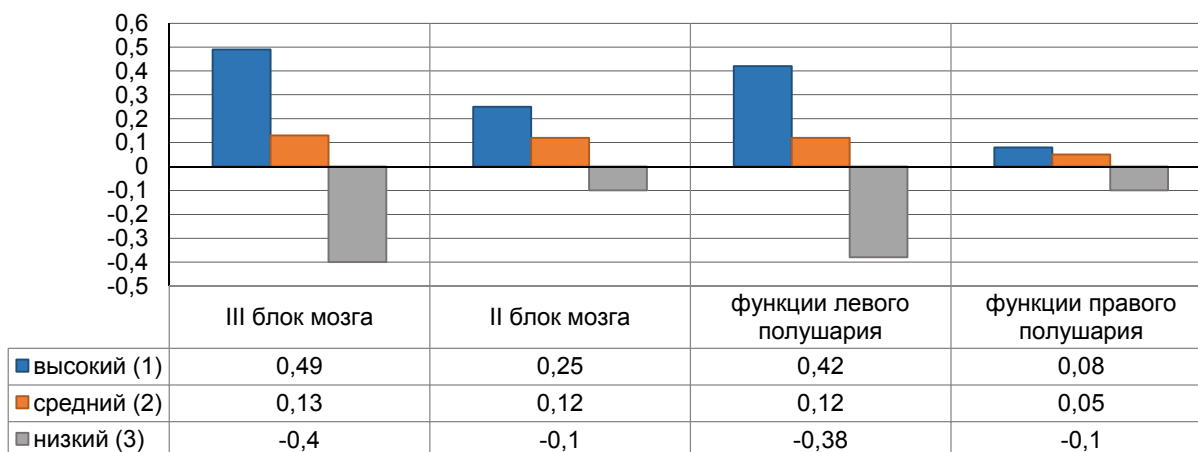


РИС. 1.

Стандартизированные средние значения индексов высших психических функций у дошкольников в соотношении с материальным уровнем семьи

FIG. 1.

Standardized average values of the indices of higher mental functions in preschool children in relation to the level of material prosperity of the family

ТАБЛИЦА 1

УРОВНИ РАЗЛИЧИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНДЕКСОВ ФУНКЦИЙ ДОШКОЛЬНИКОВ В СООТНОШЕНИИ С МАТЕРИАЛЬНЫМ УРОВНЕМ СЕМЬИ

TABLE 1

LEVELS OF DIFFERENCES IN THE INDICATORS OF THE FUNCTIONS OF PRESCHOOL CHILDREN IN RELATION TO THE LEVEL OF MATERIAL PROSPERITY OF THE FAMILY

Показатели	Материальный уровень (1 – высокий; 2 – средний; 3 – низкий)				
	Уровень различий			ANOVA	
	1–2	1–3	2–3	Sig	F
Индексы III блока мозга	0,046	< 0,001	< 0,001	< 0,001	15,57
Индексы II блока мозга	0,050	< 0,001	0,014	< 0,001	9,35
Индексы «левополушарных» отделов мозга	–	< 0,001	0,002	< 0,001	11,00
Индексы «правополушарных» отделов мозга	–	–	–	–	0,64

$p < 0,001$), так и функций левополушарных отделов (различия с 1-й группой; $p < 0,001$).

Полученные результаты свидетельствуют об индивидуальной неравномерности высших психических функций детей и требуют более дифференцированного анализа отдельных показателей высших психических функций, который позволит определить, за счёт чего увеличены или снижены общие показатели индексов блоков мозга, и получить нейропсихологические профили детей дошкольного возраста выделенных групп (рис. 2).

Представленные на рисунке 2 нейропсихологические профили и результаты дисперсионного анализа подтверждают значимый эффект фактора материального уровня семьи для показателей функций программирования и контроля ($p < 0,001$), серийной организации движений и речи ($p = 0,004$), зрительных ($p < 0,001$) и слуховых ($p < 0,001$) функций, а также кинестетического праксиса ($p = 0,053$). Менее дифференцируемые показатели индексов представлены в функциях переработки зрительно-пространственной информации.

Дети из семей с высоким уровнем дохода (1-я группа) имеют высокие показатели индексов функций: серийной организации движений (различия с 3-й группой; $p < 0,001$), произвольной регуляции деятельности и речи (различия со 2-й ($p = 0,008$) и 3-й ($p < 0,001$) группами), слуховых функций (различия со 2-й ($p = 0,011$) и 3-й ($p < 0,001$) группами), зрительных функций (различия с 3-й группой; $p < 0,001$). На фоне высоких показателей почти всех высших психических функций у дошкольников из наиболее обеспеченных семей проявляется снижение показателей функций переработки кинестетической информации (различия с 3-й группой; $p = 0,042$).

Анализ результатов нейропсихологических проб на исследование функций серийной организации движений и речи даёт следующую картину: дошкольники из семей с высоким уровнем дохода (1-я группа) демонстрируют преимущества в характеристиках динамиче-

ского праксиса – это проявляется в более качественной способности к автоматизации двигательного навыка ($p = 0,017$), меньшем количестве ошибок при воспроизведении двигательной программы и более быстром темпе вработываемости ($p = 0,004$). Высокие показатели отличают данную группу детей и в возможности серийной организации речи, а именно в грамматическом структурировании при пересказе текста ($p < 0,001$). У детей из семей среднего уровня дохода (2-я группа) наблюдаются некоторые трудности автоматизации двигательного навыка: в пробе на динамический праксис у них в большинстве случаев выполнение программы варьируется от отдельных серий – «пачками» – до плавной смены элементов программы (различия с 1-й группой; $p = 0,040$). Однако при выполнении программы они не допускают ошибок вовсе, или же встречаются единичные трудности, обусловленные нарушением последовательности движений. Возникающие сложности у детей данной нормы онтогенеза связаны и с грамматическим оформлением высказывания: в пересказе чаще всего, текст составлен достаточно однообразно, без использования сложных предложений или же с нарушением порядка слов (различия с 1-й группой; $p = 0,006$). Дети из семей низкого уровня дохода (3-я группа) менее результативно усваивают и автоматизируют двигательные навыки (различия со 2-й ($p = 0,040$) и 1-й ($p = 0,005$) группами) и имеют самые низкие показатели серийной организации речевого высказывания (различия со 2-й ($p = 0,006$) и 1-й ($p < 0,001$) группами), преимущественно обусловленные наличием единичных негрубых аграмматизмов или параграмматизмов.

Анализ проб на исследование функций программирования и контроля показал, что дети из семей с высоким материальным уровнем демонстрируют более высокие скоростные характеристики реакции выбора (различия с 3-й группой; $p < 0,001$). В целенаправленной деятельности, программированной речевой инструкцией,

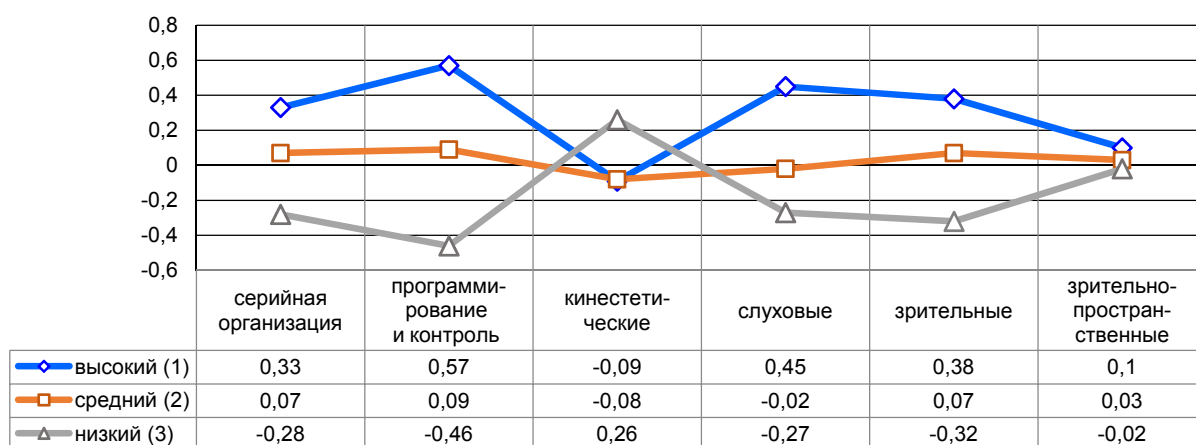


РИС. 2.

Индексы различных компонентов высших психических функций, связанных с функциями III и II блоков мозга, дошкольников из семей высокого (1), среднего (2) и низкого (3) уровня доходов

FIG. 2.

Indices of various components of the higher mental functions associated with the functions of blocks III and II of the brain in preschool children from families with high (1), middle (2) and low (3) income levels

они имеют наиболее высокую продуктивность (различия со 2-й ($p = 0,019$) и 3-й ($p = 0,001$) группами). Успешнее дети 1-й группы оказались и в построении смысловой программы высказывания ($p < 0,001$), они допускают меньше ошибок, обусловленных инертностью. Продуктивность актуализации свободных ассоциаций у них отличается большей результативностью (различия со 2-й ($p = 0,04$) и 3-й ($p = 0,04$) группами). У детей из семей среднего уровня дохода проявляется относительная слабость функций произвольной регуляции деятельности, связанная преимущественно с программированием речевого высказывания (различия с 1-й группой; $p = 0,001$) и актуализацией свободных ассоциаций (различия с 1-й группой; $p = 0,04$) при достаточно устойчиво высоких показателях в пробе на реакцию выбора. Выполнение всех проб на исследование функций произвольной регуляции деятельности и речи детьми из наименее обеспеченных семей указывает на недостаточную вовлечённость префронтальных механизмов внимания на предъявление стимулов (различия со 2-й ($p = 0,002$) и 1-й ($p = 0,001$) группами), а также в построении предложений и текста (различия со 2-й ($p = 0,004$) и 1-й ($p < 0,001$) группами).

Индивидуальные различия в состоянии кинестетического праксиса обусловлены более высокой продуктивностью выполнения поз пальцев левой рукой дошкольниками из семей с низким уровнем дохода (различия с 1-й группой; $p = 0,042$).

Слухоречевые функции у детей из максимально обеспеченных семей отличаются высоким объёмом произвольной (различия с 3-й группой; $p = 0,050$) и произвольной кратковременной памяти (различия с 3-й группой; $p = 0,001$), а также отсроченного воспроизведения и устойчивости к интерференции (различия с 3-й группой; $p < 0,001$). Дети из семей среднего уровня доходов по показателям объёма слухоречевой памяти близки к испытуемым из материально обеспеченных семей, однако ошибки (вербальные замены на основе семантической близости), указывающие на трудности левополушарной стратегии переработки информации, у них встречаются достаточно часто (различия с 1-й группой; $p = 0,039$). Ухудшение переработки слуховой информации у дошкольников из семей с низким уровнем дохода происходит за счёт снижения показателей памяти этой модальности (различия со 2-й ($p = 0,004$) и 1-й ($p = 0,001$) группами) и, кроме того, нарастания искажений слов при их воспроизведении (различия со 2-й и 1-й группами; $p < 0,001$), увеличения числа ошибок, связанных с вербальными заменами на основе семантической близости (различия с 1-й группой; $p = 0,032$).

Зрительные функции дошкольников из семей с высоким материальным уровнем семьи характеризуются преобладанием аналитической, левополушарной стратегии обработки зрительной информации, что хорошо прослеживается в продуктивности проб на опознание перечёркнутых (различия с 3-й группой; $p = 0,011$) и наложенных изображений (различия с 3-й группой; $p < 0,001$). У детей из семей среднего уровня доходов продуктивность узнавания перцептивно-сложных изображений

одинакова с таковой в группе дошкольников из максимально обеспеченных семей, но они чаще допускают вербально-перцептивные ошибки в виде забывания точных наименований и использования семантически близких слов (различия с 1-й группой; $p = 0,040$), что является показателем левополушарных трудностей. У дошкольников из наименее материально благоприятных семей возникают сложности, связанные с распознаванием как перечёркнутых (различия с 1-й группой; $p = 0,011$), так и наложенных изображений (различия с 1-й группой; $p < 0,001$). Кроме того, наблюдается нарастание ошибок вербально перцептивного характера (различия с 1-й группой; $p = 0,020$).

Показатели зрительно-пространственных функций у детей дошкольного возраста в целом имеют невысокие значения и не дифференцируют дошкольников по уровню их сформированности, однако некоторые компоненты этих функций (проекционные представления) у детей из семей с высоким уровнем имеют тенденцию к снижению. Поскольку дошкольный возраст не является сенситивным периодом для формирования этих функций, для детей этого возраста характерен низкий уровень их сформированности. Интенсивный скачок их развития следует ожидать в более позднем возрасте в процессе целенаправленного обучения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Говоря о полученных результатах в целом, необходимо отметить, что эмпирические данные нашего исследования дают основания полагать, что значительную долю средовой дисперсии (от 6 % до 23 %) индивидуальных различий в развитии структурных компонентов высших психических функций детей определяет фактор материального достатка семьи. Индивидуальная изменчивость психических функций дошкольников в соотношении с уровнем дохода семьи связана с предпосылками более ускоренного темпа развития одних функций, сопрягающегося с риском «ослабления» или «обкрадывания» других развивающихся функций или же со значительным снижением функциональных возможностей.

Наиболее динамичная перестройка функциональных систем происходит в сензитивные периоды развития и приводит к существенным изменениям психической составляющей онтогенеза. Каждый такой период развития ориентирован на решение определённых задач. Если в сензитивный период формирования тех или иных функций социум предлагает не соответствующие реальным предпосылкам развития ребёнка условия, то становление функциональных систем мозга может пойти по дисгармоничному пути развития. Так, более интенсивное и опережающее развитие одних функций может привести к усиленной дифференцировке мозга и «обкрадыванию» в развитии тех функций, которые находятся на стадии своего оптимального становления. В других случаях в силу недостаточности воздействия внешних социальных факторов происходит недоразвитие высших психических функций и сни-

жение темпа их формирования по отношению к среднепопуляционному уровню развития, что позволяет говорить о парциальном дефиците психических процессов.

По результатам нашего исследования наибольшей индивидуальной изменчивости в период дошкольного возраста в соотношении с материальным уровнем семьи подвержены функции с долгим периодом формирования – это функции III блока мозга, и функции, обеспечиваемые преимущественно левополушарными отделами головного мозга.

Наиболее интенсивный темп развития функций произвольной регуляции деятельности и серийной организации движений, обеспечиваемых работой передних отделов головного мозга, а также функций, обеспечиваемых левополушарной стратегией обработки информации (слухоречевые функции и опосредованные речью аналитические компоненты зрительного восприятия) с относительно изолированным отставанием двигательных функций и правополушарных компонентов переработки зрительно-пространственной информации наблюдается у дошкольников из семей высокого материального статуса. Очевидно, целенаправленное интенсивное речевое воздействие приводит к увеличению вербальных нагрузок на ребёнка, тем самым стимулируя развитие речевых зон мозга. По некоторым данным [31], классификационный способ, связанный преимущественно с работой левого полушария должного уровня развития достигает только к концу подросткового возраста, а структурный способ, осуществляемый правым полушарием, имеет определённую степень зрелости уже в период дошкольного возраста. Можно полагать, что ранняя интенсивная вербальная нагрузка создаёт предпосылки для активного развития функций левого полушария и «обкрадывает» правополушарные возможности, в том числе кинестетические функции и некоторые компоненты переработки зрительно-пространственной информации. Принимая во внимание, что зрительно-пространственные функции относятся к работе долгоформирующихся третичных отделов коры II блока мозга, в том числе и правого полушария, которые достигают своего оптимума в развитии в более старшем возрасте и тесно связаны с процессом обучения, важным представляются дальнейшие исследования динамики их развития, которые позволят прояснить отдалённые последствия более интенсивного темпа формирования функций, обеспечиваемых левым полушарием.

С понижением материального уровня семьи повышается риск «ослабления» большинства функциональных возможностей детей. У детей из семей с низким уровнем дохода с большой степенью вероятности можно прогнозировать дефицитарность функций программирования и контроля произвольных форм деятельности, серийной организации движений, в основном речи, а также ухудшение способности к переработке речеслуховой информации и некоторых опосредованных речью аналитических компонентов зрительного восприятия. Несмотря на то, что снижение материального уровня семьи сопровождается ослаблением вербальных функций и произвольной регуляции деятельности, оно положи-

тельно отражается на формировании кинестетического праксиса рук и некоторых аспектах зрительно-пространственных функций. Рассматривая данный вариант детской нормы, можно считать, что снижение функциональных возможностей передних и левополушарных отделов головного мозга отражает вариант парциального дефицита психической составляющей онтогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Любое общество характеризуется социально-экономическим неравенством, однако самой результативной общественной стратегией повышения качества жизни населения в любой стране будут инвестиции в развитие детей: чем в более ранний период детства будет сделан этот вклад, тем эффективнее будет социальная отдача через несколько лет.

Благодаря тому, что мозг в ранний период обладает высокой пластичностью и представляет собой открытую систему, способную к реструктуризации, дошкольный возраст является столь важным периодом для изучения системных закономерностей соотношений индивидуальной изменчивости высших психических функций с факторами семейной среды. Именно в дошкольном возрасте изменчивость по морфофункциональному развитию мозга достигает более 30 %, а затем происходит постепенное снижение «пластичности» мозга, и средовое влияние начинает неизбежно утрачивать свою актуальность [32]. Таким образом, коррекционные воздействия становятся менее эффективными. Следовательно, важно, чтобы ранний опыт отвечал потенциальным возможностям развития детей, а различающиеся социально-демографические характеристики семьи были учтены при построении учебно-воспитательного процесса.

Представленные концептуальные подходы, в рамках которых ведётся поиск связующих звеньев между социально-демографическими параметрами семьи и структурно-функциональной самоорганизацией высших психических функций, были дополнены эмпирическими данными нашего исследования, которые позволили уточнить, что фактор материального достатка семьи как непосредственно, факторно, так и опосредованно, кумулятивно, через систему проксимальных факторов, может вносить свой избирательный вклад в изменчивость показателей высших психических функций детей, что проявляется в более интенсивном формировании одних групп функций, и менее интенсивном – других, а также в выборе ведущей стратегии обработки информации, опирающейся на активность левого или правого полушария.

Завершая, отметим, что неравномерность в развитии структурно-функциональных компонентов высших психических функций детей имеет нормативный, а не патологический характер. Такая неравномерность несёт большой приспособительный эффект: для популяции в целом выгодно наличие у разных людей разных способностей. С другой стороны, переход к новому миропорядку и новому технологическому укладу, к новым

принципам социального отбора выдвигает высокие требования к психофизиологическим характеристикам детей. В этих условиях неравномерность развития высших психических функций может привести к тому, что слабые структурные звенья функциональной системы могут стать сдерживающим фактором дальнейшего развития и успешного обучения ребёнка. Полученные результаты нашего исследования могут быть полезны родителям, педагогам, специалистам дошкольных и других образовательных организаций. Анализ развития детей до школы, выявление условий их жизни даёт возможность определить различные группы детей, нуждающихся в помощи с первых дней школьной жизни.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Татур В.Ю. Наследственность воспитания или воспитание наследственности. В кн.: Субетто А.И. (ред.). *Ноосферное образование в евразийском пространстве. Ноосферное целовековедение как основа ноосферной парадигмы образования, воспитания и просвещения*. СПб.: Астерион; 2019; (9): 76-102. [Tatur VYu. The heredity of education or heredity education. In: Subetto AI (ed.). *Noosphere education in the Eurasian space. Noosphere Human studies as the basis of noosphere paradigm of education, upbringing and enlightenment*. Saint Petersburg: Asterion; 2019; (9):76-102. (In Russ.)].
2. Балова А.А. Обзор книги «Генетика психологического благополучия: роль наследственности и генетики в позитивной психологии». *Мониторинг общественного мнения: экономические и социальные перемены*. 2020; 1(155): 472-483. [Balova AA. Book review: "Genetics of psychological well-being: The role of heritability and genes in positive psychology". *Monitoring of Public Opinion: Economic and Social Changes Journal*. 2020; 1(155): 472-483. (In Russ.)]. doi: 10.14515/monitoring.2020.1.21
3. Лурия А.Р. *Основы нейропсихологии*. М.: Академия; 2002. [Luriya AR. *Fundamentals of neuropsychology*. Moscow: Akademiya; 2002. (In Russ.)].
4. Судаков К.В. Информационная грань системной организации психической деятельности головного мозга. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2013; 21(3): 28-36. [Sudakov KV. Gran information system of organization of mental brain. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2013; 21(3): 28-36. (In Russ.)].
5. Попов Л.М., Устин П.Н. Когнитивно-поведенческая концепция и возможности ее реализации в жизненной активности студентов. *Психологический журнал*. 2021; 42(1): 26-35. [Popov LM, Ustin PN. Cognitive-behavioral concept and possibilities of its implementation in students' life activity. *Psikhologicheskii zhurnal*. 2021; 42(1): 26-35. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S020595920013324-2
6. Brito NH, Piccolo LD, Noble KG. Associations between cortical thickness and neurocognitive skills during childhood vary by family socioeconomic factors. *Brain Cogn*. 2017; 116: 54-62. doi: 10.1016/j.bandc.2017.03.007
7. Rakesh D, Whittle S. Socioeconomic status and the developing brain – A systematic review of neuroimaging findings in youth. *Neurosci Biobehav Rev*. 2021; (130): 379-407. doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.08.027
8. Khanam R, Nghiem S. Family income and child cognitive and noncognitive development in Australia: Does money matter? *Demography*. 2016; 53(3): 597-621. doi: 10.1007/s13524-016-0466-x
9. Aikens NL, Barbarin O. Socioeconomic differences in reading trajectories: The contribution of family, neighborhood, and school contexts. *J Educ Psychol*. 2008; 100(2): 235-251. doi: 10.1037/0022-0663.100.2.235
10. Bradley RH, Corwyn RF. Socioeconomic status and child development. *Ann Rev Psychol*. 2002; 53(1): 371-399. doi: 10.1146/annurev.psych.53.100901.135233
11. Noble KG, Giebler MA. The neuroscience of socioeconomic inequality. *Curr Opin Behav Sci*. 2020; (36): 23-28. doi: 10.1016/j.cobeha.2020.05.007
12. Saitadze I, Lalayants M. Mechanisms that mitigate the effects of child poverty and improve children's cognitive and social-emotional development: A systematic review. *Child Family Soc Work*. 2021; 26(3): 289-308. doi: 10.1111/cfs.12809
13. Чернов Д.Н. Роль образовательного статуса матери в изменении генотип-средовых соотношений в структуре языковых характеристик. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2017; (3): 71-81. [Chernov DN. The role of maternal education in regulating genetic and environmental contributions to the development of child's language competencies. *Biomedical Journal of Pirogov University (Moscow, Russia)*. 2017; (3): 71-81. (In Russ.)].
14. Alper RM, Beiting M, Luo R, Jaen J, Peel M, Levi O, et al. Change the things you can: Modifiable parent characteristics predict high-quality early language interaction within socioeconomic status. *J Speech Lang Hear Res*. 2021; 64(6): 1992-2004. doi: 10.1044/2021_JSLHR-20-00412
15. Luo R, Masek LR, Alper RM, Hirsh-Pasek K. Maternal question use and child language outcomes: The moderating role of children's vocabulary skills and socioeconomic status. *Early Childhood Res Quarterly*. 2022; (59): 109-120. doi: 10.1016/J.ECRESQ.2021.11.007
16. Merz EC, Maskus EA, Melvin SA, He X, Noble KG. Socioeconomic disparities in language input are associated with children's language-related brain structure and reading skills. *Child Dev*. 2020; 91(3): 846-860. doi: 10.1111/cdev.13239
17. Lee H, Boyd R, Slack KS, Mather RS, Murray RK. Adverse childhood experiences, positive childhood experiences, and adult health. *J Society Soc Work Res*. 2022; 13(1): 441-461. doi: 10.1086/712410
18. Narciso I, Albuquerque S, Ribeiro MF, Ferreira LC, Fernandes M. Parental attributions – Mothers' voices in economically and socially disadvantaged contexts. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19(15): 9205. doi: 10.3390/ijerph19159205
19. Giollabhui NM, Hartman CA. Examining inflammation, health, stress and lifestyle variables linking low socioeconomic status with poorer cognitive functioning during adolescence. *Brain, Behav Immun*. 2022; (104): 1-5. doi: 10.1016/j.bbi.2022.04.020
20. Lucassen PJ, Pruessner J, Sousa N, Almeida OF, Van Dam AM, Rajkowska G, et al. Neuropathology of stress. *Acta Neuropathol*. 2014; 127(1): 109-135. doi: 10.1007/s00401-013-1223-5

21. Walker AK, Hawkins G, Sominsky L, Hodgson DM. Transgenerational transmission of anxiety induced by neonatal exposure to lipopolysaccharide: implications for male and female germ lines. *Psychoneuroendocrinology*. 2012; 37: 1320-1335. doi: 10.1016/j.psneuen.2012.01.005
22. Zhong H, Rong J, Yang Y, Liang M, Li Y, Zhou R. Neonatal inflammation via persistent TGF- β 1 downregulation decreases GABA_AR expression in basolateral amygdala leading to the imbalance of the local excitation-inhibition circuits and anxiety-like phenotype in adult mice. *Neurobiol Dis*. 2022; (169): 105745. doi: 10.1016/j.nbd.2022.105745
23. Перегуд Д.И., Фрейман С.В., Тишкина А.О., Сохраняева Л.С., Лазарева Н.А., Онуфриев М.В., и др. Влияние раннего провоспалительного стресса на экспрессию различных транскриптов BDNF в отделах мозга самцов крыс препубертатного возраста. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016; 20(2): 191-197. [Peregud DI, Freyman SV, Tishkina AO, Sokhranyeva LS, Lazareva NA, Onufriev MV, et al. Effect of early proinflammatory stress on the expression of different BDNF transcripts in brain sections of prepubertal male rats. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016; 20(2): 191-197. (In Russ.)]. doi: 10.18699/VJ16.149
24. Fitzgerald E, Hor K, Drake AJ. Maternal influences on fetal brain development: The role of nutrition, infection and stress, and the potential for intergenerational consequences. *Early Hum Dev*. 2020; 150: 105190. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2020.105190
25. Robertson CM, Watt MJ, Yasui Y. Changes in the prevalence of cerebral palsy for children born very prematurely within a population-based program over 30 years. *JAMA*. 2007; 297(24): 2733-2740. doi: 10.1001/jama.297.24.2733
26. Вельтищев Ю.Е. Рост ребенка: закономерность, нормальные вариации, соматотипы, нарушения и их коррекция. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2000; 79(1): 79-86. [Veltishchev YuE. Child growth: Regularity, normal variations, somatotypes, disorders and their correction. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2000; 79(1): 79-86. (In Russ.)].
27. Johnson SB, Raghunathan RS, Li M, Nair D, Matson PA. Moving up but not getting ahead: Family socioeconomic position in pregnancy, social mobility, and child cognitive development in the first seven years of life. *SSM Popul Health*. 2022; 17: 101064. doi: 10.1016/j.ssmph.2022.101064
28. Merz EC, Maskus EA, Melvin SA, He X, Noble KG. Socioeconomic disparities in language input are associated with children's language-related brain structure and reading skills. *Child Dev*. 2020; 91(3): 846-860. doi: 10.1111/cdev.13239
29. Лурия А.П. *Высшие корковые функции человека и их нарушения при локальных поражениях мозга*; 3-е изд. М.: Академический проект; 2000. [Luriya AP. *Higher human cortical functions and their disorders in local brain lesions*; 3rd edition. Moscow: Akademicheskii projekt; 2000. (In Russ.)].
30. Бобков В.Н., Колмаков И.Б. Выявление социальной структуры и неравенства распределения денежных доходов населения Российской Федерации. *Экономика региона*. 2017; 4(13): 971-984. [Bobkov VN, Kolmakov IB. Identifying the social structure and the inequality of monetary incomes of the population of the Russian Federation. *Economy of Region*. 2017; 4(13): 971-984. (In Russ.)].
31. Фарбер Д.А., Курганский А.В., Петренко Н.Е. Мозговая организация преднастройки к зрительному опознанию у детей предпубертатного возраста. *Физиология человека*. 2015; (41): 5-15. [Farber DA, Kurganskiy AV, Petrenko NE. Brain organization of presetting for visual recognition in pre-adolescent children. *Human Physiology*. 2015; (41): 5-15. (In Russ.)].
32. Дойдж Н. *Пластичность мозга. Потрясающие факты о том, как мысли способны менять структуру и функции нашего мозга*. М.: Эксмо; 2010. [Doidge N. *The plasticity of the brain. Amazing facts about how thoughts can change the structure and function of our brains*. Moscow: Eksmo; 2010. (In Russ.)].

Сведения об авторе

Неровных Марина Сергеевна – старший преподаватель кафедры психолого-педагогического образования, ФГБОУ ВО «Хакассский государственный университет им. Н.Ф. Катанова», e-mail: s.mariana@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5729-0019>

Information about the author

Marina S. Nerovnykh – Senior Lecturer at the Department of Psychological and Pedagogical Education, Katanov Khakass State University, e-mail: s.mariana@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5729-0019>

ОЦЕНКА ПОСЛЕДСТВИЙ COVID-19 У ПОДРОСТКОВ МЕТОДОМ АНКЕТИРОВАНИЯ

РЕЗЮМЕ

Черевикова И.А.,
Ткачук Е.А.,
Поляков В.М.,
Васильева Н.С.,
Прохорова Ж.В.,
Вотинева А.С.,
Мясищев Н.А.

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

Автор, ответственный за переписку:
Черевикова Ирина Александровна,
e-mail: gothic.craze@mail.ru

Обоснование. В России из всех выявленных случаев COVID-19 18 % приходится на население детского возраста. По данным ряда исследований, у подростков формируются долгосрочные клинические и психологические последствия после перенесённого заболевания. Следовательно, в настоящее время наиболее актуальным является тщательное изучение структуры и степени выраженности последствий COVID-19 у подростков.

Цель исследования. Оценить степень выраженности последствий COVID-19 у подростков в зависимости от временного периода после перенесённого заболевания.

Методы. Выборка включала 96 человек в возрасте 11–16 лет: 48 подростков, перенёвших COVID-19 (основная группа); 48 подростков, не болевших COVID-19 (контрольная группа). Основная группа разделена на 6 подгрупп в зависимости от временного периода после COVID-19. В качестве методов исследования использовались: клинический анамнез с использованием метода стандартизированного интервью; методика «Корректирующая проба» Б. Бурдона; шкала депрессии А. Бека (BDI-1A); шкала явной тревожности для подростков А.М. Прихожан.

Результаты. Рассмотрены клинические симптомы COVID-19 во время острой фазы течения заболевания. Установлено, что к наиболее распространённым симптомам относятся: повышенная температура тела, насморк, кашель, боль в горле, сильная усталость, нарушения обоняния, нарушения вкуса, головная боль (наиболее часто локализованная в лобной области). В качестве последствий COVID-19 у подростков рассмотрены клинические и психологические симптомы, характерные для постковидного синдрома. У большинства обследованных подростков выявлены следующие клинические симптомы COVID-19 после выписки: астения, нарушения обоняния и вкуса продолжительностью от 2 до 64 недель. В качестве психологических симптомов, для подростков характерны: сниженный объём внимания, пониженный уровень скорости переработки информации и концентрации внимания, а также наличие симптомов выраженной депрессии и высокой тревожности. В период второго месяца после COVID-19 выявлено наиболее неблагоприятное эмоциональное состояние.

Заключение. Полученные данные показали, что для постковидного синдрома у подростков характерно наличие астенического состояния, нарушения внимания, высокой тревожности, симптомов выраженной депрессии.

Ключевые слова: COVID-19, продолженный COVID, постковид, подростки

Статья поступила: 20.07.2023

Статья принята: 28.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Черевикова И.А., Ткачук Е.А., Поляков В.М., Васильева Н.С., Прохорова Ж.В., Вотинева А.С., Мясищев Н.А. Оценка последствий COVID-19 у подростков методом анкетирования. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 223-233. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.22

ASSESSMENT OF CONSEQUENCES OF COVID-19 IN ADOLESCENTS BY THE METHOD OF QUESTIONNAIRE

Cherevikova I.A.,
Tkachuk E.A.,
Polyakov V.M.,
Vasileva N.S.,
Prokhorova Zh.V.,
Votina A.S.,
Myasishchev N.A.

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

Corresponding author:
Irina A. Cherevikova,
e-mail: gothic.craze@mail.ru

ABSTRACT

Background. In Russia, of all detected cases of COVID-19, 18% were in the pediatric population. According to a number of studies, adolescents develop long-term clinical and psychological consequences after an illness. Therefore, at present, the most relevant is a thorough study of the structure and severity of consequences of COVID-19 in adolescents.

The aim of the research was to assess the severity of consequences of COVID-19 in adolescents depending on the time period after diseases.

Methods. The sample included 96 people aged 11–16 years: 48 adolescents who have undergone COVID-19 (main group); 48 adolescents who did not have COVID-19 (control group). The main group was divided into six subgroups, depending on the period after COVID-19. The following research methods were used: clinical history using a standardized interview method; "Correction test" method by B. Bourdon; Beck's Depression Inventory (BDI-1A); Adolescent's Form of Manifest Anxiety Scale by A.M. Prikhodzhan.

Results. Clinical symptoms of COVID-19 during the acute phase of the disease were considered in adolescents. It has been established that the most common symptoms include fever, runny nose, cough, sore throat, severe fatigue, impaired sense of smell, impaired taste, headache (most often localized in the frontal region). Clinical and psychological symptoms characteristic of post-COVID syndrome were considered as consequences of COVID-19 in adolescents. The majority of the examined adolescents showed the following clinical symptoms of COVID-19 after discharge: asthenia, disturbances of smell and taste; lasting from 2 to 64 weeks. As psychological symptoms, adolescents were characterized by reduced attention span, reduced speed of information processing and concentration, as well as the presence of symptoms of severe depression and high anxiety. During the second month after COVID-19, the most unfavorable emotional state was revealed in adolescents.

Conclusions. The data obtained made it possible to determine that post-COVID syndrome in adolescents is characterized by the presence of an asthenic condition, impaired attention, high anxiety, severe depressive symptoms.

Key words: COVID-19, long-COVID, post-COVID, adolescents

Received: 20.07.2023
Accepted: 28.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Cherevikova I.A., Tkachuk E.A., Polyakov V.M., Vasileva N.S., Prokhorova Zh.V., Votina A.S., Myasishchev N.A. Assessment of consequences of COVID-19 in adolescents by the method of questionnaire. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 223-233. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.22

ОБОСНОВАНИЕ

В России начиная с 2020 г. и по настоящее время фиксируются случаи заражения COVID-19 среди населения. Так, по данным официальной статистики, с начала пандемии в России выявлено более 18 млн случаев заражения COVID-19. При этом 18 % диагностированных случаев заражения COVID-19 приходится на население детского возраста, из которых 6 % – дети дошкольного возраста, 12 % – дети школьного возраста. Отметим, что в настоящее время наблюдается снижение уровня распространения COVID-19 среди населения, что позволило снять ограничительные меры, принятые ранее (например, масочный режим). Однако вместе с тем последствия этого заболевания среди населения до сих пор дают о себе знать. Это связано с тем, что COVID-19, в отличие от «классических» острых респираторных вирусных инфекций, характеризуется особенностями течения и осложнениями, которые могут затрагивать почти все органы и системы человека [1–3]. Так, Национальным институтом здравоохранения и совершенствования медицинской помощи Великобритании (NICE, National Institute for Health and Care Excellence) была предложена классификация периодов течения COVID-19, согласно которой выделяют: (1) острый период, когда признаки и симптомы болезни сохраняются не более 4 недель (диагноз снимается при получении отрицательного ПЦР-теста на носительство SARS-CoV-2); (2) продолжительное течение (long-COVID) – сохраняющаяся симптоматика болезни в течение 1–3 месяцев; (3) постковидный синдром (post-COVID) – когда признаки и симптомы, которые развиваются во время и/или после болезни, длятся свыше 3 месяцев и не объясняются альтернативным диагнозом [4]. Эти симптомы способны меняться со временем, исчезать и вновь возникать, затрагивая многие системы организма [5–7]. При этом исследователи отмечают, что даже те люди, которые переболели COVID-19 в лёгкой форме, не застрахованы от неблагоприятных последствий [5, 8].

Согласно данным ряда исследований, к симптомам, возникшим в остром периоде протекания COVID-19, относятся: повышенная температура тела, насморк, кашель, боль в горле, желудочно-кишечные нарушения, конъюнктивит, головная боль, сильная усталость, нарушения сна, нарушения обоняния и вкуса [6, 9–11]. При этом наиболее яркими симптомами острого периода COVID-19 являлись различные нарушения обоняния и вкуса, а их распространённость достигала 73–98 % [10–12]. Продолжительность данных нарушений, как правило, составляет не более 10–20 дней, однако распространены случаи более длительной потери обоняния и вкуса – более 60 дней [13], входящие в структуру так называемых «long-COVID» и «post-COVID» [14].

Также выделяют ряд клинических и психологических симптомов, характерных для продолжительного (long-COVID) и постковидного периода течения заболевания. В настоящее время симптоматика данных периодов течения COVID-19 объединена в одну нозологию – постковидный синдром. Диагноз «постковид-

ный синдром» внесён в Международный классификатор болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) под кодом U09.9 «Состояние после COVID-19 неуточнённое», включающее также постковидное состояние. При этом под постковидным синдромом понимают комплекс симптомов, возникших во время и/или после болезни, которые сохраняются свыше 3 месяцев и не объясняются альтернативным диагнозом [15, 16]. По данным исследования, проведённого в Волгоградской области, распространённость постковидного синдрома среди переболевших подростков составляет 25 %, симптомы которого сохраняются на протяжении 5 и более месяцев [17]. При этом различные симптомы постковидного синдрома проявляются с различной частотой и могут варьироваться. Так, наиболее распространёнными клиническими и психологическими симптомами постковидного синдрома у подростков являются: головная боль (3–80 %), боли в животе (1–76 %), нарушение вкуса и обоняния (3–74 %), нарушение сна (2–63 %), утомляемость (3–87 %), депрессивное состояние (43–87 %), высокая тревожность (41–84 %), сниженная концентрация внимания (2–81 %) [8, 18]. Вместе с тем продолжительность симптомов имеет индивидуальную выраженность. Так, по данным N.R. Magson и соавт. [19], у подростков на протяжении от 4 до 12 недель после острой фазы COVID-19 фиксируются следующие симптомы: головная боль, усталость, нарушения сна, трудности с концентрацией внимания. Отличные от предыдущей работы результаты получены в исследовании Q. Nap и соавт. [20]. По данным авторов, у 8591 пациента на протяжении не менее 1 года сохраняются такие симптомы, как утомляемость/слабость (28 %), одышка (18 %), артралгия (26 %), депрессия (23 %), тревога (22 %), нарушение памяти (19 %), снижение концентрации внимания (18 %) и бессонница (12 %) [20].

Несмотря на значительный вклад указанных авторов, проблема выявления и изучения последствий COVID-19 у подростков остаётся не до конца разрешённой. В связи с этим **целью данного исследования** стало оценить степень выраженности последствий COVID-19 у подростков в зависимости от временного периода после перенесённого заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании, проведённом с ноября 2021 по июнь 2023 г., приняли участие подростки из числа пациентов Клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск), удовлетворяющих критериям включения. Критерии включения в исследование: возраст 11–16 лет; наличие информированного согласия законного представителя подростка об участии в исследовании. Критерии исключения из исследования: несоответствие критериям включения; наличие коморбидного заболевания (астма, артериальная гипертензия и др.); наличие нарушений психического развития (задержка психического развития, расстройство ау-

тистического спектра, детский церебральный паралич и т. п.); отказ подростка или его законного представителя от участия в исследовании.

Проведённое пилотное исследование носило проспективный нерандомизированный характер по типу «случай-контроль». Выборку исследования составили 96 подростков: 18 (18,7 %) мальчиков и 78 (81,3 %) девочек в возрасте 11–16 лет (средний возраст – $14,6 \pm 1,6$ года). Все участники исследования были разделены на две группы – основную и контрольную. Критерии включения в основную группу: наличие в анамнезе положительного ПЦР-теста на носительство SARS-CoV-2 и признаков лёгкой или среднетяжёлой форм протекания COVID-19. Критерии включения в контрольную группу: отсутствие в анамнезе положительного ПЦР-теста на носительство SARS-CoV-2 и признаков лёгкой или среднетяжёлой форм протекания COVID-19. С целью оценки степени выраженности последствий COVID-19 у подростков в зависимости от временного периода после перенесённого заболевания основная группа была разделена на шесть подгрупп: (1) один месяц после COVID-19; (2) два месяца после COVID-19; (3) три месяца после COVID-19; (4) четыре месяца после COVID-19; (5) от полугода до года после COVID-19; (6) больше года после COVID-19. В таблице 1 представлена общая характеристика исследуемых групп подростков. При сравнении по половозрастным характеристикам основная и контрольная группы исследования были сопоставимы.

Всем респондентам проведено обследование с применением следующих методов: клинический анамнез с использованием метода стандартизированного интервью; методика «Корректирующая проба» Б. Бурдона [21]; шкала депрессии А. Бека (BDI-1A, Beck Depression Inventory) в адаптации Н.В. Тарабриной [22]; шкала явной тревожности для подростков А.М. Прихожан [23].

Клинический анамнез с использованием метода стандартизированного интервью включал в себя сбор

информации анамнестического характера о респондентах (пол, возраст, наличие случаев перенесённого COVID-19 в семье, особенности течения острой фазы COVID-19, особенности состояния после снятия диагноза COVID-19, наличие стрессовых переживаний на момент обследования).

Для оценки свойств внимания респондентов использовалась методика «Корректирующая проба» Б. Бурдона [21]. Обследование проводилось с помощью специальных бланков с рядами расположенных в случайном порядке букв. Каждый респондент просматривал ряд букв и вычёркивал определённые, указанные в инструкции буквы в течение 7 минут. По прошествии каждой минуты респондент ставил пометку в месте, где держал карандаш/ручку. На основании полученных результатов выполнения методики определялись следующие показатели: объём внимания, концентрация внимания, точность и скорость.

Показатель «объём внимания» соответствовал общему количеству просмотренных респондентом букв за 7 минут.

Для определения показателя «концентрация внимания» (P) сначала подсчитывался показатель «концентрация внимания за 1 минуту» для каждой из 7 минут по формуле:

$$P = K \times Q,$$

где: P – концентрация внимания за 1 минуту; K – точность за 1 минуту; Q – количество просмотренных букв за 1 минуту.

Затем рассчитывался показатель «концентрация внимания» (P_t) по формуле:

$$P_t = (P_1 + P_2 + P_3 + P_4 + P_5 + P_6 + P_7) / 7,$$

где: $P(1-7)$ – концентрация за каждую отдельную минуту.

Для определения показателя «точность» сначала подсчитывался показатель «точность за 1 минуту» (K) для каждой из 7 минут по формуле:

$$K = (n - x) / n,$$

ТАБЛИЦА 1
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП ПОДРОСТКОВ

Группы	Возраст (годы), $M \pm SD$	Пол, % (n)		Всего, % (n)
		мальчики	девочки	
Основная	$14,6 \pm 1,6$	18,7 ($n = 9$)	81,3 ($n = 39$)	100,0 ($n = 48$)
1-я подгруппа	$14,7 \pm 0,1$	14,3 ($n = 1$)	85,7 ($n = 6$)	14,6 ($n = 7$)
2-я подгруппа	$15,2 \pm 0,6$	20,0 ($n = 1$)	80,0 ($n = 4$)	10,4 ($n = 5$)
3-я подгруппа	$14,7 \pm 0,3$	14,3 ($n = 1$)	85,7 ($n = 6$)	14,6 ($n = 7$)
4-я подгруппа	$14,4 \pm 0,1$	37,5 ($n = 3$)	62,5 ($n = 5$)	16,7 ($n = 8$)
5-я подгруппа	$14,5 \pm 0,3$	8,4 ($n = 1$)	91,6 ($n = 11$)	25,0 ($n = 12$)
6-я подгруппа	$14,4 \pm 0,4$	22,2 ($n = 2$)	77,8 ($n = 7$)	18,7 ($n = 9$)
Контрольная	$14,6 \pm 1,6$	18,7 ($n = 9$)	81,3 ($n = 39$)	100,0 ($n = 48$)
Всего	$14,6 \pm 1,6$	18,7 ($n = 18$)	81,3 ($n = 78$)	100,0 ($n = 96$)

TABLE 1
GENERAL CHARACTERISTICS OF THE STUDIED GROUPS OF ADOLESCENTS

где: n – количество букв для вычёркивания за 1 минуту;
 x – количество ошибок за 1 минуту.

Затем рассчитывался показатель «точность» (Kp) по формуле:

$$Kp = (K1 + K2 + K3 + K4 + K5 + K6 + K7) / 7,$$

где: $K(1-7)$ – точность за каждую отдельную минуту.

Для определения показателя «скорость» (S) использовалась формула:

$$S = (0,5936 \times Qt - 2,807 \times xn) / t,$$

где: Qt – общее количество просмотренных букв за 7 минут; xn – общее количество ошибок за 7 минут; 0,5936 – средний объём на одну букву; 2,807 – потеря информации на одну пропущенную букву; t – общее время выполнения методики (в секундах).

Для оценки наличия симптомов депрессии у подростков применялась Шкала депрессии Бека (BDI-1A), разработанная А. Беком в 1978 г. и адаптированная Н.В. Тарабриной в 2001 году [22]. Шкала содержит 13 групп утверждений, соответствующих группам симптомов депрессии. Каждый пункт шкалы оценивается от 0 до 3 баллов в соответствии с нарастанием тяжести симптомов. Так, итоговый результат по методике от 0 до 9 баллов свидетельствует об отсутствии симптомов депрессии; от 10 до 15 баллов – о наличии симптомов лёгкой депрессии (субдепрессии); от 16 до 19 баллов – о наличии симптомов умеренной депрессии; более 20 баллов – о наличии симптомов выраженной депрессии [23].

Шкала явной тревожности для подростков А.М. Прихожан [24] использовалась для выявления тревожности как относительно устойчивого личностного образования у подростков. Шкала, разработанная А.М. Прихожан на основе взрослого и детского вариантов шкалы явной тревожности (Дж. Тейлор, 1951, 1953; А. Кастенада, Б.Р. МакКандлесс, Д.С. Палермо, 1956), содержит 65 пунктов. Анализ ответов респондента позволяет подсчитать «сырые» баллы по шкале «тревожность». Затем «сырые» баллы переводятся в шкальную оценку (стены) с помощью сопоставления данных испытуемого с нормативными показателями группы подростков соответствующего возраста и пола. На основании полученной шкальной оценки определялся уровень выраженности тревожности респондента. Так, 1–2 стена указывают на наличие низкого уровня тревожности; 3–6 стенов – на нормальный уровень тревожности; 7–8 стенов – на несколько повышенную тревожность; 9 стенов – на высокую тревожность; 10 стенов – на очень высокую тревожность.

Протокол исследования был разработан в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США). Размер выборки предварительно не рассчитывался. Тест Шапиро – Уилка использовался для проверки нормальности распределения исследуемых показателей. Для описания количественных данных использовались показатели среднего арифметического и стандартного отклонения в формате

$M \pm SD$. При анализе межгрупповых различий использовали U-критерий Манна – Уитни. Различия в процентных или относительных величинах оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Критической величиной уровня статистической значимости считался $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам проведённого клинического анамнеза болезни установлена частота и длительность клинических симптомов COVID-19 у подростков во время течения острого периода заболевания (табл. 2). Так, острый период течения COVID-19 у подростков составлял в среднем $17 \pm 8,3$ суток (от 1 до 38 дней).

Как следует из таблицы 2, более половины респондентов отмечали у себя следующие клинические симптомы: повышенная температура тела (85 %), насморк (67 %), кашель (56 %), боль в горле (56 %), сильная усталость (71 %), нарушения обоняния (58 %), нарушения вкуса (54 %), головная боль (60 %) (наиболее часто локализованная в лобной области). Реже встречались следующие клинические симптомы COVID-19: желудочно-кишечные нарушения (15 %), конъюнктивит (8 %), нарушения сна (29 %) (наиболее часто связанные с трудностью засыпания).

По результатам проведённого клинического анамнеза болезни установлены частота и длительность клинических симптомов COVID-19 у подростков после снятия диагноза (во время течения постковидного синдрома) (табл. 3). Так, у 77 % подростков выявлена клиническая симптоматика COVID-19 после снятия диагноза продолжительностью от 0,5 до 64 недель (в среднем $10,1 \pm 14,6$ недели).

Как следует из таблицы 3, наиболее распространёнными клиническими симптомами COVID-19 после снятия диагноза являются: астения, нарушения обоняния и вкуса. Вместе с тем такие симптомы, как головная боль, ломота в суставах, насморк, кашель, повышенная температура тела, головокружение, тошнота, диарея, сильная боль в груди, сниженный аппетит, встречались редко, а их продолжительность составляла от 0,5 до 28 недель после COVID-19.

Анализ выраженности тревожности у подростков в зависимости от временного периода после COVID-19 представлен на рисунке 1.

Как следует из рисунка 1, высокая тревожность (высокий и очень высокий уровни) была выявлена у подростков в периоды от 1 до 3 месяцев и от полугода и более 12 месяцев после перенесённого COVID-19. При этом в период второго месяца после перенесённого заболевания большинство подростков характеризовались высокой тревожностью. Вместе с тем обнаруженные различия значений показателей выраженности тревожности респондентов в зависимости от временного периода после COVID-19 статистически не значимы ($p > 0,05$; χ^2 Пирсона).

Анализ выраженности симптомов депрессии у подростков после COVID-19 представлен на рисунке 2.

ТАБЛИЦА 2
ЧАСТОТА И ДЛИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ COVID-19 У ПОДРОСТКОВ

TABLE 2
FREQUENCY AND DURATION OF CLINICAL SYMPTOMS OF COVID-19 IN ADOLESCENTS

Клинические симптомы	Частота выявления, n (%)	Длительность от начала заболевания (сутки), M ± SD	Длительность (сутки), min-max
Повышенная температура тела	41 (85 %)	8,7 ± 4,7	1–21
Сильная усталость	34 (71 %)	19 ± 6,9	7–38
Насморк	32 (67 %)	6 ± 4,3	1–21
Нарушения обоняния	28 (58 %)	19 ± 6,9	7–38
Головная боль, из них:	29 (60 %)		
височная область	3 (10 %)		
затылочная область	3 (10 %)		
лобная область	12 (42 %)	19 ± 6,9	7–38
лобная и теменная область	2 (7 %)		
лобно-височная область	2 (7 %)		
вся голова	7 (24 %)		
Кашель	27 (56 %)	6 ± 4,3	1–21
Нарушения вкуса	26 (54 %)	19 ± 6,9	7–38
Боль в горле	27 (56 %)	6 ± 4,3	1–21
Нарушения сна:	14 (29 %)		
сложно заснуть	10 (21 %)		
частые пробуждения	7 (15 %)	19 ± 6,9	7–38
кошмары	3 (6 %)		
сложно проснуться	6 (13 %)		
Желудочно-кишечные нарушения	7 (15 %)	6 ± 4,3	1–21
Конъюнктивит	4 (8%)	6 ± 4,3	1–21
Общий период заболевания	48 (100%)	17 ± 8,3	1–38

ТАБЛИЦА 3
ЧАСТОТА И ДЛИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ COVID-19 У ПОДРОСТКОВ ПОСЛЕ СНЯТИЯ ДИАГНОЗА

TABLE 3
FREQUENCY AND DURATION OF CLINICAL SYMPTOMS OF COVID-19 IN ADOLESCENTS AFTER DIAGNOSIS WITHDRAWAL

Клинические симптомы	Частота выявления, n (%)	Длительность после выписки (нед.), M ± SD	Длительность (нед.), min-max
Ломота в суставах	2 (4 %)	1,8 ± 0,4	1,5 – 2,0
Насморк	1 (2 %)	0,5 ± 0,0	0,5 – 0,5
Повышенная температура тела (37 °C)	3 (6 %)	13,8 ± 13,3	1,5 – 28,0
Кашель	1 (2 %)	1,0 ± 0,0	1,0 – 1,0
Диарея	1 (2 %)	1,0 ± 0,0	1,0 – 1,0
Сильная боль в груди	1 (2 %)	1,0 ± 0,0	1,0 – 1,0
Сниженный аппетит	2 (4 %)	26,0 ± 2,8	24,0 – 28,0
Тошнота	2 (4 %)	2,5 ± 1,3	1,0 – 4,0
Головокружение	3 (6 %)	5,0 ± 4,6	2,0 – 12,0
Головная боль	2 (4 %)	5,0 ± 4,8	1,0 – 12,0
Астения	15 (31 %)	14,0 ± 12,1	3,0 – 64,0
Нарушения вкуса	16 (33 %)	11,7 ± 10,5	2,0 – 56,0
Нарушения обоняния	17 (36 %)	14,6 ± 10,3	2,0 – 64,0
Общий период постковидного синдрома	37 (77 %)	10,1 ± 14,6	0,5 – 64,0

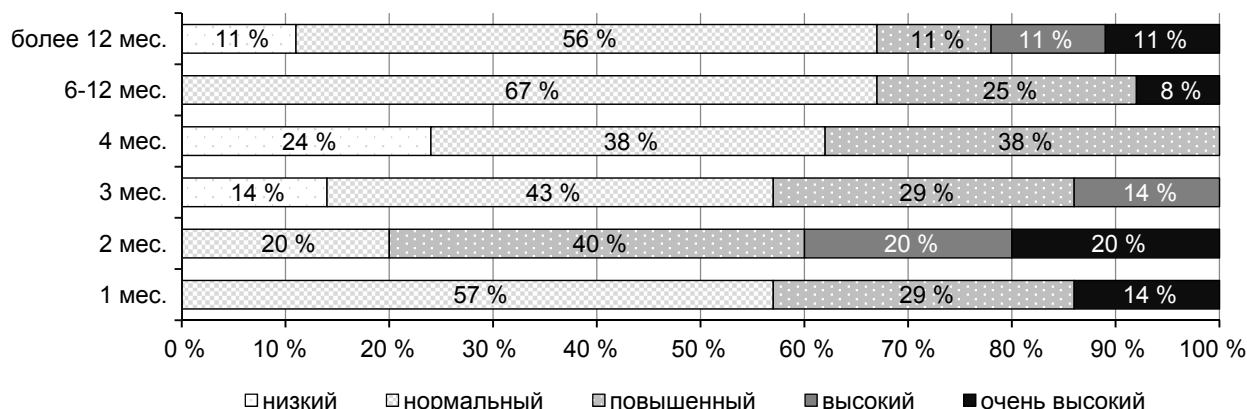


РИС. 1.
Уровень тревожности у подростков в различные периоды после COVID-19

FIG. 1.
Anxiety level in adolescents in different periods after COVID-19

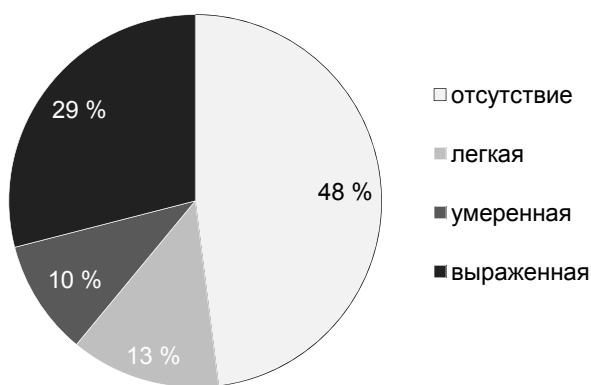


РИС. 2.
Степень выраженности симптомов депрессии у подростков, перенесших COVID-19

FIG. 2.
The severity of depressive symptoms in adolescents after COVID-19

Как следует из рисунка 2, у большинства подростков (52 %) были выявлены симптомы депрессии после пе-

ренесенного COVID-19. Так, у 29 % обследованных подростков выявлены симптомы выраженной депрессии; у 10 % – симптомы умеренной депрессии; у 13 % – симптомы лёгкой депрессии.

Анализ выраженности симптомов депрессии у подростков в зависимости от временного периода после COVID-19 представлен на рисунке 3.

Как следует из рисунка 3, у большинства подростков (60 %) симптомы выраженной депрессии фиксировались в период 2 месяца после перенесённого COVID-19. Симптомы умеренной депрессии выявлены: у 29 % подростков в период первого месяца после перенесённого COVID-19; у 12 % подростков – в период 4 месяцев после перенесённого COVID-19; у 8 % подростков – в период от 6 месяцев до 1 года после перенесённого COVID-19; у 11 % подростков – в период от 1 года и более после перенесённого COVID-19. Симптомы лёгкой депрессии выявлены: у 14 % подростков в период 1 месяца после перенесённого COVID-19; у 40 % подростков – в период 2 месяцев после перенесённого COVID-19; у 12 % подростков – в период 4 месяцев после перенесённого COVID-19; у 17 % под-

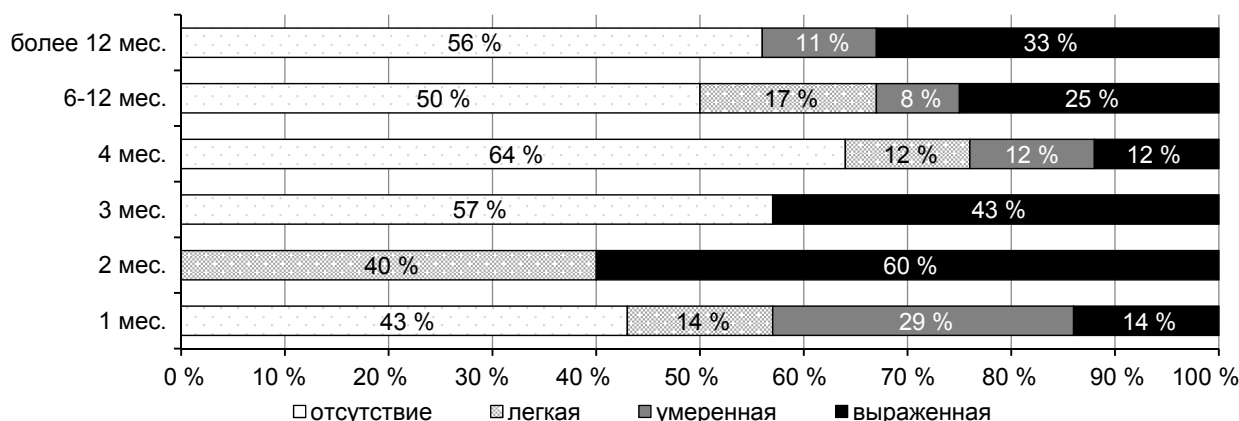


РИС. 3.
Степень выраженности симптомов депрессии у подростков в различные периоды после COVID-19

FIG. 3.
The severity of depressive symptoms in adolescents in different periods after COVID-19

ТАБЛИЦА 4
ОСОБЕННОСТИ ВНИМАНИЯ ПОДРОСТКОВ ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУПП

Показатель	Основная группа, M ± SD	Контрольная группа, M ± SD	Уровень статистической значимости, p
Объём внимания	1060,40 ± 240,27	1311,90 ± 354,73	0,026*
Концентрация внимания	138,28 ± 29,73	164,90 ± 41,84	0,042*
Точность	0,92 ± 0,07	0,87 ± 0,08	0,117
Скорость	1,34 ± 0,29	1,63 ± 0,43	0,038*

Примечание. * – различия статистически значимы по U-критерию Манна – Уитни.

TABLE 4
FEATURES OF THE ATTENTION OF ADOLESCENTS OF THE MAIN AND CONTROL GROUPS

рошков – в период от 6 месяцев до 1 года после перенесённого COVID-19. При этом обнаруженные различия являются статистически не значимыми ($p > 0,05$; χ^2 Пирсона).

С целью выявления особенностей последствий COVID-19 у подростков проведён анализ свойств внимания, наличия симптомов депрессии и уровня тревожности у подростков основной и контрольной групп. Характеристики свойств внимания у подростков основной и контрольной групп представлены в таблице 4.

Как следует из таблицы 4, у подростков, перенёвших COVID-19 (основная группа), выявлен сниженный объём внимания, пониженный уровень скорости переработки информации и концентрации внимания. Между респондентами обеих групп статистически значимые различия были выявлены по уровню объёма внимания, концентрации внимания и скорости переработки информации ($p \leq 0,05$).

На рисунке 4 представлены средние значения показателей выраженности симптомов депрессии и тревожности у подростков основной и контрольной групп.

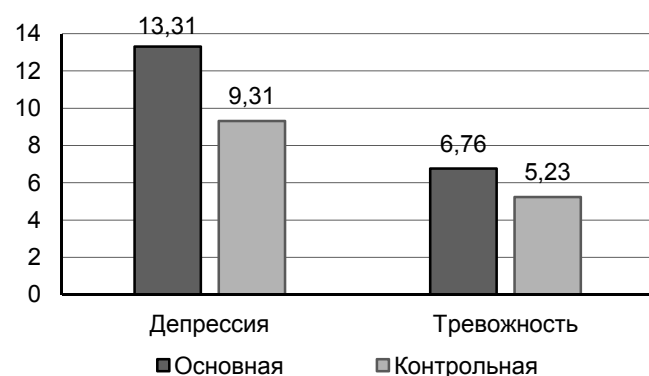


РИС. 4.
Выраженность симптомов депрессии и тревожности у подростков основной и контрольной групп

FIG. 4.
Severity of depression and anxiety symptoms in adolescents of the main and control groups

При оценке выраженности симптомов депрессии и тревожности в группе респондентов, перенёвших

COVID-19, были выявлены более высокие уровни депрессии ($p = 0,002$) и тревожности ($p = 0,033$) (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что к клиническим симптомам COVID-19, характерным для подростков во время течения острого периода заболевания, можно отнести следующие: повышенная температура тела (85 %), насморк (67 %), кашель (56 %), боль в горле (56 %), сильная усталость (71 %), нарушения обоняния (58 %), нарушения вкуса (54 %), головная боль (60 %) (наиболее часто локализованная в лобной области). Полученные данные соотносятся с результатами исследования A. Nalbandian и соавт., которые выявляли схожую частоту встречаемости клинической симптоматики COVID-19 у подростков во время течения острого периода заболевания [9].

В отличие от данных исследования, проведённого в Волгоградской области [17], установлены большая распространённость и длительность клинических симптомов COVID-19 после снятия диагноза. Распространённость данных симптомов среди переболевших подростков, по нашим данным, составляет 77 %, а их продолжительность варьирует от 2 до 64 недель. Мы предполагаем, что это может быть связано, во-первых, с региональными особенностями охвата ПЦР-тестирования на носительство SARS-CoV-2; во-вторых, с тем, что в данном исследовании не проводился ретроспективный анализ данных амбулаторных карт и историй болезни пациентов, а использовалась информация об имеющихся клинических симптомах COVID-19 во время болезни и после выписки, предоставленных самими респондентами в ходе устного опроса.

Установлено, что наиболее распространёнными клиническими симптомами COVID-19 после выписки являются: астения (31 %), нарушения обоняния (36 %) и нарушения вкуса (33 %). Это подтверждается данными исследований К.И. Усова [8] и А.М. Bogariu и соавт. [18], по данным которых, у подростков в постковидный период наблюдаются: от 3 до 87 % – утомляемость; от 3 до 74 % – нарушение вкуса и обоняния. При этом, по нашим данным, большинство респондентов отмечали искажение

вкуса мясных и молочных продуктов («тухлое», «невкусное»), что привело к полному исключению их из рациона вплоть до купирования симптома.

Анализ выраженности тревожности и симптомов депрессии у подростков в зависимости от временного периода после COVID-19 позволил выделить следующие тенденции: 1) не менее чем у 15 % обследованных подростков выявлена высокая тревожность в периоды от 1 до 3 месяцев и от 1 года и более после COVID-19; 2) у большинства обследованных подростков (52 %) выявлены симптомы депрессии после перенесённого COVID-19; 3) симптомы выраженной депрессии выявлены у подростков во всех изучаемых периодах после COVID-19; 4) в период второго месяца после перенесённого COVID-19 выявлено наиболее неблагоприятное эмоциональное состояние у подростков. Вместе с тем статистический анализ обнаруженных различий значений показателей выраженности тревожности и симптомов депрессии респондентов данных групп не показал статистически значимых различий. Это может быть связано с тем, что перенесённая подростками болезнь COVID-19 может вызывать изменения в эмоциональной сфере на более глубинном уровне, затрагивая вопросы самоотношения, восприятия окружающего мира и общей стрессоустойчивости, что приводит к появлению симптомов выраженной депрессии вне зависимости от временного периода после заболевания.

Проведённый сравнительный анализ свойств внимания, наличия симптомов депрессии и уровня тревожности у подростков основной и контрольной групп позволил выявить особенности течения постковидного синдрома у подростков. Так, в группе подростков, перенёвших COVID-19, по сравнению с респондентами контрольной группы выявлены:

1. Сниженный объём внимания, пониженный уровень скорости переработки информации и концентрации внимания, что может быть связано с наличием у респондентов, перенёвших COVID-19, состояния повышенной бдительности и напряжения.

2. Наличие симптомов выраженной депрессии и высокий уровень тревожности. Данные состояния могут быть связаны с нейротропностью вируса SARS-CoV-2; социальной значимостью самого заболевания; социальным влиянием (новости, нахождение в карантине и изоляции и т. п.); возникновением чувства вины, ощущения неудачи и отчаяния, негативного отношения к самому себе (в случае заражения родственников, старшего поколения).

Ограничения исследования

Несмотря на полученные статистически значимые различия в уровне выраженности тревожности, симптомов депрессии и свойств внимания у подростков в зависимости от наличия или отсутствия перенесённого COVID-19 в анамнезе, наше исследование являлось пилотным в данной возрастной группе и имеет ряд ограничений. К ним можно отнести малый размер выборки и преобладание в составе выборки подростков женского пола. Также в данном исследовании использова-

лась информация об имеющихся клинических симптомах COVID-19 во время болезни и после выписки, предоставленная самими респондентами в ходе устного опроса. Это могло быть одним из источников неточностей в исследовании. Присутствие указанных лимитирующих факторов ограничивает распространение полученных результатов на общую популяцию подростков и требует проведения дополнительных научных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведённого исследования позволили оценить степень выраженности последствий COVID-19 у подростков в зависимости от временного периода после перенесённого заболевания. Рассмотрены клинические симптомы COVID-19 у подростков во время острой фазы течения заболевания. Установлено, что к наиболее распространённым симптомам относятся: повышенная температура тела, насморк, кашель, боль в горле, сильная усталость, нарушения обоняния, нарушения вкуса, головная боль (наиболее часто локализованная в лобной области).

Выявлено, что в 77 % случаев у подростков после перенесённого COVID-19 проявляется симптоматика постковидного синдрома продолжительностью от 2 до 64 недель. При этом наиболее распространёнными клиническими симптомами COVID-19 после выписки являются: астения (31 %), нарушения обоняния (36 %) и нарушения вкуса (33 %). Наиболее распространёнными психологическими симптомами, характерными для постковидного синдрома, являются: сниженный объём внимания, пониженный уровень скорости переработки информации и концентрации внимания, а также наличие симптомов выраженной депрессии и высокой тревожности. В целом можно заключить, что в период второго месяца после перенесённого COVID-19 выявлено наиболее неблагоприятное эмоциональное состояние у подростков. При этом выраженность симптомов депрессии и тревожности статистически значимо не меняется в зависимости от временного периода после перенесённого COVID-19. В связи с этим следующим этапом проводимых нами исследований является увеличение выборки с целью изучения социально-демографических, психологических и физиологических детерминант связанного со здоровьем качества жизни у детей, перенёвших COVID-19.

Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках НИР «Механизмы формирования нарушений состояния здоровья у детей и подростков при новой коронавирусной инфекции COVID-19 и её последствий с целью разработки эффективных методов коррекции и реабилитации» (№ 123051600010-3).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Semenova NV, Rychkova LV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Nikitina OA, Petrova AG, et al. Superoxide dismutase activity in male and female patients of different age with moderate COVID-19. *Bull Exp Biol Med.* 2022; 173(1): 51-53. doi: 10.1007/s10517-022-05491-6
2. Rychkova LV, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Petrova AG, Nikitina OA, et al. Oxidative stress intensity in children and adolescents with a new coronavirus infection. *Int J Biomed.* 2022; 12(2): 242-246. doi: 10.21103/Article12(2)_OA7
3. Darenskaya MA, Rychkova LV, Semenova NV, Petrova AG, Kolesnikov SI, Kudayarova E, et al. Children and adolescents with COVID-19: Reduced, oxidized glutathione and their ratio level. *Free Radic Biol Med.* 2022; 180(S1): 42. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.090
4. National Institute for Health and Care Excellence (NICE), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN), Royal College of General Practitioners (RCGP) (eds). *COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19.* URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188/resources/covid19-rapid-guideline-managing-the-long-term-effects-of-covid19-pdf-51035515742> [date of access: 03.11.2022].
5. Балыкова Л.А., Ширманкина М.В., Владимиров Д.О., Науменко Е.И., Самошкина Е.С., Чернышова Р.А. Постковидный синдром у детей и подростков: обзор литературы и описание клинического наблюдения. *РМЖ. Мать и дитя.* 2022; 5(4): 366-372. [Balykova LA, Shirmankina MV, Vladimirov DO, Naumenko EI, Samoshkina ES, Chernyshova RA. Post-COVID syndrome in children and adolescents: A literature review and clinical case. *Russian Journal of Woman and Child Health.* 2022; 5(4): 366-372. (In Russ.)]. doi: 10.32364/2618-8430-2022-5-4-366-372
6. Вырупаева Е.В., Семенова Н.В., Рычкова Л.В., Петрова А.Г., Даренская М.А., Колесников С.И., и др. Оценка общего состояния и качества жизни женщин пострепродуктивного возраста, перенесших COVID-19 бессимптомно и через 12 месяцев после среднетяжелой формы заболевания. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 77-85. [Vyrupeva EV, Semyonova NV, Rychkova LV, Petrova AG, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, et al. Assessment of the general condition and quality of life of women of post-reproductive age after asymptomatic COVID-19 and 12 months after moderate COVID-19. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 77-85. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.9
7. Семёнова Н.В., Колесников С.И., Вырупаева Е.В., Шолохов Л.Ф., Рычкова Л.В., Петрова А.Г., и др. Тиреоидный статус и ФНО-альфа у женщин в пострепродуктивном периоде с COVID-19 и через 12 месяцев после заболевания. *Acta biomedica scientifica.* 2023; 8(2): 33-42. [Semenova NV, Kolesnikov SI, Vyrupeva EV, Sholokhov LF, Rychkova LV, Petrova AG, et al. Thyroid status and TNF-alpha in post-reproductive women with COVID-19 and 12 months after the disease. *Acta biomedica scientifica.* 2023; 8(2): 33-42. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.4
8. Усов К.И. Психологические проблемы лиц, перенесших коронавирус. *Практическая психология в условиях современных кризисов: проблемы, перспективы и решения: Сборник материалов всероссийской научно-практической конференции с международным участием.* Улан-Удэ; 2021: 251-256. [Usov KI. Psychological problems of coronavirus survivors. *Practical Psychology in the Conditions of Modern Crises: Problems, Prospects and Solutions: Collection of Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation.* Ulan-Ude; 2021: 251-256. (In Russ.)].
9. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med.* 2021; 27: 601-615. doi: 10.1038/s41591-021-01283-z
10. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siaty DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020; 277(8): 2251-2261. doi: 10.1007/s00405-020-05965-1
11. Moein ST, Hashemian SMR, Mansourafshar B. Smell dysfunction: A biomarker for COVID-19. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2020; 10(8): 944-950. doi: 10.1002/alr.22587
12. Kaye R, Chang CWD, Kazahaya K, Brereton J, Denney JC 3rd. COVID-19 anosmia reporting tool: Initial findings. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2020; 163(1): 132-134. doi: 10.1177/0194599820922992
13. Vaira LA, Hopkins C, Petrocelli M, Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Salzano G, et al. Smell and taste recovery in coronavirus disease 2019 patients: A 60-day objective and prospective study. *J Laryngol Otol.* 2020; 134(8): 703-709. doi: 10.1017/S0022215120001826
14. Косовцева А.С., Баирова Т.А., Рычкова Л.В., Орлова Е.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., и др. Нарушения обоняния и вкуса у беременных, больных COVID-19. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 35-45. [Kosovtseva AS, Bairova TA, Rychkova LV, Orlova EA, Khasnatinov MA, Danchinova GA, et al. Smell and taste disorders in pregnant women with COVID-19. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 35-45. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.5
15. Ткачук Е.А., Куренкова Г.В., Черевикова И.А., Глобенко Н.Э., Васильева А.Р., Масленникова Ю.А., и др. Функциональные особенности сердечно-сосудистой системы у детей, перенесших COVID-19. *Якутский медицинский журнал.* 2023; 1(81): 74-79. [Tkachuk EA, Kurenkova GV, Cherevikova IA, Globenko NE, Vasilyeva AR, Maslennikova YuA, et al. Functional features of the cardiovascular system in COVID-19 children. *Yakut Medical Journal.* 2023; 1(81): 74-79. (In Russ.)]. doi: 10.25789/YMJ.2023.81.19
16. Поляков В.М., Черевикова И.А., Мясищев Н.А., Рычкова Л.В., Косовцева А.С., Вотинцева А.С., и др. Когнитивные и эмоциональные нарушения, ассоциированные с COVID-19 (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(6): 71-81. [Polyakov VM, Cherevikova IA, Myasishchev NA, Rychkova LV, Kosovtseva AS, Votinaeva AS, et al. Cognitive and emotional impairments associated with COVID-19 (literature review). *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(6): 71-81. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.7
17. Мезенцева О.Ю. Инфекция COVID-19 у детей: клинико-эпидемиологические аспекты. *Российский педиатрический журнал.* 2021; 2(4): 12. [Mezentseva OYu. COVID-19 infection in children: Clinical and epidemiological aspects. *Russian Pediatric Journal.* 2021; 2(4): 12. (In Russ.)].
18. Bogariu AM, Dumitrascu DL. Digestive involvement in the Long-COVID syndrome. *Med Pharm Rep.* 2022; 95(1): 5-10. doi: 10.15386/MPR-2340
19. Magson NR, Freeman JYA, Rapee RM, Richardson CE, O'Leary EL, Fardouly J, et al. Risk and protective factors for prospective changes in adolescent mental health during the COVID-19

pandemic. *J Youth Adolescence*. 2021; 50: 44-57. doi: 10.1007/s10964-020-01332-9

20. Han Q, Zheng B, Daines L, Sheikh A. Long-term sequelae of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of one-year follow-up studies on post-COVID symptoms. *Pathogens*. 2022; 11(2): 269. doi: 10.3390/pathogens11020269

21. Бизюк А.П. *Компендиум методов нейропсихологического исследования: методическое пособие*. СПб.: Речь, 2005. [Bizyuk AP. *Compendium of methods of neuropsychological research: Methodical manual*. Saint Petersburg: Rech'; 2005. (In Russ.)].

22. Ильин Е.П. *Эмоции и чувства*. СПб.: Питер; 2011. [Ilyin EP. *Emotions and feelings*. Saint Petersburg: Piter; 2011. (In Russ.)].

23. Низамова В.Д., Прояева Д.С., Авилов О.В. Оценка отношения к лени и ее взаимосвязи с уровнем депрессии у студентов. *Наука и мир*. 2019; 1-2(65): 38-41. [Nizamova VD, Proyaeva DS, Avilov OV. Assessment of attitudes towards laziness and its relationship with the level of depression in students. *Science and World*. 2019; 1-2(65): 38-41. (In Russ.)].

24. Прихожан А.М. *Психология тревожности: дошкольный и школьный возраст*. М.: Питер; 2009. [Prikhozhan AM. *Psychology of anxiety: Preschool and school age*. Moscow: Piter; 2009. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Черевикова Ирина Александровна – младший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: gothic.craze@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5328-8525>

Ткачук Елена Анатольевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: zdorowie38@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7525-2657>

Поляков Владимир Матвеевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vmpolyakov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6243-9391>

Васильева Надежда Сергеевна – лаборант-исследователь лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: wasns-irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2648-3528>

Прохорова Жанна Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: proxorowa.janna2011@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8236-1747>

Вотинева Анастасия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: votinevaas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0361-2868>

Мясищев Николай Анатольевич – лаборант-исследователь лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: roulih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8451-9341>

Information about the authors

Irina A. Cherevikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: gothic.craze@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5328-8525>

Elena A. Tkachuk – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: zdorowie38@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7525-2657>

Vladimir M. Polyakov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vmpolyakov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6243-9391>

Nadezhda S. Vasileva – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: wasns-irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2648-3528>

Zhanna V. Prokhorova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: proxorowa.janna2011@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8236-1747>

Anastasiya S. Votineva – Junior Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: votinevaas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0361-2868>

Nikolai A. Myasishchev – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: roulih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8451-9341>

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ СХЕМ ФАРМАКОТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФИТОСРЕДСТВА ИЗ *HIPPOPHAE RHAMNOIDES* НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС С ПАРАЦЕТАМОЛОВЫМ ГЕПАТИТОМ

Батуева С.Ю.¹,
Ламажапова Г.П.^{1,2},
Капустина Ю.А.¹,
Роднаева О.А.¹,
Чукаев С.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова» (670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, Россия)

² ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Батуева Снежана Юрьевна,
e-mail: bsu.2017@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Использование комплексов синтетических и растительных средств в качестве гепатопротекторов при лечении патологий печени различной этиологии является актуальной задачей фармакологии. Перспективным видом лекарственного растительного сырья является фитопрепарат – экстракт листьев облепихи крушиновидной (*Extractum foliorum Hipporphaes rhamnoides*). Гепатопротекторное действие экстракта листьев облепихи крушиновидной в сочетании с адеметионином к настоящему времени не изучено.

Цель работы. Исследование изменений биохимических маркеров печеночной функции при применении комплексных схем фармакотерапии экспериментального повреждения печени парацетамолом с использованием *Extractum foliorum Hipporphaes rhamnoides*.

Методы. Экспериментальное исследование выполнено на крысах линии Wistar. Животные были разделены на шесть групп: 1-я интактная группа – животные без модели повреждения печени и без лечения; 2-я контрольная группа – с применением парацетамола для создания экспериментального гепатита без лечения (группа негативного контроля); 3-я сравнительная группа – использование комбинации «силибинин + адеметионин» на модели парацетамолового гепатита; 4-я опытная группа – использование «экстракта листьев облепихи крушиновидной» на модели парацетамолового гепатита; 5-я опытная группа – использование «адеметионина» на модели парацетамолового гепатита; 6-я опытная группа – использование комбинации «экстракт листьев облепихи крушиновидной + адеметионин» на модели парацетамолового гепатита. Функциональное состояние печени экспериментальных животных определено по биохимическим показателям.

Результаты. При определении в сыворотке крови крыс уровня таких показателей, как аспарагиновая аминотрансфераза, аланиновая аминотрансфераза, щелочная фосфатаза, гамма-глутамилтранспептидаза, а также общего билирубина было установлено, что при применении сочетания экстракта листьев облепихи крушиновидной с адеметионином биохимические показатели статистически значимо ($p < 0,05$) отличались от численных значений в группе негативного контроля и были наиболее приближены к таковым в интактной группе, чем в других опытных группах.

Заключение. Сравнение эффективности применения экстракта листьев облепихи крушиновидной в сочетании с адеметионином по суммарному влиянию на биохимические показатели крови определяет данный комплекс как перспективную схему терапии парацетамолового гепатита.

Ключевые слова: *Extractum foliorum Hipporphaes rhamnoides*, парацетамоловый экспериментальный гепатит, комплексные схемы фармакотерапии, парацетамол, адеметионин, биохимические показатели крови

Для цитирования: Батуева С.Ю., Ламажапова Г.П., Капустина Ю.А., Роднаева О.А., Чукаев С.А. Влияние комплексных схем фармакотерапии с использованием фитосредства из *Hipporphae rhamnoides* на биохимические показатели крови крыс с парацетамоловым гепатитом. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 234-240. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.23

Статья поступила: 16.08.2022

Статья принята: 13.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

THE EFFECT OF COMPLEX PHARMACOTHERAPY REGIMENS USING A HERBAL REMEDY FROM *HIPPOPHAE RHAMNOIDES* ON BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS OF RATS WITH PARACETAMOL HEPATITIS

Batueva S.Yu.¹,
Lamazhapova G.P.^{1,2},
Kapustina Yu.A.¹,
Rodnaeva O.A.¹,
Chukaev S.A.¹

¹ D. Banzarov Buryat State University
(Smolina str. 24A, Ulan-Ude 670000,
Russian Federation)

² East Siberian State University
of Technology and Management
(Klyuchevskaya str. 40B, Ulan-Ude 670013,
Russian Federation)

Corresponding author:
Snezhana Yu. Batueva,
e-mail: bsu.2017@mail.ru

ABSTRACT

Background. The use of complexes of synthetic and herbal remedies as hepatoprotectors in the treatment of liver pathologies of various etiologies is an urgent task of pharmacology. A promising type of medicinal plant raw material is an extract of *Hippophaes rhamnoides* leaves. The hepatoprotective effect of extract of *Hippophaes rhamnoides* leaves in combination with ademethionine has not been studied to date.

The aim of the research was to study changes in biochemical markers of hepatic function in the application of complex schemes of pharmacotherapy of experimental liver damage with paracetamol using *Extractum foliorum Hippophaes rhamnoides*.

Materials and methods. The experimental study was performed on Wistar rats, the animals were divided into six groups. Group 1 (intact) – animals without a model of liver damage and without treatment; in Group 2 (control) paracetamol was used to create experimental hepatitis without treatment (positive control group); in Group 3 (comparison) a combination of “silibinin + ademethionine” was used on a model of paracetamol hepatitis; in Group 4 (experimental) extract of *Hippophaes rhamnoides* leaves was used on the model of paracetamol hepatitis; in Group 5 (experimental) ademethionine was used on a model of paracetamol hepatitis; in Group 6 (experimental) a combination of extract of *Hippophaes rhamnoides* leaves and ademethionine was used on a model of paracetamol hepatitis. The functional state of the liver of experimental animals was determined by biochemical parameters.

Results. When using a combination of extract of *Hippophaes rhamnoides* leaves with ademethionine, the studied biochemical parameters significantly ($p < 0.05$) differed from the numerical values in the negative control group and were closest to those in the intact group than in other experimental groups.

Conclusions. A comparison of the effectiveness of the use of extract of *Hippophaes rhamnoides* leaves in combination with ademethionine by the total effect on blood biochemical parameters determines this complex as a promising drug for further research.

Key words: *Extractum foliorum Hippophaes rhamnoides*, paracetamol experimental hepatitis, complex pharmacotherapy regimens, paracetamol, ademethionine, blood biochemical parameters

Received: 16.08.2022
Accepted: 13.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Batueva S.Yu., Lamazhapova G.P., Kapustina Yu.A., Rodnaeva O.A., Chukaev S.A. The effect of complex pharmacotherapy regimens using a herbal remedy from *Hippophae rhamnoides* on biochemical blood parameters of rats with paracetamol hepatitis. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 234-240. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.23

АКТУАЛЬНОСТЬ

Медикаментозные повреждения печени – одна из важных проблем современной гепатологии. Многие лекарственные средства токсичны для организма, даже в терапевтических дозах, что часто приводит к острой печёночной недостаточности [1, 2]. Для терапии различных заболеваний печени используется довольно разнообразный арсенал препаратов, направлено действующих на клетки печени [3]. В плане характера воздействия на систему гомеостаза лекарственных средства растительного происхождения имеют ряд преимуществ перед синтетическими аналогами. Продуцируемые растениями биоактивные метаболиты представляют интерес в качестве платформ для синтеза комбинаторных сочетаний синтетических и растительных лекарственных средств [4]. Применение различных комбинаций гепатопротекторов при лечении патологий печени достаточно востребовано в современных условиях [5]. Фармакологическая активность экстракта листьев облепихи крушиновидной (*Extractum foliorum Hippophaes rhamnoides*) обусловлена присутствием в составе фитоэкстракта кверцетина, кемпферола, изорамнетина, катехинов, флавоновых гликозидов и др. [6, 7]. Данные, приводимые в различных литературных источниках, свидетельствуют о том, что присутствие биологически активных веществ, относящихся к группе фенолов или полифенолов, в фармакологических средствах природного происхождения определяет наличие у них антиоксидантных свойств [8–10]. При этом следует отметить, что в целом спектр фармакологической активности экстракта листьев облепихи крушиновидной, особенности действия в условиях сочетанного применения с другими фармакологическими средствами изучены к настоящему времени недостаточно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование изменений биохимических маркеров печёночной функции при применении комплексных схем фармакотерапии экспериментального повреждения печени парацетамолом с использованием *Extractum foliorum Hippophaes rhamnoides*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проводилось на 60 белых крысах линии Wistar обоего пола массой 180–200 г. Животные находились в сертифицированном vivarium ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» (ИОЭБ) СО РАН. Все эксперименты проведены в соответствии с международными правилами работы с экспериментальными животными, ГОСТ 33044-2014, Принципами надлежащей лабораторной практики (OECD Guide 1:1998, IDT), согласно Распоряжению Правительства Российской Федерации от 08.11.2013 № 2067-р. Животных содержали при свободном доступе к пище и воде на рационе пи-

тания, соответствующем нормативам ГОСТ. Протокол эксперимента одобрен этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол № 2 от 05.11.2017).

Перед началом экспериментов крысы, отвечающие критериям включения в исследование, были распределены на шесть групп:

- I. Интактные крысы.
- II. Контрольная группа – животные с острым парацетамоловым гепатитом.
- III. Опытная группа – комбинация «силибинин + адеметионин».
- IV. Опытная группа – фитопрепарат «экстракт листьев облепихи крушиновидной».
- V. Опытная группа – фармакопейный препарат «адеметионин» [10, 11].
- VI. Опытная группа – комбинация «экстракт листьев облепихи крушиновидной + адеметионин».

Критерии невключения лабораторных животных:

- 1) наличие или развитие других соматических патологий;
- 2) неполовозрелые, ранний возраст (до 6 месяцев);
- 3) имеющие недостаточную массу.

Экспериментальную модель гепатита у крыс воспроизводили введением животным внутривенно 1 раз в сутки парацетамола (ацетаминофен) в дозе 500 мг/кг 2 дня [12].

Для лечения экспериментального гепатита животным опытных групп ежедневно в утренние часы (до кормления) в течение 14 дней вводили перорально водные растворы испытуемых средств: фитоэкстракт листьев облепихи крушиновидной растворяли в воде очищенной в дозе 100 мг/кг массы тела животного («наиболее оптимальный фармакотерапевтический» режим применения [13]). Экстракт листьев облепихи получен методом трёхкратной экстракции 40%-м этанолом в ИОЭБ СО РАН; «силибинин» (ЗАО «Вифитех») вводили в дозе 200 мг/кг по схеме; «адеметионин» (АО «Верофарм») – в дозе 200 мг/кг.

В первой и второй группе (интактные животные – с нормофункцией печени и с экспериментальным гепатитом) животные получали по схеме дистиллированную воду в эквивалентном количестве.

Из эксперимента животные выводились методом мгновенной декапитации под лёгким эфирным наркозом.

В момент выведения животного из эксперимента производили забор крови из хвостовой вены и в сыворотке животных определяли содержание:

- 1) аспарагиновой аминотрансферазы (АСТ) (BioSystems, Испания; кат. № 11830);
- 2) аланиновой аминотрансферазы (АЛТ) (BioSystems, Испания; кат. № 11832);
- 3) щелочной фосфатазы (ЩФ) (BioSystems, Испания; кат. № 11832);
- 4) общего билирубина (BioSystems, Испания; кат. № 11832);
- 5) гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) (BioSystems, Испания; кат. № 11832).

Исследование ферментов проводили кинетическим методом, рекомендованным Немецким обществом кли-

нической химии и Клиническим руководством по лабораторным тестам, при температуре 25 °С.

В качестве средства измерения использовали автоматический биохимический анализатор «Сапфир-400» (TokyoBoeki, Япония) и тест-системы фирмы Human (Германия). Статистическая обработка данных осуществлена с использованием программы Statistica 6.0 for Windows (StatSoft Inc., США). Статистическую значимость различий сравниваемых величин рассчитывали с помощью параметрического критерия Стьюдента и непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Различия данных считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$ [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам проведённого исследования установлено, что уровень АСТ статистически значимо увеличился в группе животных с острым парацетамоловым гепатитом на 49,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с таковым в интактной группе (табл. 1).

Показатель АСТ у крыс опытных групп статистически значимо не отличался от значений, зафиксированных в контрольной группе. При этом использование экстракта листьев облепихи крушиновидной в сочетании с адеметионином способствовало более существенному снижению значения показателя АСТ в сравнении с другими исследуемыми группами.

В условиях моделируемого экспериментального гепатита уровень АЛТ в группе негативного контроля статистически значимо увеличивался на 22 % в сравнении с показателем в интактной группе в ходе развития парацетамолового поражения, чем в интактной группе, что свидетельствовало о развитии патологии печени. При сравнении исследуемого показателя в III группе с аналогичным значением в контрольной группе при парацетамоловом гепатите установлено, что уровень АЛТ снизился на 11,2 %, в IV группе – на 15,4 %, в V группе – на 11,1 %, в VI группе – на 12,4 %. При этом статистиче-

ски значимые отличия зарегистрированы только в III и VI группах. При сравнении показателя этой аминотрансферазы у крыс VI группы с парацетамоловым гепатитом, получавших экстракт листьев облепихи в сочетании с адеметионином, и крыс III группы, получавших силибинин с адеметионином, видно, что уровень АЛТ был одинаковым. При этом у животных VI опытной группы зафиксированы наименьшие различия по значению АЛТ в сравнении с таковым у интактных животных.

В проведённых исследованиях установлено, что у животных с экспериментальным парацетамоловым гепатитом активность ЩФ и ГГТП в сыворотке крови статистически значимо возросла по сравнению с величиной у интактных крыс – на 37,7 % и 75,7 % соответственно, что видно из таблицы 1. Средние уровни ЩФ и ГГТП, которые являются маркерными ферментами холестаза, в опытных группах были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе животных. Так, приём в этих условиях экстракта листьев облепихи крушиновидной в сочетании с адеметионином обусловил по сравнению с контролем, статистически значимое снижение уровня активности ЩФ на 13,2 %. Схожие изменения наблюдались при действии силибинина с адеметионином, экстракта листьев облепихи крушиновидной и адеметионина по отдельности: активность ЩФ снизилась на 12,9 %, 10,8 % и 12,1 % соответственно относительно контроля. Данные по уровню фермента ГГТП в разных опытных группах существенно не отличались между собой, при этом все они статистически значимо отличались от этого показателя у крыс контрольной группы.

После введения парацетамола уровень билирубина в контрольной группе возрос на 114,3 % (рис. 1).

При сравнении показателя билирубина у крыс опытной группы, получавших силибинин с адеметионином, с таковым у животных контрольной группы установлено, что уровень билирубина понизился на 31,1 %. Со значениями в IV группе эта разница составила 24,4 %, в V группе – 33,3 %, в VI группе – 37,7 %. Использование сочета-

ТАБЛИЦА 1
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС
В МОДЕЛИ ОСТРОГО ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТА

TABLE 1
BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD
IN A MODEL OF ACUTE PARACETAMOL HEPATITIS

Биохимические показатели	I группа: интактные (n = 10)	II группа: парацетамоловый гепатит (n = 10)	III группа: силибинин + адеметионин (n = 10)	IV группа: экстракт листьев облепихи крушиновидной (n = 10)	V группа: адеметионин (n = 10)	VI группа: экстракт листьев облепихи крушиновидной + адеметионин (n = 10)
АСТ, ед/л	44,30 ± 1,62	66,20 ± 5,94*	59,20 ± 4,24	61,20 ± 2,76	64,00 ± 5,45	57,80 ± 2,12
АЛТ, ед/л	172,16 ± 4,35	209,90 ± 1,07*	186,30 ± 17,37**	197,10 ± 14,78	194,40 ± 3,75	183,80 ± 13,08**
ЩФ, ед/л	657,80 ± 35,07	906,10 ± 26,87*	788,50 ± 7,28**	808,20 ± 42,00**	796,30 ± 29,06**	786,30 ± 20,79**
ГГТП, ед/л	7,14 ± 0,31	29,5 ± 1,7*	23,7 ± 1,3**	25,1 ± 1,7**	24,2 ± 1,4**	22,3 ± 1,5**

Примечание. Различия статистически значимы по сравнению с: * – интактной группой ($p < 0,05$); ** – контрольной группой ($p < 0,05$); n – число животных в каждой группе.

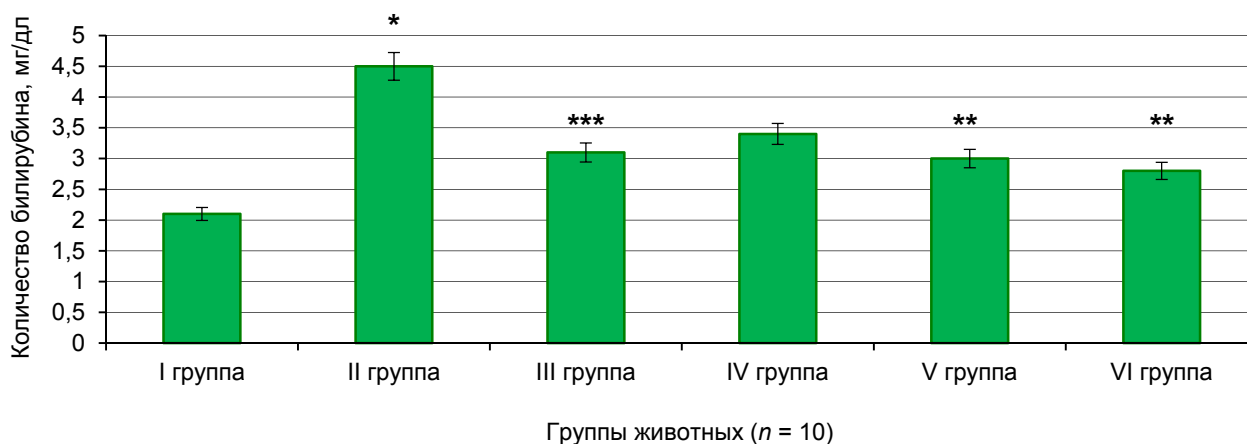


РИС. 1.

Концентрация билирубина в сыворотке крови крыс в модели острого парацетамолового гепатита. Различия статистически значимы по сравнению со значениями в: * – интактной группе ($p < 0,001$); ** – контрольной группе ($p < 0,05$); n – число животных в каждой группе

FIG. 1.

Concentration of bilirubin in the blood serum of rats in the model of acute paracetamol hepatitis. The differences are statistically significant compared to the values in: * – intact group ($p < 0.001$); ** – control group ($p < 0.05$); n – number of animals in each group

ния экстракта листьев облепихи с адеметионином у крыс с парацетамоловым гепатитом привело к снижению показателя уровня билирубина на 10,7 % по сравнению с аналогичным показателем в крови крыс III опытной группы, получавших сочетание «силибинин + адеметионин». Наряду с этим уровень билирубина в крови животных всех опытных групп имел статистически значимые отличия с показателями в контроле. Однако необходимо отметить, что уровень билирубина у крыс VI группы восстанавливался до значений у интактных крыс.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем фармакологии является поиск эффективных и безопасных гепатопротекторов для лечения поражений печени лекарственного генеза. Так, использование модели острого поражения печени парацетамолом сходно по патогенезу с лекарственными гепатитами [15]. Согласно литературным данным, гепатотоксичные дозы парацетамола приводят к образованию центростремительных некрозов и печёночной недостаточности [16–18].

Из обзорной статьи по комбинированному применению лекарственных средств С.В. Оковитого (2020) следует, что в настоящее время сведений об экспериментальном и клиническом исследованиях, посвящённых изучению целесообразности и возможности комбинированного использования гепатопротекторов, достаточно мало [5, 19].

В исследовании I. Giangrandi и соавт. (2016) было показано, что при приёме в течение 12 месяцев (пациенты с неалкогольной жировой болезнью печени) комбинации силимарина (140 мг/сут.) и адеметионина (200 мг/сут.) без дополнительной коррекции диеты привело к снижению уровня биохимических показателей на фоне регрессии стеатоза печени [20]. По данным

A.Y. Au и соавт. (2013), «комбинация «силибинин + адеметионин» ингибирует как воспаление, так и окислительный стресс посредством воздействия на разные сигнальные пути, опосредуемые ядерным фактором NF- κ B и транскрипционным фактором Nrf2» [21].

По результатам проведенного эксперимента установлено, что при введении парацетамола отмечается изменение активности АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТП и общего билирубина. Парацетамол и продукты его распада у контрольных животных с токсическим гепатитом приводят к повреждению липидного бислоя мембран гепатоцитов, активации синдромов цитолиза и холестаза, нарушению метаболизма белков, углеводов, биоэнергетики и угнетению ферментных систем детоксикации ксенобиотиков. При введении комбинации «силибинин + адеметионин» отмечается статистически значимое снижение уровня всех исследуемых показателей по сравнению с контролем. После применения экстракта листьев крушиновидной в терапевтическом режиме выявлена гепатопротекторная активность. Так, курсовое применение фитоэкстракта в режиме монотерапии обуславливает уменьшение общего билирубина и щелочной фосфатазы. Также установлено, что при повреждении печени крыс парацетамолом и терапией «адеметионином» показатели исследуемых параметров были близки к показателям интактной группы. Коррекция выявленных при воздействии парацетамола нарушений комбинацией «экстракт листьев облепихи крушиновидной + адеметионин» привела к улучшению показателей функционального состояния печени крыс, судя по исследованным маркерам повреждения печени: АСТ, АЛТ, ГГТП, общий билирубин и щелочная фосфатаза. Однако при сравнении всех опытных групп животных, получавших лечение разными схемами, стоит отметить, что в группах крыс, которые получали комбинации препаратов, результаты были лучше по сравнению с крысами, получавшими лечение только моно-

средствами. Известно, что высокие дозы парацетамола приводят к некрозу некоторой части гепатоцитов печени, и для восстановления гепатоцитов требуется достаточно длительное время. Тем не менее, приём сочетания «экстракт листьев облепихи крушиновидной + адеметионин» в течение эксперимента способствовал значительному улучшению состояния печени при остром отравлении парацетамолом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при токсическом гепатите, вызванном введением парацетамола, сочетанное применение «экстракта листьев облепихи крушиновидной + адеметионин» так же, как и «силибина в сочетании с адеметионином», в отличие от «экстракта облепихи крушиновидной» и «адеметионина» как моносредств, приводит к лучшему восстановлению уровня активности некоторых биохимических показателей сыворотки крови подопытных животных и тем самым в результате оказывает более выраженное гепатопротекторное действие. Полученные данные создают предпосылку для дальнейшего исследования и применения комплекса «экстракта листьев облепихи крушиновидной + адеметионин» для коррекции заболеваний печени, вызванных различными токсическими агентами.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lee WM. Acute liver failure. *Semin Respir Crit Care Med*. 2012; 1(33): 36-45. doi: 10.1055/s-0032-1301733
2. Коваленко Л.А., Ипатова М.Г., Долгинов Д.М., Афуков И.И. Острое отравление парацетамолом (Ацетаминофеном) у детей. *Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология*. 2018; 3(32): 14-18. [Kovalenko LA, Ipatova MG, Dolginov DM, Afukov II. Acute paracetamol (Acetaminophen) poisoning in children. *Effective Pharmacotherapy. Gastroenterology*. 2018; 3(32): 14-18. (In Russ.)].
3. Ивашкин В.Т., Буеверова А.О. (ред.). *Рациональная фармакотерапия в гепатологии: руководство для практикующих врачей*. М.: Литтерра; 2009. [Ivashkin VT, Bueverova AO (eds). *Rational pharmacotherapy in hepatology: a guide for practitioners*. Moscow: Litterra; 2009. (In Russ.)].
4. Выпова Н.Л., Фомина М.А., Нурбекова Н.Б., Тагайалиева Н.А., Юлдашев Х.А., Гафуров М.Б., и др. Влияние комплексных препаратов на основе МАСГК, карнитина и метионина на биохимические показатели крови крыс с парацетамоловым гепатитом. *Universum: Химия и биология*. 2022; 4(94): 34-39. [Vyupova NL, Fomina MA, Nurbekova NB, Tagayaliyeva NA, Yuldashev KhA, Gafurov MB, et al. Effect of complex preparations based on MASGA, carnitine and methionin on biochemical indicators of blood in rats with paracetamol hepatitis. *Universum: Himiya i biologiya*. 2022; 4(94): 34-39. (In Russ.)]. doi: 10.32743/UniChem.2022.94.4.13311
5. Оковитый С.В. Комбинированное применение гепатопротекторов. *Лечащий врач*. 2020; 8: 38-43. [Okovity SV. Combined use of hepatoprotective agents. *Lechaschi vrach*. 2020; (8): 38-43. (In Russ.)]. doi: 10.26295/OS.2020.65.19.005
6. Кукина Т.П., Щербakov Д.Н., Генъш К.В., Тулышева Е.А., Сальникова О.И., Гражданников А.Е., и др. Биоактивные компоненты древесной зелени облепихи *Hippophae Rhamnoides* L. *Химия растительного сырья*. 2016; 1: 37-42. [Kukina TP, Shcherbakov DN, Gensh KV, Tulysheva EA, Salnikova OI, Grazhdannikov AE, et al. Bio active constituents from sea buckthorn *Hippophae Rhamnoides* L. tree green. *Khimija rastitel'nogo syr'ja*. 2016; 1: 37-42. (In Russ.)].
7. Górnaś P, Šnè E, Siger A, Segliņa D. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) vegetative parts as an unconventional source of lipophilic antioxidants. *Saudi J Biol Sci*. 2016; 23(4): 512-516. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.05.015
8. Николаев С.М. *Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний*. Улан-Удэ: Изд-во БГУ; 2012. [Nikolaev SM. *Phytopharmacotherapy and phytopharmacoprevention of diseases*. Ulan-Ude; 2012. (In Russ.)].
9. Николаев С.М., Мондодоев А.Г., Шантанова Л.Н. Перспективы использования многокомпонентных препаратов в фармакотерапии заболеваний. *Medicus*. 2015; 6(6): 139-141. [Nikolaev SM, Mondodoev AG, Shantanova LN. The prospects of multi-component preparations use in pharmacotherapy of the diseases. *Medicus*. 2015; 6(6): 139-141. (In Russ.)].
10. Yoshino M, Murakami K. Interaction of iron with polyphenolic compounds: Application to antioxidant characterization. *Anal Biochem*. 1998; 257(1): 40-44. doi: 10.1006/abio.1997.2522
11. Шатихин А.И. Адеметионин: горизонты клинического применения. *Эффективная фармакотерапия*. 2011; 6: 58-64. [Shatikhin AI. Ademethionine: Horizons for clinical use. *Effective Pharmacotherapy*. 2011; 6: 58-64. (In Russ.)].
12. Friedel HA, Goa KL, Benfield P. S-adenosyl-L-methionine. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in liver dysfunction and affective disorders in relation to its physiological role in cell metabolism. *Drugs*. 1989; 38(3): 389-416. doi: 10.2165/00003495-198938030-00004
13. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.: Гриф и К; 2013. [Mironov AN. *Guidelines for conducting preclinical studies of drugs*. Moscow: Grif I K; 2013. (In Russ.)].
14. Чукаев С.А., Николаев С.М., Роднаева О.А., Нагаслаева Л.А. Гепатопротекторное действие сухого экстракта облепихи крушиновидной. *Сибирский медицинский журнал*. 2005; 53(4): 61-64. [Chukaev SA, Nikolaev SM, Rodnaeva OA, Nagaslaeva LA. Hepatoprotective effect of dry extract of sea buckthorn. *Siberian Medical Journal*. 2005; 53(4): 61-64. (In Russ.)].
15. Венгеровский А.И., Удут В.В., Рейхарт Д.В. *Методические рекомендации по изучению гепатопротективной активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств; часть первая*. М.: Гриф и К; 2012. [Vengerovsky AI, Udut VV, Reichart DV. *Methodological recommendations for studying the hepatoprotective activity of drugs. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products; part one*. Moscow: Grif I K; 2012. (In Russ.)].
16. Prescott LF. Paracetamol: Past, present and future. *Am J Ther*. 2000; 7: 143-147. doi: 10.1097/00045391-200007020-00011

17. Карпищенко А.И., Москалев А.В., Кузнецов В.В., Жерегеля С.Н. *Клиническая лабораторная диагностика заболеваний печени и желчевыводящих путей: руководство для врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020. [Karpishchenko AI, Moskalev AV, Kuznetsov VV, Zheregelya SN. *Clinical laboratory diagnosis of liver and biliary tract diseases: Guideline for doctors*. Moscow: GEOTAR-Media; 2020. (In Russ.).]
18. Henderson N, Pollock K, Frewet J, Mackinnon A, Flavell R, Davis R, et al. Critical role of c-jun (NH2) terminal kinase in paracetamol-induced acute liver failure. *Gut*. 2007; 56(7): 982-990. doi: 10.1136/gut.2006.104372
19. Подымова С.Д. *Болезни печени: Руководство для врачей*; изд. 5-е, перераб. и доп. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2018. [Podymova SD. *Liver diseases: A guide for physicians*; 5th edition, revised and enlarged. Moscow: Medical Information Agency LLC; 2018. (In Russ.)]
20. Giangrandi I, Dinu M, Pagliai G, Sofi F, Casini A. Efficacy of oral supplementation with silymarin and s-adenosyl-L-methionine in patients with non-alcoholic fatty liver disease – A pilot study. *Altern Integr Med*. 2016; 5(4): 224. doi: 10.4172/2327-5162.1000224
21. Au AY, Hasenwinkel JM, Frondoza CG. Hepatoprotective effects of S-adenosylmethionine and silybin on canine hepatocytes *in vitro*. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2013; 97(2): 331-341. doi: 10.1111/j.1439-0396.2012.01275.x

Сведения об авторах

Батуева Снежана Юрьевна – аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии с курсом биохимии, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова», e-mail: bsu.2017@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0262-3303>

Ламазhapова Галина Петровна – доктор биологических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии с курсом биохимии, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова»; заведующая кафедрой «Биотехнология», ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», e-mail: lamazhap@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4118-215X>

Капустина Юлия Алексеевна – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии с курсом биохимии, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова», e-mail: uas.2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9982-5034>

Роднаева Ольга Анатольевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии с курсом биохимии, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова», e-mail: rodnaeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1954-9952>

Чукаев Сергей Александрович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии с курсом биохимии, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова», e-mail: s.chukaev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7241-9554>

Information about the authors

Snezhana Yu. Batueva – Postgraduate at the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology with a course of Biochemistry, D. Banzarov Buryat State University, e-mail: bsu.2017@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0262-3303>

Galina P. Lamazhapova – Dr. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology with the course of Biochemistry, D. Banzarov Buryat State University; Head of the Department of Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management, e-mail: lamazhap@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4118-215X>

Yulia A. Kapustina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Lecturer at the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology with the course of Biochemistry, D. Banzarov Buryat State University, e-mail: uas.2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9982-5034>

Olga A. Rodnaeva – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology with the course of Biochemistry, D. Banzarov Buryat State University, e-mail: rodnaeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1954-9952>

Sergey A. Chukaev – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology with the course of Biochemistry, D. Banzarov Buryat State University, e-mail: s.chukaev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7241-9554>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ИЗМЕНЕНИЕ ПАТТЕРНА НАРУШЕНИЙ СНА У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ В УСЛОВИЯХ 21-СУТОЧНОЙ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

Ковров Г.В.¹,
Власова А.В.^{1,2},
Попова О.В.¹,
Черникова А.Г.¹

¹ ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76а, Россия)

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Власова Алиса Вадимовна,
e-mail: vav.vav.va@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) воспроизводит некоторые эффекты воздействия невесомости на организм человека и применяется для изучения адаптации к условиям космического полёта. Известно, что АНОГ влияет на ночной сон, но в литературе отсутствуют сведения о последовательности возникновения нарушений сна при АНОГ.

Цель работы. Изучение динамики субъективных изменений оценки качества сна в условиях антиортостатической гипокинезии.

Материалы и методы. В эксперименте с 21-суточной АНОГ участвовали 6 здоровых мужчин-добровольцев (возраст от 26 до 34 лет). Они находились на медицинской кровати с углом наклона тела относительно горизонта –6° в течение 21 суток. Для оценки качества сна был использован структурированный опросник, оценивающий продолжительность сна, скорость засыпания, ночные пробуждения, наличие дневной сонливости, дневных засыпаний.

Результаты. На основании оценки динамики индекса эффективности сна (ИЭС) было выделено 3 этапа адаптации. На этапе острой адаптации (первые 3 суток) происходит снижение ИЭС с 96,4 до 91,3 ($p < 0,01$), статистически значимое удлинение засыпания с 17,6 до 33,6 мин ($p < 0,01$), увеличение продолжительности ночных пробуждений до 17,4 мин, усиление дневной сонливости на 11 %. В следующие 3 суток («восстановительный» этап) отмечается статистически значимое увеличение ИЭС по сравнению с 1-м этапом до 94,7 ($p < 0,01$), но он остаётся статистически значимо ниже фоновых значений ($p < 0,004$). Возрастает количество жалоб на дневную сонливость (до 42 %), сроки вечернего отбоя смещаются позже на 26 минут. На 3-м этапе (оставшиеся ночи) происходит относительная стабилизация цикла «сон – бодрствование».

Заключение. В условиях 21-суточной АНОГ происходит постепенное изменение паттерна нарушений сна. Наиболее негативные в плане субъективной оценки изменения отмечались в первые 3 дня. Затем отмечается улучшение засыпания, снижение ночных пробуждений в сочетании с увеличением дневной сонливости и формированием режима с более поздним отбоем.

Ключевые слова: антиортостатическая гипокинезия, сон, космический полёт, индекс эффективности сна

Статья поступила: 13.06.2023

Статья принята: 16.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Ковров Г.В., Власова А.В., Попова О.В., Черникова А.Г. Изменение паттерна нарушений сна у здоровых людей в условиях 21-суточной антиортостатической гипокинезии. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 241-248. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.24

CHANGES IN THE PATTERN OF SLEEP DISTURBANCES IN HEALTHY SUBJECTS UNDER 21-DAY ANTI-ORTHOSTATIC HYPOKINESIA

Kovrov G.V.¹,
Vlasova A.V.^{1,2},
Popova O.V.¹,
Chernikova A.G.¹

¹ State Scientific Center
of the Russian Federation – Institute
Biomedical Problems, Russian Academy
of Sciences (Khoroshevskoe Highway 76A,
Moscow 123007, Russian Federation)

² I.M. Sechenov First Moscow State
Medical University (Sechenov University)
(Trubetskaya str. 8 build. 2, Moscow 119991,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alisa V. Vlasova,
e-mail: vav.vav.va@yandex.ru

ABSTRACT

Background. Antiorthostatic hypokinesia (ANOH) reproduces some of the effects of weightlessness on the human body and is used to study adaptation to space flight conditions. It is known that ANOH affects nighttime sleep, but there is no information in the literature on the sequence of occurrence of sleep disorders in ANOH.

The aim of the research was to study the dynamics of subjective changes in assessing sleep quality under conditions of antiorthostatic hypokinesia.

Materials and methods. Six healthy male volunteers (age from 26 to 34 years) participated in the experiment with 21-day ANOH. They were on a medical bed with a body inclination angle relative to the horizon of -6° for 21 days. To assess sleep quality, a structured questionnaire was used that assessed sleep duration, rate of falling asleep, night awakenings, the presence of daytime sleepiness, and daytime falling asleep.

Results. Based on the assessment of the dynamics of the sleep efficiency index (SEI), three stages of adaptation were identified. At the stage of acute adaptation (the first 3 days), there is a decrease in SEI from 96.4 to 91.3 ($p < 0.01$), a statistically significant prolongation of falling asleep from 17.6 to 33.6 minutes ($p < 0.01$), an increase duration of night awakenings up to 17.4 minutes, increase in daytime sleepiness by 11 %. In the next 3 days (the "recovery" stage), there is a statistically significant increase in SEI compared to the 1st stage to 94.7 ($p < 0.01$), but it remains statistically significantly lower than the background values ($p < 0.004$). The number of complaints about daytime sleepiness increases (up to 42 %), evening bedtime shifts later by 26 minutes. At the 3rd stage (the remaining nights) there is a relative stabilization of the sleep-wake cycle.

Conclusion. Under conditions of 21-day ANOH, a gradual change in the pattern of sleep disturbances occurs. The most negative changes in terms of subjective assessment were noted in the first three days. Then there is an improvement in falling asleep, a decrease in night awakenings, combined with an increase in daytime sleepiness and the formation of a schedule with a later bedtime.

Key words: antiorthostatic hypokinesia, sleep, space flight, sleep efficiency index

Received: 13.06.2023
Accepted: 16.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Kovrov G.V., Vlasova A.V., Popova O.V., Chernikova A.G. Changes in the pattern of sleep disturbances in healthy subjects under 21-day antiorthostatic hypokinesia. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 241-248. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.24

ВВЕДЕНИЕ

Сон поддерживает психофизиологический гомеостаз на должном уровне, играет важную роль в уровне физической и умственной работоспособности [1]. Во время космических полётов космонавты отмечают нарушения сна, которые со временем пребывания в космосе становятся меньше [2].

Изучение влияния условий космического полёта на сон человека проводится также в наземных модельных экспериментах. В частности, антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) воспроизводит некоторые эффекты воздействия невесомости на организм человека и применяется для изучения адаптации к условиям космического полёта [3]. АНОГ является воздействием, нарушающим ночной сон. Известно, что пребывание человека в течение длительного времени с наклоном головы вниз уменьшает внутричерепную перфузию и приводит к застою в яремной вене [4, 5], снижению систолического артериального давления и урежению пульса [6], повышению внутричерепного давления [7]. Положение тела также оказывает влияние на отток ликвора и активности по выводу амилоида [8]. Ранее с проведением полисомнографии было показано, что в условиях АНОГ происходит удлинение латентных периодов 1-й, 2-й и 3-й стадий сна, увеличение продолжительности ночных пробуждений и 2-й стадии, а также уменьшение длительности 3-й стадии сна, стадии с быстрыми движениями глаз [9]. Изучение сна в первые сутки гипокинезии показало, что происходит уменьшение 3-й стадии сна, стадии сна с быстрыми движениями глаз, увеличение 1-й стадии, ухудшение субъективного качества сна [10, 11]. В другом исследовании отмечалось уменьшение 4-й стадии сна и увеличение частоты пробуждений во время экспериментального постельного режима при наклоне головы вниз на -6° [12, 13].

В одной из работ авторы отмечают, что в первые 3 суток АНОГ ночной сон, уровень дневной бодрости и психофизиологические функции не нарушались, хотя утром наблюдалось незначительное ухудшение функции внимания [13].

В условиях АНОГ, помимо ухудшения качества сна, также отмечаются дневные симптомы нарушения циркадианного ритма – появление сонливости, развитие физической и психической усталости [14].

Отсутствие в литературе сведений о последовательности в возникновении нарушений сна в период пребывания в АНОГ определило цель нашей работы как изучение динамики субъективных изменений оценки качества сна в условиях антиортостатической гипокинезии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование является открытым предэкспериментальным, проспективным. Проводилось за 5 дней до начала АНОГ (фоновая оценка) и ежедневно в условиях АНОГ в вечернее время (в течение 21 суток). В ис-

следованиях приняли участие 6 практически здоровых мужчин-добровольцев в возрасте от 24 до 40 лет (средний возраст – $29,8 \pm 4,6$ года ($M \pm SD$)) с массой тела $75,2 \pm 8,8$ кг, длиной тела $177,8 \pm 5,3$ см, индексом массы тела (ИМТ) $23,8 \pm 2,7$ кг/м². Все испытуемые проходили медицинский отбор врачебной экспертной комиссией ГНЦ РФ – ИМБП РАН, в ходе которого заболеваний и патологий, препятствующих участию в эксперименте, обнаружено не было. Перед включением в исследование каждый испытуемый подписывал добровольное информированное согласие на участие в эксперименте. Программа исследований была одобрена Комиссией по биомедицинской этике ФГБУН Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ – ИМБП РАН) (протокол № 621 от 8.08.2022). Критерием включения в исследование было заключение врачебно-экспертной комиссии и согласие на участие в исследовании.

Исследование проводилось на базе ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Добровольцы находились в антиортостатическом положении на медицинской кровати с углом наклона тела относительно горизонта -6° , без физических упражнений и с умеренным ограничением движений в течение 21 суток.

Факторы окружающей среды: согласно циклограмме исследования, после 23:00 было произведено выключение света. Помимо этого, гаджеты были всё время рядом с испытуемыми, однако отслеживание их использования в ночное время не производилось.

В исследовании оценивали данные анкетирования, проведённого за 5 дней до начала АНОГ и ежедневно в условиях АНОГ в вечернее время (в течение 21 суток). Для выявления особенностей сна и бодрствования был специально разработан структурированный опросник (невалидизированный), где испытуемые в вечернее время отвечали на вопросы, связанные с качеством сна и особенностями цикла «сон – бодрствование». В его основу были заложены вопросы, отражающие основные характеристики качества сна (продолжительность сна, скорость засыпания, ночные пробуждения) и активности в период бодрствования (наличие дневной сонливости, дневных засыпаний, циркадианное распределение активности). Валидизацию опросник не проходил. Опросник представлен на рисунке 1 (невалидизированный).

Из полученных анкетных данных рассчитывался индекс эффективности сна (ИЭС) [1] как отношение времени от отбоя до окончательного пробуждения к этому же времени за вычетом длительности засыпания и ночных пробуждений. Остальные ответы на вопросы оценивались в баллах. Ответам, отражающим ухудшение качества сна и бодрствования, соответствовало увеличение балльных оценок.

Статистическая обработка осуществлялась в программе Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). При анализе использовался ранговый, количественный (ненормальное распределение) непараметрический критерий Манна – Уитни для сравнения несвязанных групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опрос испыталей выявил, что 5 из 6 здоровых добровольцев в первые дни эксперимента были обеспокоены длительным засыпанием и ночными пробуждениями. Нарушения сна испыталей связывали с неудобными условиями для сна и изменением горизонтальной оси тела, перераспределением жидкости в организме. В последующие дни пребывания в АНОГ проблемы со сном стали беспокоить их меньше.

По результатам анкетирования в течение всего срока АНОГ все добровольцы эпизодически отмечали трудности засыпания, ночные пробуждения, повышенную

дневную сонливость, сопровождающуюся дневным сном и дремотными состояниями.

Изучение особенностей сна на основании разработанной нами анкеты выявило, что в период 21-суточной АНОГ у испыталей установился режим со статистически значимо более поздним отбоем и более поздним утренним пробуждением по сравнению с фоновыми исследованиями. Данные представлены в таблице 1.

При анализе опросника выяснилось, что в условиях АНОГ было отмечено засыпание более 30 минут в 10 % ночей; в 24 % случаев время засыпания составило от 15 до 30 минут, и только в 66 % случаев продолжитель-

Сон

Вопросы, связанные со сном, относятся к прошедшему сну.

1. В какое время легли спать?
2. Сколько времени потребовалось, чтобы уснуть?
 - до 15 минут
 - до 30 минут
 - до 1 часа
 - больше часа
3. Пробуждения ночью больше 30 минут
 - 0 раз
 - 1 раз
 - 2 раза
 - более 2 раз
4. В какое время окончательно проснулись?

Бодрствование

Вопросы, связанные с бодрствованием, относятся к прошедшему дню.

1. Были ли у Вас дремотные состояния или дневной сон?
 - 0 раз
 - 1 раз
 - 2 и более раз.
2. Была ли у Вас дневная сонливость
 - Да
 - Нет
3. Ваша активность в течение суток была выше
 - до 12:00
 - с 12 до 17:00
 - с 17:00

РИС. 1.

Структурированный опросник «Сон – бодрствование» (невалидизированный)

FIG. 1.

Structured “Sleep – wake” questionnaire (invalid)

ТАБЛИЦА 1

ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ АНКЕТЫ «СОН – БОДРСТВОВАНИЕ»

TABLE 1

MAIN ANALYZED INDICATORS OF THE “SLEEP – WAKE” QUESTIONNAIRE

Показатели	Фоновые данные	Данные АНОГ	p
Отбой (астрономическое время)	23:35	00:47	0,001
Утреннее пробуждение (астрономическое время)	07:25	07:52	0,01
Время сна (без учёта времени засыпания и времени бодрствования в период ночных пробуждений), ч	7:08	7:15	0,90
Индекс эффективности сна, %	96,43	94,39	0,26
Время засыпания, ч	0:29	0:40	0,37
Представленность сонливости, %	33	63	0,044

ность засыпания оставалась в пределах нормы (краткое руководство).

В ходе анализа количества пробуждений в условиях АНОГ было выявлено, что в 10 % случаев испытуемые отмечали ночные пробуждения продолжительностью более 30 минут, а в 90 % случаях спали без длительных пробуждений.

Оценка особенностей дневного бодрствования показала, что в течение всего срока АНОГ испытуемые отмечали повышенную дневную сонливость с периодическими дремотными состояниями. Наличие сонливости и дневные засыпания во время бодрствования отмечались в 61 % случаев, а в 8 % случаях дневные засыпания могли быть более 2 раз в сутки.

При оценке качества сна использовались показатели ИЭС, время засыпания, время бодрствования во время ночных пробуждений и дневная сонливость. Динамика этих показателей представлена на рисунке 2.

Наихудшей ночью была первая ночь пребывания в АНОГ. По сравнению с фоновыми данными за 5 суток до начала АНОГ сон в первые сутки характеризовался снижением ИЭС с 95 % до 84 % ($p = 0,013$), статистически значимым удлинением засыпания с 17,55 до 42,1 мин

($p = 0,050$), увеличением продолжительности ночных пробуждений с 4,8 до 34,8 мин.

На основании визуальной оценки динамики ИЭС, времени засыпания, длительности ночных пробуждений и представленности дневной сонливости было выделено 3 этапа адаптационных изменений цикла «сон – бодрствование» в условиях 21-суточной АНОГ.

В таблице 2 представлены средние значения некоторых показателей, отражающих качество сна и бодрствования, для выделенных этапов.

1-й этап – этап острой адаптации, где в течение первых 3 суток происходит снижение ИЭС с 96,4 до 91,3 % ($p < 0,01$), статистически значимое удлинение засыпания с 17,6 до 33,6 мин ($p < 0,01$), увеличение продолжительности ночных пробуждений до 17,4 мин; усиления дневной сонливости не отмечается.

2-й этап – этап восстановления (последующие 3 суток), где ИЭС статистически значимо увеличивается по сравнению с 1-м этапом до 94,7 % ($p < 0,01$), но остаётся статистически значимо меньше, чем был в фоне ($p < 0,004$). Возрастает число случаев возникновения дневной сонливости на 38 %, сроки вечернего отбоя становятся ещё позже на 26 мин.

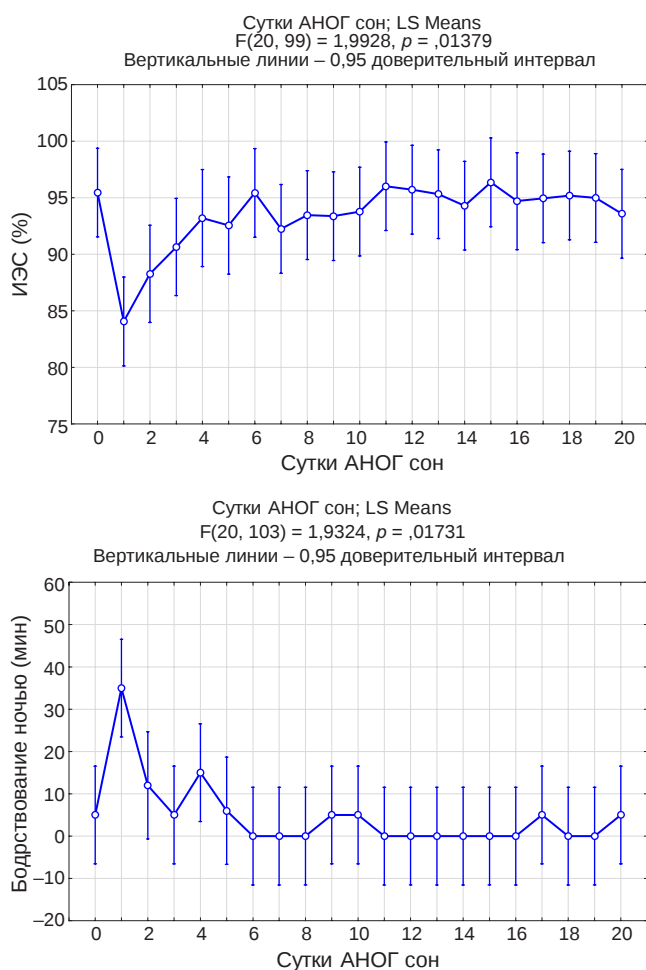


РИС. 2.
Изменения характеристик сна и бодрствования в условиях 21-суточной АНОГ

FIG. 2.
Changes in sleep and wakefulness characteristics under conditions of 21-day head-down bed rest

ТАБЛИЦА 2
СОСТОЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИКЛА
«СОН – БОДРСТВОВАНИЕ» НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ
АДАПТАЦИИ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ОПРОСНИКА

Этапы АНОГ	Фон	1-й этап	2-й этап	3-й этап
Отбой (астрономическое время)	23:36	23:54	00:20	01:00
Время засыпания, мин	17,55	33,6	24,6	19,8
Время бодрствования во время пробуждений, мин	4,8	17,4	6,9	0,09
Подъем (астрономическое время)	07:16	07:34	07:31	08:03
Время в постели, ч	7,63	7,66	7,15	7,04
Представленность сонливости (% случаев)	33	44	82	62
ИЭС, %	96,33	91,32	94,73	94,91

TABLE 2
STATE OF “SLEEP – WAKE” CYCLE INDICATORS
AT DIFFERENT STAGES OF ADAPTATION ACCORDING
TO QUESTIONNAIRE RESULTS

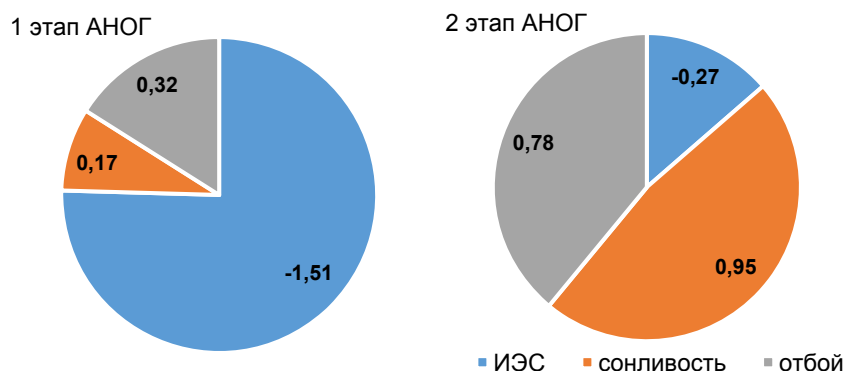


РИС. 3.

Разности показателей цикла «сон – бодрствование» с фоном в стандартизованных единицах на разных этапах АНОГ

FIG. 3.

Differences of “sleep – wake” cycle indicators with background in standardized units at different stages of head-down bed rest

3-й этап – этап относительной стабилизации цикла «сон – бодрствование» (оставшиеся ночи). Здесь отмечается наиболее позднее время отбоя – в час ночи ($p < 0,003$) – по сравнению со всеми этапами адаптации и фоновыми показателями (время отбоя в фоне – 23:36, на 1-м этапе – 23:54, на 2-м этапе – 00:20); наиболее позднее время подъёма – в 8 часов (08:03) (в фоне – в 07:16, на 1-м этапе 07:34, на 2-м этапе – 07:31), тогда как показатели качества сна (время засыпания, ночные пробуждения, ИЭС) и дневная сонливость не отличаются по сравнению с фоном.

В связи с тем, что показатели являются разноразмерными, была проведена процедура стандартизации данных, когда среднее значение показателя по выборке принимается равным 0, а его стандартное отклонение – 1. По стандартизованным данным были вычислены разности с фоновыми значениями для всех выделенных этапов АНОГ. Результаты представлены на рисунке 3. Из представленного рисунка видно, что в острый период адаптации наибольшие изменения связаны со снижением индекса эффективности сна, на 2-м этапе – со смещением времени отбоя и увеличением дневной сонливости, на 3-м этапе – со смещением времени отбоя на более поздние сроки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Интерес к изучению особенностей и сроков адаптации сомногенных механизмов к существованию в экстремальных условиях имеет определённое значение, так как позволяет спрогнозировать особенности сна в разные периоды адаптации [2]. Полученные результаты позволили нам выделить последовательные этапы адаптации циркадианной системы к условиям АНОГ. Выделенные этапы и их сроки носят условный характер, так как это выделение было произведено на основании визуальной оценки некоторых показателей анкеты об особенностях цикла «сон – бодрствование». Между этими этапами выявлены статистически значимые различия, но нет полной уверенности, что определённые нами временные этапы адаптации являются окончательными, а дальнейшие исследования могут по-другому представить время, необходимое для привыкания к условиям АНОГ. Даже в период острой адаптации (в течение первых 3 ночей) показатели ИЭС достаточно разнятся. Если в первую, наихудшую, ночь ИЭС составляет всего 84 % (в норме ИЭС должен быть более 85 %), то в последующие 2 ночи начинается восстановление ка-

чества сна – средняя величина ИЭС составляет 92 %. Поэтому вполне возможно, что острый этап адаптации может составлять всего одну ночь, а остальные дни можно отнести уже к подострому восстановительному этапу.

Важной составляющей проведённого анализа является оценка состояния цикла «сон – бодрствование» на 2-м этапе адаптации (этап восстановления) и анализ его клинических проявлений. Постепенное улучшение качества сна на этапе восстановления сочетается с неожиданным фактом – увеличением эпизодов дневной сонливости на 38 %. В клинической медицине диагностика инсомнии основана не только на оценке качества сна, но и на оценке качества бодрствования, в том числе дневной сонливости, как характеристики, указывающей на негативное влияние низкого качества сна, на последующее бодрствование [15]. В связи с этим возникает предположение, что увеличение дневной сонливости при улучшении качества сна и неизменной его продолжительности является независимой от качества сна характеристикой, но, возможно, отражает увеличение потребности в ночном сне на 4–6-е сутки.

Оставшиеся ночи, относящиеся к 3-му этапу относительной адаптации, были больше всего приближены к фоновым значениям. Оценка этого этапа показала, что изменения цикла «сон – бодрствование» заключались в приближении к фоновым значениям оцениваемых нами параметров, что является позитивным признаком адаптации. Интересным представляется факт существенного смещения времени отбоя и утреннего подъёма, снижения на более поздние часы на этапе относительной стабилизации. Смещение на более поздние сроки времени засыпания часто отмечается у здоровых людей, находящихся в разных стрессовых ситуациях [16, 17]. Предполагаем, что наиболее вероятная причина развития более позднего времени отбоя, вероятно, кроется в особенностях предшествующего бодрствования (низкой физической активности). В конечном итоге смещение времени отбоя приводит к более позднему подъёму. Феномен смещения режима на более поздние сроки представляется важным фактором, создающим потенциальную угрозу для стабильности циркадианного ритма в целом [18].

Помимо выделенных нами выводов об этапах адаптации выявлены и недостатки исследования, которые накладывают ряд ограничений. В данном случае это малочисленность группы и использование субъективных оценок качества цикла «сон – бодрствование».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях АНОГ отмечается последовательное возникновение различных нарушений циркадианной ритмики: снижение индекса эффективности сна из-за удлинения засыпания и появления ночных пробуждений, затем – развитие гиперсомнических симптомов (дневная сонливость, дневной сон) на фоне улучшения ночного сна и далее постепенное смещение режима сна на более поздние сроки. На разных этапах адаптации циркадиан-

ного ритма к условиям АНОГ меняется целостная картина инсомнических нарушений, составляющих специфический для каждого этапа паттерн нарушений сна у здоровых людей в условиях 21-суточной антиортостатической гипокинезии.

Финансирование

Работа выполнена в рамках базовой темы РАН 64.1 на 2021–2023 гг.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Этическая экспертиза

Этическая экспертиза была проведена в ФГБУН Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук (протокол № 109/18/1412 от 08.06.2022).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Вейн А.М., Хехт К. Сон человека. Физиология и патология. М.: Медицина; 1989. [Vein AM, Hecht K. *Human sleep. Physiology and pathology*. Moscow: Meditsina; 1989. (In Russ.).]
2. Поляков В.В., Посохов С.И., Пономарева И.П., Жукова О.П., Ковров Г.В., Вейн А.М. Сон в условиях космического полета. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 1994; 28(3): 4-6. [Polyakov VV, Posokhov SI, Ponomareva IP, Zhukova OP, Kovrov GV, Vein AM. Sleeping during space flight. *Aerospace and Environmental Medicine*. 1994; 28(3): 4-6. (In Russ.).]
3. Kermorgant M, Nasr N, Czosnyka M, Arvanitis DN, Hélimsen O, Senard JM, et al. Impacts of microgravity analogs to space-flight on cerebral autoregulation. *Front Physiol*. 2020; 11: 778. doi: 10.3389/fphys.2020.00778
4. Marshall-Goebel K, Ambarki K, Eklund A, Malm J, Mulder E, Gerlach D, et al. Effects of short-term exposure to head-down tilt on cerebral hemodynamics: A prospective evaluation of a space-flight analog using phase-contrast MRI. *J Appl Physiol*. 2016; 120(12): 1466-1473. doi: 10.1152/jappphysiol.00841.2015
5. Kramer LA, Hasan KM, Sargsyan AE, Marshall-Goebel K, Rittweger J, Donoviel D, et al. Quantitative MRI volumetry, diffusivity, cerebrovascular flow, and cranial hydrodynamics during head-down tilt and hypercapnia: The SPACECOT study. *J Appl Physiol*. 2017; 122(5): 1155-1166. doi: 10.1152/jappphysiol.00887.2016
6. Amirova L, Navasiolava N, Rukavishnikov I, Gauquelin-Koch G, Gharib C, Kozlovskaya I, et al. Cardiovascular system under simulated weightlessness: Head-down bed rest vs. dry immersion. *Front Physiol*. 2020; 11: 395. doi: 10.3389/fphys.2020.00395
7. Lawley JS, Petersen LG, Howden EJ, Sarma S, Cornwell WK, Zhang R, et al. Effect of gravity and microgravity on intracranial pressure. *J Physiol*. 2017; 595(6): 2115-2127. doi: 10.1113/JP273557
8. Lee H, Xie L, Yu M, Kang H, Feng T, Deane R, et al. The effect of body posture on brain glymphatic transport. *J Neurosci*. 2015; 35(31): 11034-11034. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1625-15.2015
9. Вейн А.М., Пономарева И.П., Елигулашвили Т.С., Ковров Г.В., Посохов С.И., Филимонов М.И., и др. Цикл «сон – бодр-

ствование» в условиях антиортостатической гипокинезии. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 1997; 31(1): 47-52. [Vein AM, Ponomareva IP, Eligulashvili TS, Kovrov GV, Posokhov SI, Filimonov MI, et al. The sleep-wake cycle under antiorthostatic conditions hypokinesia. *Aerospace and Environmental Medicine*. 1997; 31(1): 47-52. (In Russ.)].

10. Boschert AL, Elmenhorst D, Gauger P, Li Z, Garcia-Gutierrez MT, Gerlach D, et al. Sleep is compromised in -12° head down tilt position. *Front Physiol*. 2019; 10: 397. doi: 10.3389/fphys.2019.00397

11. Gkivogkli PT, Frantzidis C, Karagianni M, Rosenzweig I, Papadeli CK, Bamidis PD. Sleep macro-architecture disturbances during a 60 days 60 head down tilt bed-rest and the effect of Sledge Jumping System (SJS) as a countermeasure to prevent those changes. *Front Hum Neurosci*. 2016; 12(106): 10-3389. doi: 10.3389/conf.fnhum.2016.220.00106

12. Mizuno K, Inoue Y, Tanaka H, Komada Y, Saito H, Mishima K, et al. Heart rate variability under acute simulated microgravity during daytime waking state and nocturnal sleep: Comparison of horizontal and 6 degrees head-down bed rest. *Neurosci Lett*. 2005; 383(1-2): 115-120. doi: 10.1016/j.neulet.2005.03.058

13. Komada Y, Inoue Y, Mizuno K, Tanaka H, Mishima K, Sato H, et al. Effects of acute simulated microgravity on nocturnal sleep, daytime vigilance, and psychomotor performance: Comparison of horizontal and 6 degrees head-down bed rest. *Percept Mot Skills*. 2006; 103(2): 307-317. doi: 10.2466/pms.103.2.307-317

14. Basner M, Dinges DF, Howard K, Moore TM, Gur RC, Mühl C, et al. Continuous and intermittent artificial gravity as a countermeasure to the cognitive effects of 60 days of head-down tilt bed rest. *Front Physiol*. 2021; 12: 643854. doi: 10.3389/fphys.2021.643854

15. Ковров Г.В. *Краткое руководство по клинической сомнологии*. М.: МЕДпресс-информ; 2018. [Kovrov GV. *A short guide to clinical somnology*. Moscow: MEDpress-inform; 2018. (In Russ.)].

16. Завалко И.М., Рассказова Е.И., Гордеев С.А., Палатов С.У., Ковров Г.В. Влияние длительной изоляции и ожидания значимого события на сон человека: результаты проекта «Марс-520». *Физиология человека*. 2013; 39(6): 45-52. [Zavalko IM, Rasskazova EI, Gordeev SA, Palatov SU, Kovrov GV. The influence of long-term isolation and anticipation of a significant event on human sleep: Results of the Mars-520 project. *Human Physiology*. 2013; 39(6): 45-52. (In Russ.)].

17. Steinach M, Kohlberg E, Maggioni MA, Mendt S, Opatz O, Stahn A, et al. Sleep quality changes during overwintering at the german antarctic stations Neumayer II and III: The gender factor. *PLoS One*. 2016; 11(2): e0150099. doi: 10.1371/journal.pone.0150099

18. Duffy JF, Abbott SM, Burgess HJ, Crowley SJ, Emens JS, Epstein LJ, et al. Workshop report. Circadian rhythm sleep-wake disorders: Gaps and opportunities. *Sleep*. 2021; 44(5): zsa281. doi: 10.1093/sleep/zsa281

Сведения об авторах

Ковров Геннадий Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, e-mail: kgv2006@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3564-6798>

Власова Алиса Вадимовна – студентка, Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФGAOY BO «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет); лаборант, ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, e-mail: vav.vav.va@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-7901-8869>

Попова Ольга Владимировна – младший научный сотрудник, ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, e-mail: olya.popovaolga2710@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-3749-588X>

Черникова Анна Григорьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, e-mail: anna.impb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2596-8929>

Information about the authors

Gennady V. Kovrov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Senior Research Officer, State Scientific Center of the Russian Federation – Institute Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, e-mail: kgv2006@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3564-6798>

Alisa V. Vlasova – Student, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Research Assistant, State Scientific Center of the Russian Federation – Institute Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, e-mail: vav.vav.va@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-7901-8869>

Olga V. Popova – Junior Research Officer, State Scientific Center of the Russian Federation – Institute Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, e-mail: olya.popovaolga2710@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-3749-588X>

Anna G. Chernikova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, State Scientific Center of the Russian Federation – Institute Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, e-mail: anna.impb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2596-8929>

СПИСОК ОПЕЧАТОК ERRATUM

ERRATUM: 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

ERRATUM: 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

Настоящим информируем читателей о том, что в статью «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.), опубликованную в Т. 7, № 5-2 (2022) журнала «Acta biomedica scientifica» (с. 247–258; doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.25), по просьбе авторов статьи внесены изменения в раздел «Финансирование».

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (междисциплинарный проект № 20-66-47012 в партнёрстве с Иркутским государственным университетом).

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 21.12.2023.
Подписано в печать 28.12.2023, дата выхода в свет 29.12.2023.
Печ. л. 31,25. Усл. печ. л. 29,0. Уч. изд. л. 26,5. Зак. 053-23. 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

